



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA**

**ASOCIACIÓN GENÓMICA PARA TOLERANCIA A
CLORURO DE SODIO EN *Solanum lycopersicum* L.**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ALMA AURORA DEANDA TOVAR

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DR. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS



Chapingo, México, diciembre de 2020



**ASOCIACIÓN GENÓMICA PARA TOLERANCIA A CLORURO DE SODIO EN
Solanum lycopersicum L.**

Tesis realizada por **Alma Aurora Deanda Tovar**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

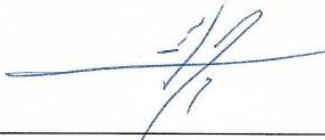
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:



Dr. Jaime Sahagún Castellanos

ASESOR:



Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

ASESOR



Dra. María Teresa Beryl Colinas León

Chapingo, México, diciembre de 2020

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACyT), por brindarme el financiamiento para la realización de mis estudios de maestría.

A la **Universidad Autónoma Chapingo** y al **Instituto de Horticultura** por mi formación como Maestro en Ciencias en Horticultura.

Al **Dr. Jaime Sahagún Castellanos** con mi respeto y admiración, por su apoyo para la realización de este trabajo, su orientación en las etapas de investigación para tomar las mejores decisiones y sobre todo por su confianza y amistad.

Al **Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez** con toda admiración y respeto, por su apoyo tanto en la parte académica, trabajo en campo y de manera personal durante mi formación profesional, por su correcta orientación en investigación y por su sincera amistad y su confianza.

A la **Dra. Ma. Teresa B. Colinas León** por su apoyo y orientación en las etapas de investigación para la mejora del presente trabajo.

Al **Dr. Ricardo Lobato Ortiz**, por el apoyo ofrecido para el establecimiento de la fase experimental.

Al **Quim. Ricardo Gaspar Hernández** por el apoyo en la fase de laboratorio.

A **Jorge Luis Sánchez Galicia** por su apoyo en la realización del trabajo de la etapa experimental.

Al señor **Eusebio Moreno Silva** por su apoyo durante las etapas del experimento en campo.

A los compañeros del posgrado y del Proyecto de Mejoramiento Genético de Jitomate para Invernadero de la UACH, especialmente a **Diego, Ana, Gore, Ismael, Plácido, Julio y Felipe** por su colaboración en la preparación, establecimiento y registro de datos experimentales.

DEDICATORIA

A **Dios** por su infinita bondad, por darme fortaleza y sabiduría. Por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía.

A mis padres **Evelia Tovar** y **Vicente Deanda** por ser el pilar fundamental de todo lo que soy en mi formación tanto académica como personal, por ser mi guía, por su valentía, esfuerzo, apoyo y amor incondicional.

A mis hermanas **Nancy**, **Rosario** y **Monse** por su amor, apoyo y palabras de aliento para alcanzar mis metas.

A mis sobrinos **Erick** y **Carlos** por sus alegrías y momentos especiales compartidos.

A mis abuelos **Aurelia** y **Francisco** y **Luciana** y **Guadalupe** por su amor, apoyo y bendiciones.

A **Diego Ortiz Torres** por su cariño, amor y confianza incondicionales, por su grata compañía, por sus palabras de aliento que me brinda día a día para alcanzar mis metas tanto personales como profesionales.

Al **Dr. Efraín Contreras Magaña** por brindarme su sincera amistad, apoyo y compañía durante todos estos años, por contribuir a mi desarrollo profesional y personal.

A mis amigas y amigos del posgrado y de Chapingo, especialmente a **Juanita**, **Nancy**, **Dino**, **Llenny** y **David** que durante todo este tiempo estuvieron ahí, con los que pude disfrutar cada momento de mi estancia en la Universidad y que se han convertido en mi familia por elección.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre: Alma Aurora Deanda Tovar

Fecha de nacimiento: 04 de septiembre de 1994

Lugar de nacimiento: Acámbaro, Guanajuato, México.

CURP: DETA940904MGTNVL01

Profesión: Agrónoma en Horticultura Protegida

Cédula profesional: 11528103

Desarrollo académico

Licenciatura: 2014-2018. Universidad Autónoma Chapingo

Bachillerato: 2010-2013. Sistema Avanzado de Bachilleratos de Educación Media Superior y Superior del estado de Guanajuato

CONTENIDO

DATOS BIOGRÁFICOS.....	i
RESUMEN.....	vi
SUMMARY.....	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO.....	2
3. HIPÓTESIS	2
4. REVISIÓN DE LITERATURA	3
4.1 Importancia del tomate	3
4.2 Salinidad en tomate	4
4.3 Mecanismos de tolerancia a salinidad	6
4.4 Estrategias de mejoramiento genético para resistencia a sales	8
4.5 Genotipificación por secuenciación (GBS, Genotyping by Sequencing)....	8
4.6 Análisis de asociación genómica (Genome-Wide Association Study, GWAS)	10
5. MATERIALES Y MÉTODOS	12
5.2 Fase de genotipificación	12
5.2.1 Concentraciones de NaCl.....	13
5.2.2 Unidad y diseño experimental	13
5.2.3 Caracteres evaluados.....	13
5.3 Análisis de datos fenotípicos	14
5.3.1 Análisis estadísticos	14

5.4 Fase de genotipificación	15
5.4.1 Extracción de ADN	15
5.5 Análisis de datos genotípicos	15
5.5.1 Secuenciación del genoma	15
5.6 Análisis de asociación genómica.....	16
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
6.1 Análisis estadístico	17
6.1.1 Análisis de varianza y comparaciones de medias de Tukey	20
6.1.2 Correlaciones de Pearson	21
6.1.3 Análisis de regresión no lineal.....	21
6.2 Resultados de la secuenciación del genoma.....	22
6.3 Análisis de asociación genómica.....	24
7. CONCLUSIONES.....	30
8. LITERATURA CITADA.....	31
9. ANEXO.....	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Varianza genotípica y heredabilidad de seis caracteres de desarrollo de plántula en condiciones salinas.	17
Cuadro 2. Análisis de varianza de relaciones con respecto al testigo para altura final (AF), longitud de raíz (LR), área foliar (FA), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte área (MSPA), materia seca total (MST) y relación de materia seca de raíz con respecto a la materia seca total (RRT)	20
Cuadro 3. Correlaciones lineales entre cada par de caracteres evaluados en 89 líneas de tomate en condiciones de salinidad.	21
Cuadro 4. Descripción de SNPs identificados de acuerdo a los caracteres evaluados (AF, LR, AF, MSR, MSPA, MST y $\beta 1$) en 89 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) del programa de mejoramiento genético de la Universidad Autónoma Chapingo.	26
Cuadro 1A. Comparación de medias (Tukey, ≤ 0.05) de altura final (AF), longitud de raíz (LR), área foliar (FA), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte área (MSPA), materia seca total (MST) y relación de materia seca de raíz con respecto a la materia seca total (RRT).	38
Cuadro 2A. Descripción de SNPs no identificados en el genoma de referencia de tomate de acuerdo a los caracteres evaluados (AF, LR, AF, MSR, MSPA, MST y $\beta 1$) en 89 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) del programa de mejoramiento genético de la Universidad Autónoma Chapingo.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tasas de crecimiento diario (mm) en 89 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) del programa de mejoramiento genético de la Universidad Autónoma Chapingo.	23
Figura 2. Dendograma basado en el cálculo de distancias genéticas de identidad por estado (IBS) estimadas a partir de SNP de alta calidad. El dendograma se construyó con 95 líneas de tomate elite (<i>Solanum lycopersicum</i> L.), con 14.328 marcadores SNP, muestra 3 grupos, el primer (I) color azul donde se encuentran en su mayoría, líneas de crecimiento indeterminadas, el segundo (II) color naranja que contiene líneas mayormente heterogéneas, y el grupo (III) con líneas donde el color rojo del fruto predomina.....	24
Figura 3. Gráficos de Manhattan de asociaciones marcadores-rasgos para siete caracteres fenotípicos (LR, AF, MSR, MSPA, MST, FA y $\beta 1$) construidos a partir de la asociación de 14.328 SNPs y caracteres fenotípicos, obtenidos en TASSEL v5.2.60 con el modelo lineal general ponderado con 89 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L). Marcadores ubicados por encima de la línea punteada son significativos. a) SNPs asociados a materia seca total (MST), b) SNPs asociados a altura final (AF), c) SNPs asociados a tasa de crecimiento diario ($\beta 1$), d) SNPs asociados a área foliar (FA), e) SNPs asociados a longitud de raíz (LR), g) SNPs asociados a materia seca de raíz (MSR) y f) SNPs asociados a materia seca de parte aérea (MSPA).	29

ASOCIACIÓN GENÓMICA PARA TOLERANCIA A CLORURO DE SODIO EN *Solanum lycopersicum* L.¹

GENOMIC ASSOCIATION FOR SODIUM CHLORIDE TOLERANCE IN *Solanum lycopersicum* L.

Alma Aurora Deanda Tovar y Jaime Sahagún Castellanos

RESUMEN

Concentraciones altas de salinidad en suelo y agua son problemas de gran importancia a nivel mundial y una limitante para el desarrollo del tomate, por lo cual es importante diseñar marcadores eficientes para identificar materiales con tolerancia a esta condición. El objetivo de la presente investigación fue identificar regiones genómicas asociadas a la tolerancia a salinidad durante desarrollo de plántula mediante análisis de asociación en 89 líneas de tomate. Se generó una biblioteca genómica de SNPs (single nucleotide polymorphism) mediante un análisis GBS (genotyping by sequencing). Posteriormente, se asociaron caracteres fenotípicos a SNPs mediante un análisis GWAS (genome wide associations). La evaluación fenotípica se realizó en plántulas cultivadas en sistema de balsa flotante en condiciones salinas (0 y 150 mM de NaCl), bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. El análisis de varianza mostró significancia para genotipos en los caracteres evaluados, sin detectarse interacciones genotipo x tratamiento. Las líneas L19, L29 y L47S8 mostraron la mayor tolerancia a la condición salina. El GBS generó 22,127 marcadores o loci SNPs, de los cuales 14,328 fueron funcionales para el análisis GWAS, después de un estricto análisis de filtrado. El análisis GWAS reveló 54 marcadores asociados a seis caracteres de plántula (peso seco de raíz, parte aérea y total, altura de planta, longitud de raíz y área foliar) en condiciones salinas; de los cuales, 18 están asociados a genes descritos en el genoma de referencia. Los cromosomas 1 y 8 tuvieron asociaciones con 3 caracteres, los cromosomas 2, 3, 5, 6, 7, 9 y 12 con dos y los cromosomas 4, 10 y 11 con 1 carácter. Estos resultados muestran que el GWAS puede utilizarse como una herramienta adecuada para mejorar la eficiencia del mejoramiento para tolerancia a salinidad en la etapa de plántula.

Palabras clave: genotyping by sequencing, genome wide associations, single nucleotide polymorphism.

SUMMARY

High concentrations of salinity in soil and water are problems of great importance worldwide and limit tomato development, therefore, it is important to find efficient markers to identify materials with tolerance to this condition. The objective of this research was to identify genomic regions associated with tolerance to salinity during seedling development through association analysis in 89 tomato lines. A genomic library of SNPs (single nucleotide polymorphism) was generated by GBS analysis (genotyping by sequencing). Subsequently, phenotypic characters were associated with SNPs by means of GWAS (genome wide associations) analysis. The phenotypic evaluation was carried out in seedlings in a floating raft system under saline conditions (0 and 150 mM NaCl), under a randomized complete block design with three replications. The analyses of variance showed significance for genotypes in the evaluated traits, but genotype x treatment interactions were not significant. Lines L19, L29 and L47S8 showed the highest tolerance to the saline condition in seedling stage. The GBS generated 22,127 markers or SNPs loci, 14,328 of which were functional for GWAS analysis, after strict filter analysis. The GWAS analysis revealed 54 markers associated with six seedlings characters (dry root weight, aerial and total parts, plant height, root length and leaf area) under saline conditions; of which, 18 are associate to genes described in the reference genome. Chromosomes 1 y 8 had associations with 3 traits, chromosomes 2, 3, 5, 6, 7, 9 and 12 with 2 traits, and chromosomes 4, 10 and 11 with only one trait. These results show that GWAS can be used as a suitable tool to improve the efficiency of the breeding for salinity tolerance at the seedling stage.

Key words: genotyping by sequencing, genome-wide associations, single nucleotide polymorphism.

¹Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Alma Aurora Deanda Tovar

Director de tesis: Dr. Jaime Sahagún Castellanos

1. INTRODUCCIÓN

Más de 6 % de la superficie total del mundo (800 millones de hectáreas) está afectada por salinidad (FAO, 2008). En estos suelos es posible encontrar varios tipos de sales como cloruros de sodio, calcio y magnesio; sin embargo, el cloruro de sodio (NaCl) es la sal más abundante (Munns & Tester, 2008). En cuanto a los 1,500 millones de hectáreas destinadas a la agricultura, 2 % están afectadas en varios grados de salinidad (FAO, 2008) y se estima que para el año 2050, la salinidad impactará al 50 % de los cultivos del mundo, lo que tendrá impactos severos en la producción (Luo *et al.* 2017, Butcher *et al.* 2018).

La salinidad es uno de los factores abióticos que más afecta a la agricultura en el mundo. Su origen se debe principalmente a dos factores, el primero es producto de procesos naturales como intemperización de rocas o sales depositadas por lluvia o viento; y el segundo a la actividad humana (deforestación, desmonte de tierras, aplicación incorrecta del riego, falta de drenaje en los suelos, uso desmedido de fertilizantes, empleo de aguas residuales, uso inadecuado de abonos orgánicos, etc.) (Velmurugan *et al.*, 2020).

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la segunda hortaliza de mayor superficie sembrada a nivel mundial y es una de las hortalizas más consumidas. Aunque se considera como un cultivo medianamente sensible a sales, manifiesta trastornos cuando se cultiva en suelos salinos, con mayores efectos durante germinación, y en menor medida durante la etapa de plántula (Cuartero & Fernández-Muñoz, 1998). También es afectada en etapa reproductiva al reducir considerablemente su crecimiento, ya que afecta al sistema radical, influye sobre el comportamiento del potencial osmótico de las plantas, evita el abastecimiento de agua y nutrientes, y disminuye la calidad de fruto, aunque en ciertas condiciones algunos cultivares pueden incrementar las propiedades organolépticas del fruto (Munns & Tester, 2008).

Algunos objetivos de los programas de mejoramiento genético de tomate se enfocan en la obtención de plantas tolerantes a salinidad, lo cual incluye mecanismos

asociados a conjuntos de genes cuantitativos; por lo que se requiere mucho tiempo para la generación de plantas tolerantes mediante técnicas de selección convencionales. El reciente desarrollo, diseño y aplicación de técnicas moleculares de genotipificación por secuenciación (GBS, por sus siglas en inglés) y de estudios de asociación genómica (GWAS, por sus siglas en inglés) pueden acortar los períodos de mejoramiento, al identificar simultáneamente conjuntos de genes asociados a un rasgo de interés particular de tipo cuantitativo (Korte & Farlow, 2013), por ejemplo, la tolerancia a salinidad.

2. OBJETIVO

Localizar regiones genómicas asociadas a la tolerancia a salinidad en 89 líneas homocigóticas de tomate, mediante estudios de genotipificación vía secuenciación (genotyping by-sequencing) y análisis de asociación genómica (Genome Wide Association Study, GWAS), durante desarrollo de plántula, con el fin de generar estrategias eficientes para el desarrollo de variedades, progenitores e híbridos de tomate con tolerancia a salinidad.

3. HIPÓTESIS

La tolerancia de tomate al cloruro de sodio está regulada por genes de efectos aditivos; los cuales, al estar ubicados en regiones genómicas específicas, pueden identificarse mediante la secuenciación GBS y la técnica GWAS, lo que permiten seleccionar líneas tolerantes a sales.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Importancia del tomate

En 2018 en México se cosecharon 49 000 hectáreas de tomate, con producción de 3'780, 950 toneladas, lo que lo ubicó a nivel mundial como el noveno productor y el principal exportador. Este mercado representó 1,734 millones de dólares, que corresponde al tercer producto agropecuario nacional generador de divisas, después del aguacate y las berries (SIAP, 2019).

A pesar del éxito comercial de este cultivo, entre los años 2017 y 2018 ocurrió la disminución del área cosechada en 2 %; sin embargo, la producción de tomate para el año 2018 aumentó 8.9 %, debido al incremento del rendimiento unitario que alcanzó 76.8 ton·ha⁻¹. Con ello, este cultivo representó 22.6 % del total de la producción de hortalizas del país (SIAP, 2019).

Entre las áreas de producción de mayor importancia en nuestro país Sinaloa, Baja California y Sonora se encuentran en riesgo debido, entre otros factores, a la salinización de suelo, causada por el uso inadecuado de fertilizantes, ya que el clima que predomina es cálido-seco donde existen elevadas tasas de transpiración, por lo que el agua de fertirriego una vez aplicada al suelo se evapora, lo que deposita en la superficie sales cristalizadas. Otro de los factores que incrementa la salinidad es el uso de agua de riego de calidad inadecuada con sales, como ocurre en los valles del Yaqui y Mayo en Sonora, y del Carrizo en Sinaloa, donde se ha detectado agua de riego con niveles de conductividad eléctrica de hasta 10 dS·m⁻¹ (Pulido *et al.*, 2003), de ahí que, en un futuro cercano, será inevitable lidiar con esta condición en cultivos hortícolas, especialmente tomate, por lo que se requerirán variedades mejoradas con tolerancia a sales.

4.2 Salinidad en tomate

La salinidad es uno de los factores bióticos presente en los suelos que genera daños severos e irreversibles en los cultivos. La salinización transforma las tierras productivas y fértiles en tierras estériles, frecuentemente conducen a pérdidas en hábitat y reducción de biodiversidad. En la agricultura, la causa principal es el uso desmedido de fertilizantes, con mayores efectos en zonas áridas y semiáridas (Clavero & Razz, 2002).

La salinidad del suelo reduce el potencial hídrico del suelo y las hojas, perturba las relaciones hídricas y reduce la turgencia de la planta lo cual, posteriormente, conducirá a un estrés osmótico (Nevada *et al.*, 2020). En el tomate, la salinidad produce efectos negativos en diferentes grados de acuerdo con la etapa de crecimiento, siendo las etapas juveniles más sensibles que las adultas. Además, depende de otros factores como la tolerancia de la variedad utilizada (Ruiz *et al.*, 2014).

La gran mayoría de los efectos de las sales en la germinación son adversos. En esta etapa, a medida que aumenta la concentración de sales en el medio, el porcentaje disminuye y el periodo en que este proceso ocurre se prolonga (Cuartero & Fernández-Muñoz, 1998).

A nivel de raíces, las sales alteran la absorción de agua y producen efectos tóxicos, por lo que se disminuye el crecimiento de la planta. La magnitud de estos daños se encuentra estrechamente relacionada a la concentración de las sales, a la duración del estrés y a la especie o cultivar de que se trate. El estrés salino, en general, reduce la masa de la raíz y modifica la distribución del sistema radical, lo que disminuye la tasa de crecimiento tanto de la raíz principal, como de las laterales, e inhibe la formación de estas últimas (Van Zelm *et al.*, 2020).

Todos los órganos de la parte aérea de la planta de tomate sufren alteraciones cuando son sometidos a salinidad. Los tallos tienen menor altura, las hojas disminuyen en número, el área foliar se reduce, se reduce también el peso de materia fresca y seca del área foliar, tallo y raíces (Ruiz *et al.*, 2014).

La parte aérea de las plantas de tomates es afectada por la salinidad al disminuir su altura (Ruiz *et al.*, 2014; Romero *et al.*, 2001), el número de hojas (Ruiz *et al.*, 2014; Romero *et al.*, 2001) y la densidad estomática en la cara adaxial (Romero *et al.*, 2001), área foliar (Romero *et al.*, 2001; Al-Karaki, 2000), y desarrollar clorosis y necrosis en los bordes de las hojas (Romero *et al.*, 2001; Al-Karaki, 2000). Esto genera menor peso fresco y seco del área foliar, tallo y raíces (Ruiz *et al.*, 2014). Los frutos disminuyen su desarrollo (Pérez-Alfocea, 1996; Carvajal *et al.*, 2006); aunque, en algunas ocasiones pueden mejorar algunos atributos organolépticos y/o de interés para la agroindustria al incrementar el contenido de compuestos solubles, sólidos totales, carotenoides y ácidos orgánicos.

La salinidad del suelo, provoca disminuciones en la actividad fotosintética, disminuye significativamente la asimilación de CO₂ (Hajiboland *et al.*, 2010), lo cual es provocado por el cierre rápido de estomas y la interferencia con el transporte de electrones fotosintéticos. Además, la energía (ATP) producida en fotosíntesis se emplea en la defensa contra el estrés salino en lugar destinarse al crecimiento (Wu *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2020).

Las especies tolerantes a salinidad mantienen una tasa de crecimiento constante ante este estrés, debido a que poseen mecanismos de respuesta como incremento en la actividad antioxidante, aumento de compuestos osmoprotectores, reabsorción o resorción de elementos tóxicos o esenciales cuando estos son suministrados en mayor cantidad de la que se requiere, incremento de aminoácidos como la prolina (Lara *et al.*, 2015).

Existen parientes silvestres del tomate con tolerancia a la salinidad, sin embargo, es muy difícil transferir esta tolerancia a líneas élite de tomate convencional debido a que los genes que confieren la tolerancia son numerosos y la mayoría son de efectos aditivos de magnitud pequeña, en comparación con aquellos efectos generados por el ambiente. Además, se requiere de esfuerzos considerables para recuperar el fondo genético del cultivar receptor al ser cruzado con materiales silvestres (Cuartero *et al.*, 2006).

4.3 Mecanismos de tolerancia a salinidad

La tolerancia a salinidad en las plantas es un rasgo complejo debido a que existen diferentes genes metabólicos y estructurales que están regulados por la presencia de sal y están involucrados en la respuesta adaptativa de la especie (Jenks & Hasegawa, 2013).

Las plantas responden a su entorno de forma compleja e integrada, lo cual les permite adaptarse al conjunto específico de condiciones y limitaciones presentes en un momento determinado de su desarrollo. Lo cual implica una serie de modificaciones fisiológicas y bioquímicas que incluyen: marchitamiento de hojas, reducción del área foliar, abscisión de hojas, estimulación del crecimiento de las raíces, cambios en el contenido relativo de agua, fuga electrolítica y acumulación de radicales libres, entre otras. Esto causa la interrupción de la homeostasis celular al reaccionar con lípidos, proteínas, pigmentos y ácidos nucleicos, lo que a su vez genera peroxidación de lípidos, daño de la membrana e inactivación de enzimas, y repercute directamente en la disminución en la viabilidad celular (Lata & Prasad, 2011).

Es por ello, que las plantas necesitan desarrollar mecanismos que les permitan tolerar diferentes tipos de estrés generados por factores abióticos como la salinidad. Uno de los mecanismos para la tolerancia a salinidad es la reabsorción o resorción, la cual es regulada por células de transferencia que se ubican en los nudos de las plantas y tienen la función de reabsorber y almacenar en vacuola elementos, que en altas concentraciones, pueden intoxicar a la planta; cuando en estas vacuolas ya no es posible almacenar estas sustancias, las células de transferencia las envían al floema para ser transportadas a las raíces, donde pueden ser almacenados en vacuolas de células radicales o expulsados al exterior (Hasegawa, 2013; Flowers *et al.*, 2014). Este proceso es característico en plantas natrofóbicas, como el frijol, en donde el sodio es retenido en las raíces y tallos inferiores, con lo que se evita toxicidad por sodio. Al parecer, todas las plantas tienen este mecanismo de evasión a este tipo de estrés, pero en algunas es más eficiente.

Algunos autores atribuyen la tolerancia a la salinidad a la prolina, de la cual no se sabe con precisión su forma de acción ante este tipo de estrés. Se ha observado en frutales (Ojeda & Pire, 2011), cereales (Hasanuzzaman *et al.*, 2014) y hortalizas (Pérez-Prat *et al.*, 1992; Ruiz *et al.*, 2014; Lara *et al.*, 2015), que en presencia de salinidad que se incrementa la concentración de este aminoácido y disminuye el potencial osmótico de la raíz, lo cual favorece la absorción de agua.

La salinidad, así como las altas temperaturas y la sequía, pueden causar la desnaturalización y la pérdida de sus funciones en numerosas proteínas. Las proteínas LEA (siglas en inglés: late embryogenesis abundance) ayudan a proteger las proteínas celulares contra el estrés, controlando el plegamiento y la conformación de las proteínas estructurales y enzimas (Wang *et al.*, 2004). Además, se ha demostrado que las proteínas LEA y las chaperonas están involucradas en la protección de moléculas, tales como enzimas, lípidos y ARNm, de la deshidratación (Sairam & Tyagi, 2004). Las proteínas LEA son un grupo de proteínas inducibles por el ácido abscísico (ABA) y originalmente se sugirió que pueden estar asociadas con la tolerancia a la desecación durante la maduración de la semilla y también inducidas por la salinidad y el déficit de agua. Se ha demostrado que estas proteínas pueden preservar la estructura proteica y la integridad de la membrana, preservando el agua, impidiendo la desnaturalización de proteínas y renaturalizando las proteínas ya desplegadas, además secuestrando iones en los tejidos estresados (Sairam & Tyagi, 2004).

El gen HVA1 que codifica para la proteína LEA es inducido por el ABA y varios tipos de estrés, por ejemplo, la salinidad. Plantas transgénicas de arroz que expresan el HV1, conducida por un promotor constitutivo del gen de la actina, mostraron un incremento significativo de la tolerancia a la salinidad (Xu *et al.*, 1996).

En general las plantas regulan muchos genes, factores de transcripción, proteínas y metabolitos que les proveen tolerancia contra la salinidad (D'Amelia *et al.*, 2018).

El interés por mejorar la tolerancia de los cultivos a la salinidad ha ido creciendo, empleando métodos de mejora y selección tradicionales o la producción de organismos modificados genéticamente (Cuartero *et al.*, 2006). La incorporación de

genes procedentes de parentales silvestres tolerantes, la domesticación de plantas halófilas silvestres, y la identificación de caracteres relacionados con tolerancia empleando marcadores moleculares (Owuso, 2008), o bien la incorporación de genes cuya expresión modifica mecanismos bioquímicos y fisiológicos involucrados en la tolerancia (Sairam & Tyagi, 2004).

4.4 Estrategias de mejoramiento genético para resistencia a sales

Para la obtención de plantas tolerantes a salinidad se requiere contar con la expresión simultánea de múltiples genes asociados a mecanismos fisiológicos, anatómicos y bioquímicos (Adem *et al.*, 2014). Por ello, el mejoramiento se realiza principalmente por medio de esquemas de selección que intentan la acumulación progresiva de genes aditivos, para lo cual se requiere de varios años para la obtención de genotipos con estas cualidades.

Se han desarrollado técnicas biotecnológicas en las que el principal objetivo es acortar los periodos para la obtención de híbridos o variedades con tolerancia a factores abióticos como la salinidad y el déficit hídrico. Una de las herramientas recientemente desarrollada es el análisis de asociación del genoma completo (GWAS), la cual se basa en la obtención inicial de marcadores de alta densidad (SNPs) y la caracterización fenotípica de la característica de interés. Con ello, técnicas de asociación entre marcadores y la expresión fenotípica buscan la identificación de conjuntos de marcadores útiles para la selección. El resultado de esto es la posibilidad de incrementar la eficiencia de la selección y acortar el período de obtención de genotipos tolerantes a diferentes tipos de estrés.

Para la realización de los análisis de asociación genómica (GWAS), se requiere inicialmente de la genotipificación por secuenciación (GBS).

4.5 Genotipificación por secuenciación (GBS, Genotyping by Sequencing)

Los polimorfismos de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) son una tecnología de marcadores moleculares de ADN de tercera generación, son

cambios en una sola base en una posición específica de nucleótido a través del genoma de los organismos (McCouch *et al.*, 2010). Los SNPs son marcadores abundantes, estables y fácilmente detectables mediante tecnologías de secuenciación, por ejemplo, en la tecnología genotipificación por secuenciación (GBS) (Wu & Blair, 2017).

La flexibilidad y el bajo costo de GBS hacen de esta una excelente herramienta para muchas aplicaciones y preguntas de investigación en genética y mejoramiento. Esta herramienta permite la genotipificación de miles de SNP en una gran cantidad de genotipos al mismo tiempo, al hacerlo, aumenta la probabilidad de identificar SNP correlacionados con rasgos de interés (Kumar *et al.*, 2012; Beissinger *et al.*, 2013).

El GBS es un procedimiento para la producción de bibliotecas genómicas, que puede ser utilizado en un gran número de individuos o líneas (Elshire *et al.*, 2011). Una biblioteca genómica es una compilación de secuencias de ADN, en la cual se espera que se incluya el mayor número de fragmentos posibles de un genoma (Bruce *et al.*, 1994). El procedimiento del GBS comienza con la extracción de ADN de los genotipos, posteriormente se realiza la digestión del ADN genómico con enzimas de restricción seguida de la ligadura de los primers y adaptador de código de barras, lo cual permite conocer la posición de los SNPs en el genoma, después se realiza la amplificación por PCR y la secuenciación del conjunto de ADN amplificado. El GBS se ha utilizado con éxito en la implementación de estudios de asociación de genoma completo (GWAS) (He *et al.*, 2014).

Los protocolos de GBS realizan la genotipificación a través de una secuenciación de alto rendimiento. Por ello, es indispensable el soporte de programas de cómputo bioinformático para el análisis de datos. Las lecturas secuenciadas obtenidas del GBS se pueden alinear con el genoma de referencia para obtener sitios polimórficos dentro de la población secuenciada (Perea *et al.*, 2016).

Para el análisis de datos de GBS se han utilizado paquetes como Bwa (Li, 2009) o Bowtie (Langmead *et al.*, 2012), TASSEL GBS (Glaubitz *et al.*, 2014) y NGSEP (Perea *et al.*, 2016). El paquete estadístico NGSEP (Next Generation Sequencing Experience

Platform) realiza pruebas estadísticas a partir de datos secuenciados, genera e identifica marcadores SNPs una vez que los datos del GBS se alinean con el genoma de referencia. Posteriormente NGSEP crea un archivo con información de los SNPs que corresponde a: identificación del cromosoma, posición del marcador y calidad de la muestra, lo cual reduce la cantidad de trabajo requerido para obtener conjuntos de datos de variación sobre las poblaciones, debido a que crea un filtro de datos de alta calidad con la información obtenida de los marcadores SNPs para la lectura de alineación y detección de variantes a través de diferentes muestras (Perea *et al.*, 2016).

4.6 Análisis de asociación genómica (Genome-Wide Association Study, GWAS)

Los análisis de asociación genómica (GWAS) son una valiosa y poderosa herramienta para estudiar la genética de rasgos complejos en plantas. El número de asociaciones detectadas está aumentando rápidamente debido a que se realizan nuevos ensayos en diferentes especies para diversos rasgos (Bonhomme *et al.*, 2014; Slavov *et al.*, 2014).

Los GWAS se han utilizado con éxito para explorar la base genética de una amplia gama de rasgos complejos en muchas especies de plantas como *Arabidopsis* (Horton *et al.*, 2012), cereales como: arroz (Yang *et al.*, 2014), maíz (Kump *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2013) y soja (Zhou *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016; Chang y Hartman, 2017) y tomate (Sauvage *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015).

Estos análisis se basan en la identificación de polimorfismos genéticos asociados significativamente a un rasgo o carácter cuantitativo a partir de una población grande. Las asociaciones entre la variación genética en un carácter fenotípico con cada uno de miles o millones de marcadores en todo el genoma son probadas estadísticamente (Brachi *et al.*, 2011), con el fin de identificar marcadores específicos significativos asociados a la expresión del carácter fenotípico estudiado.

Los programas computacionales para analizar GWAS son, entre otros, SNPAssoc, GenABEL, ProbABEL, PLINK y TASSEL. SNPAssoc, GenABEL y ProbABEL son paquetes de R (Monir & Jun, 2014).

TASSEL (Trait Analysis by aSSociation, Evolution and Linkage) es un software para el mapeo de asociaciones de rasgos complejos. Realiza análisis de componentes principales para estudiar la estructura de poblaciones (Bradbury *et al.*, 2007), análisis de disequilibrio de ligamiento (LD, Linkage disequilibrium), visualización la gráfica del estadístico de disequilibrio de ligamiento actualizado con frecuencia los métodos recientemente desarrollados, incluye teoría sobre el modelo lineal general y modelos de regresión múltiple. TASSEL también incluye el análisis de inserciones / deleciones (indels), el cálculo de estadísticas de diversidad, la integración de datos fenotípicos y genotípicos, la imputación de datos faltantes mediante el algoritmo del vecino más cercano (K-nearest-neighbor) (Soto-Cerda & Cloutier, 2012).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en un invernadero del posgrado de Genética del Colegio de Postgraduados campus Montecillo (19° 27' 41.3" latitud norte y 98° 54' 33.1" longitud oeste y 2250 msnm) y en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México (19°29' LN, 98°53' LO y 2240 msnm).

5.1 Genotipos evaluados

Los genotipos evaluados fueron 89 líneas homocigóticas (F₁₁-F₁₃) del Proyecto de Mejoramiento Genético de Jitomate para Invernadero de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México, entre las cuales se tienen materiales de crecimiento determinado e indeterminado, así como fruto de tipo saladette, bola y cereza, además de color rojo, anaranjado y amarillo. Las líneas fueron generadas a partir de la selección de poblaciones segregantes originadas mediante cruzas entre híbridos comerciales y seleccionadas con el método de pedigrí.

Se realizaron dos fases: la fase de genotipificación (estudio del genoma) y la fase de fenotipificación (evaluación de caracteres fenotípicos).

5.2 Fase de genotipificación

La evaluación fenotípica se realizó de julio a septiembre de 2020 en condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados campus Montecillo (19° 27' 41.3" latitud norte y 98° 54' 33.1" longitud oeste y 2250 msnm), las temperaturas dentro del invernadero fueron de 13.5 °C como mínima y 35 °C como máxima.

Los genotipos se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con espuma agrícola (peat foam foami) Oasis® como sustrato. Se utilizaron cajas de madera de 2.4 m x 1.2 m y 20 cm de altura, cubiertas con geomembrana y capacidad de 500 litros de

solución nutritiva. La solución nutritiva utilizada fue la de Cadahia (2000) modificada para etapa de plántula. El trasplante se realizó 23 días después de la siembra en sistema de balsa flotante en condiciones de invernadero. Las plántulas se trasplantaron a placas de polietileno colocadas sobre los contenedores de madera.

5.2.1 Concentraciones de NaCl

Cuatro días después del trasplante (DDT), se aplicó la concentración de 150 mM de NaCl a la solución nutritiva; así mismo, se consideró un tratamiento sin aplicación de sales (0 mM de NaCl), los cuáles consistieron en aplicaciones de 0 g y 4,383 gramos de NaCl a la solución nutritiva en los contenedores.

5.2.2 Unidad y diseño experimental

La unidad experimental (UE) constó de 5 plántulas distanciadas por 5 cm. La distancia entre UE fue de 9.5 cm, lo cual correspondió a $178.7 \text{ plántulas} \cdot \text{m}^{-2}$. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con 3 repeticiones.

5.2.3 Caracteres evaluados

Los caracteres evaluados fueron:

Altura de plántula (AP, en cm) medida en tres plántulas de la UE, en tres oportunidades: 4 DDT (inicio de tratamientos), 7 DDT y 14 DDT (final de la prueba).

Al finalizar la prueba con NaCl a los 14 DDT, se evaluó a partir de las 5 plántulas de la UE:

Longitud de raíz promedio (LR, en cm).

Materia seca parte aérea (MSPA, en g), secada durante 96 horas a 46 °C.

Materia seca de raíz (MSR, en g), secada durante 96 horas a 46 °C.

Área foliar (FA, en cm²) se capturaron fotografías digitales y posteriormente se determinó mediante el software ImageJ (v1.4.3.67; National Institutes of Health).

5.3 Análisis de datos fenotípicos

5.3.1 Análisis estadísticos

Se obtuvieron relaciones de reducción o incremento con respecto al tratamiento testigo (sales/testigo) en los caracteres: altura final, longitud de raíz, área foliar, materia seca de raíz, materia seca de parte aérea, materia seca total y relación de materia seca de raíz con respecto a la materia seca total (RRT), para lo cual, se dividieron los valores obtenidos en las tres repeticiones que contenían 150 mM de NaCl de cada una de las variables entre el valor promedio de la variable correspondiente en el tratamiento testigo.

Se realizaron análisis de varianza para las relaciones sales/testigo de los caracteres evaluados y comparaciones de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). Adicionalmente se obtuvieron las correlaciones lineales de Pearson para cada par de variables

Con base en la AP determinada en tres oportunidades, para cada UE se realizaron análisis de regresión no lineal con el modelo exponencial:

$$E(AP) = Be^{-Cx}$$

Donde: AP = altura de planta; x = días después del trasplante; B = Parámetro asociado a la ordenada al origen; C = Parámetro relacionado con la velocidad de crecimiento de altura de planta; e = Base del logaritmo natural ($e=2.718281828$).

Estos análisis se obtuvieron con el paquete estadístico SAS versión 9.4.

5.4 Fase de genotipificación

5.4.1 Extracción de ADN

Para la extracción de ADN, se sembraron los genotipos en charolas de poliestireno de doscientas cavidades con turba como sustrato. El tejido vegetal de hojas verdes tiernas y sin daño aparente se obtuvo a los 35 días después de la siembra. Éste se pulverizó con nitrógeno líquido y se trituró.

La extracción de ADN se realizó con el método CTAB (bromuro de alquiltrimetilamonio). La pureza e integridad del ADN se realizó mediante su corrimiento en un gel de agarosa con concentración de 1.5 % y se cuantificó mediante un espectrofotómetro (marca Thermo Scientific modelo NanoDrop Lite) en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

La digestión de ADN se realizó con las enzimas BgIII y DdeI; posteriormente se purificaron fragmentos de 75 pb, la preparación de las bibliotecas etiquetadas, la cuantificación y secuenciación se realizó con el equipo Illumina NextSeq 2x75 del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio).

5.5 Análisis de datos genotípicos

5.5.1 Secuenciación del genoma

Los datos sin procesar de la biblioteca genómica generada por el GBS se analizaron mediante los softwares NGSEP 4.0.1 y Bowtie 2.3.5.1, para detectar SNPs e InDels (inserciones o deleciones). Posteriormente, se alinearon las lecturas con el genoma de referencia *Slycopersicum* 390 obtenido en la dirección: Phytozome, <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>. Se utilizó el software NGSEP 4.0.1 para la anotación funcional de las variantes, el filtrado y la conversión del archivo VCF a otros formatos para su posterior análisis.

Con los SNPs obtenidos del GBS se generó la matriz de distancias genéticas por medio del software NGSEP, calculada a partir de la distancia de identidad por estado (IBS). Con esta matriz se generó un dendrograma no jerárquico con el algoritmo del vecino más cercano con el software iTOL v5 (<http://itol.embl.de>).

5.6 Análisis de asociación genómica

A partir de los datos fenotípicos se obtuvieron los mejores predictores lineales e insesgados (BLUPs, Best Linear Unbiased Predictors) mediante el software Meta-R 6.0, basado en teoría de los modelos mixtos, considerando al modelo de efectos fijos. Dichos predictores se utilizaron posteriormente en el análisis de asociación genómica.

EL análisis de asociación entre los SNPs filtrados con los predictores BLUPs de los datos fenotípicos se realizó con el paquete TASSEL v5.2.60 al aplicar el análisis de componentes principales (PCA) y el modelo lineal general (GLM).

Para la identificación de los marcadores significativos, se consideró la significancia (p-value) de la razón de verosimilitud de cada uno de los marcadores SNPs, basado en el modelo lineal mixto ponderado generado por TASSEL.

Los SNPs significativos y visualizados en las gráficas de Manhattan, se ubicaron en el genoma de referencia y se verificó su posible asociación o proximidad con genes funcionales cercanos. El genoma de referencia usado fue *Slycopersicum* 390 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los programas de mejoramiento genético de tomate se buscan genes o grupos de genes que puedan contribuir a la expresión de rasgos asociados a la tolerancia factores abióticos como la salinidad.

La tolerancia a salinidad está asociada con diversos rasgos cuantitativos que son difíciles de incorporar mediante programas de mejoramiento genético convencional, debido a que se requieren de largos periodos y su identificación es difícil. La aplicación de técnicas de selección asistida como genotipificación por secuenciación (GBS) y los estudios de asociación genómica (GWAS) pueden acortar dichos períodos al identificar simultáneamente conjuntos de genes asociados a un rasgo de interés particular de tipo cuantitativo (Korte & Farlow, 2013).

La presente investigación analizó 89 líneas homocigóticas de tomate con datos genotípicos y fenotípicos para identificar marcadores SNP asociados con la tolerancia a salinidad y también genotipos con mejor desempeño en esta condición (150 mM de NaCl) en un sistema de balsa flotante.

6.1 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos de la evaluación fenotípica indicaron a través de los análisis de varianza que la materia seca de parte aérea y total (Cuadro 1), presentaron la mayor varianza genotípica y por lo tanto heredabilidad, indicando que la aportación de efectos aditivos en la definición de estos caracteres es más importante que en el resto de caracteres evaluados.

Cuadro 1. Varianza genotípica y heredabilidad de seis caracteres de desarrollo de plántula en condiciones salinas.

Carácter	Repeticiones	Media	CV %	Varianza Genotípica σ_g^2	Heredabilidad h^2
AF	3	0.544	17.3	0.064	0.329
MSR	3	2.121	32.7	0.437	0.776
MSPA	3	0.705	25.5	0.685	0.911
MST	3	0.823	29.3	0.621	0.891
LR	3	0.877	14.8	0.257	0.538
FA	3	0.501	25.9	0.078	0.275
β_1	3	0.044	26.7	0.123	0.393

AF= altura final, MSR= materia seca de raíz, MSPA= materia seca de parte aérea, MST= materia seca total, LR= longitud de raíz y FA= área foliar.

Los análisis de varianza (Cuadro 2) mostraron diferencias estadísticas en todas las relaciones de las variables evaluadas: $p \leq 0.05$ para altura de planta (AF) y área foliar (FA) y $p \leq 0.01$ para longitud de raíz (LR), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MST) y relación de materia seca de raíz con respecto a la materia seca total (RRT), es decir, al menos uno de los genotipos mostró comportamiento diferente, por lo cual se realizaron comparaciones de medias de Tukey.

De acuerdo con las comparaciones de medias de las relaciones sales/testigo de los caracteres evaluados (Cuadro 1A) hubo reducción de crecimiento de todos los genotipos evaluados en las variables altura final y área foliar, entre 27 y 60 % y de 21 y 80 %, respectivamente. La longitud de raíz, la materia seca de raíz, de la parte aérea y la total, en algunos genotipos mostraron reducción con respecto al testigo, y en otros se observaron incrementos con respecto al testigo; otro conjunto de genotipos tuvo el mismo comportamiento en ambas condiciones de salinidad (0 y 150 mM).

En el caso de materia seca de raíz, la mayoría de los genotipos tuvieron incrementos con respecto al testigo, entre 8 y hasta 395 %; en tanto que las líneas que redujeron este carácter lo hicieron de 2 a 89 %.

La mayoría de las líneas tuvieron reducción de materia seca de parte aérea, aunque las líneas L19, L29 y L47S8 mostraron el mayor incremento de esta variable, al igual que en la materia seca total.

Con respecto a la materia seca total, en 70 de las 89 líneas evaluadas se presentaron reducciones en la condición salina.

Akran *et al.* (2010) y Ruiz *et al.*, (2014) encontraron resultados similares con respecto a incremento de materia seca o comportamiento igual al testigo bajo condiciones salinas en plantas de maíz y tomate, respectivamente. Este incremento de materia seca puede deberse al genotipo (Dogan, Tipirdamaz & Demir, 2010), a la expresión de genes metabólicos y estructurales que están regulados por la presencia de sal y a que los mismos están involucrados para una mejor respuesta adaptativa de la especie (Jenks & Hasegawa, 2013) o a un incremento en la síntesis de solutos orgánicos como: azúcares, prolina y otros aminoácidos, y fitohormonas como el ácido indolacético y ácido abscísico (Babu, Sing & Gothandam, 2012; Saha *et al.*, 2015). Lo cual permite contrarrestar los efectos osmóticos de la salinidad y puede estar asociado con la presencia de mecanismos de tolerancia a la salinidad.

La línea L76-H mostró mayor reducción de crecimiento en todas las variables evaluadas, esto se debe a que en condiciones salinas se reduce la altura, área foliar y materia seca de raíces y parte aérea de plantas de tomate (Babu, Sing & Gothandam, 2012; Ruiz *et al.*, 2014; Lara *et al.*, 2015) así como la longitud de raíces (Ruiz *et al.*, 2014; Van Zelm *et al.*, 2020), este efecto pueden atribuirse a que la planta gasta su energía en forma de ATP para combatir el estrés por salinidad, en lugar de destinarla al crecimiento y desarrollo de la misma (Wu *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2020).

6.1.1 Análisis de varianza y comparaciones de medias de Tukey

Cuadro 2. Análisis de varianza de relaciones en condición salina con respecto al testigo de caracteres evaluados en 89 líneas de tomate en condiciones salinas (150 mM de NaCl) y testigo bajo cultivo de balsa flotante.

FV	GL	AF		LR		FA		MSR		MSPA		MST		RRT	
GEN	88	0.0133	*	0.0362	**	0.0231	*	2.1511	**	0.3622	**	0.5336	**	0.9792	**
BLOQ	2	1.6560		0.2963		1.1061		32.1799		2.5970		5.3341		2.5335	
ERROR	176	0.0088		0.0168		0.0167		0.4826		0.0322		0.0581		0.6178	
CV (%)		17.2		14.8		25.8		32.7		25.4		29.3		28.9	
MEDIA		0.5446		0.8771		0.5005		2.1217		0.7052		0.8227		2.7171	

FV: fuente de variación, GL: grados de libertad, GEN: genotipo, BLO: bloque, AF: altura final, LR: Longitud de raíz, FA: área foliar, MSR: materia seca de raíz, MSPA: materia seca de parte aérea, MST: materia seca total, RRT: relación materia seca de raíz con respecto a materia seca total, CV: Coeficiente de variación. ** Significativo con $P \leq 0.01$.

6.1.2 Correlaciones de Pearson

Las correlaciones de Pearson (Cuadro 3) indicaron que a medida que aumenta la materia seca de raíz se incrementó la materia seca de parte aérea ($p \leq 0.05$) y la materia seca total ($p \leq 0.05$). También indicaron que la materia seca de parte aérea tuvo fuerte asociación con el contenido de materia seca total. Además, la longitud de raíz disminuyó cuando hubo menor altura y área foliar. Todos los caracteres evaluados disminuyeron cuando hubo menor área foliar ($p \leq 0.05$). Esto es atribuido a la dificultad de la planta para la absorción de agua y nutrientes, cuando ésta se desarrolla en condiciones salinas.

Cuadro 3. Correlaciones lineales entre pares de caracteres evaluados en 89 líneas de tomate en condiciones de salinidad.

	LR	AF	MSR	MSPA	MST
AF	0.272 **				
MSR	0.053	0.109			
MSPA	-0.013	0.160	0.812 **		
MST	0.028	0.201 *	0.836 **	0.986 **	
FA	0.387 **	0.371 **	0.309 **	0.303 **	0.331 **

LR= longitud de raíz, AF= altura final, MSR= materia seca de raíz, MSPA= materia seca de parte aérea, MST= materia seca total y FA= área foliar ** Significativo con $P \leq 0.01$, * Significativo con $P \leq 0.05$.

6.1.3 Análisis de regresión no lineal

Los análisis de regresión no lineal (Figura 1) mostraron que las tasas de crecimiento diario variaron de acuerdo con la concentración de salinidad (0 y 150 mM de NaCl), siendo estas mayores ($p \leq 0.05$) en la concentración 0 mM. Además, dentro de cada concentración hubo variación entre las tasas de crecimiento diario de las líneas evaluadas e interacción del comportamiento de las líneas de acuerdo con la concentración de salinidad.

Romero-Aranda & Cuartero (2001) encontraron resultados similares de reducción del crecimiento de la parte aérea de plantas de tomate cuando crecieron condiciones de salinidad. La reducción de la longitud de tallo de plantas cultivadas en condiciones salinas se debe a la reducción en la turgencia celular y pérdida de agua, que se refleja en el tamaño de los tejidos (Taiz & Zaiger, 2006), además, los tallos se manifiestan como estructuras muy delgadas y quebradizas, debido a que el contacto físico de los pelos radicales con el cloruro de sodio induce plasmólisis de las células del tejido y necrosis localizada, lo que dificulta aún más el transporte de nutrimentos hacia los diferentes órganos de la planta (Bazile, Jacobsen & Verniau, 2016).

6.2 Resultados de la secuenciación del genoma

Las líneas fueron genotipificadas en más de 90% y generaron 22,127 marcadores SNPs, de los cuales 14,328 SNPs fueron funcionales después de un estricto análisis de filtrado. Se generó un archivo VCF con los SNPs detectados, el cual se utilizó posteriormente en el análisis de asociación genómica.

El dendrograma generó tres grupos (Figura 2), el grupo I, representado en color azul contiene las líneas L19, L29 y L47S8, las cuales mostraron tolerancia a salinidad. De acuerdo a las comparaciones de medias, en el grupo II (color naranja) se encuentra la mayor cantidad de líneas susceptibles a salinidad.

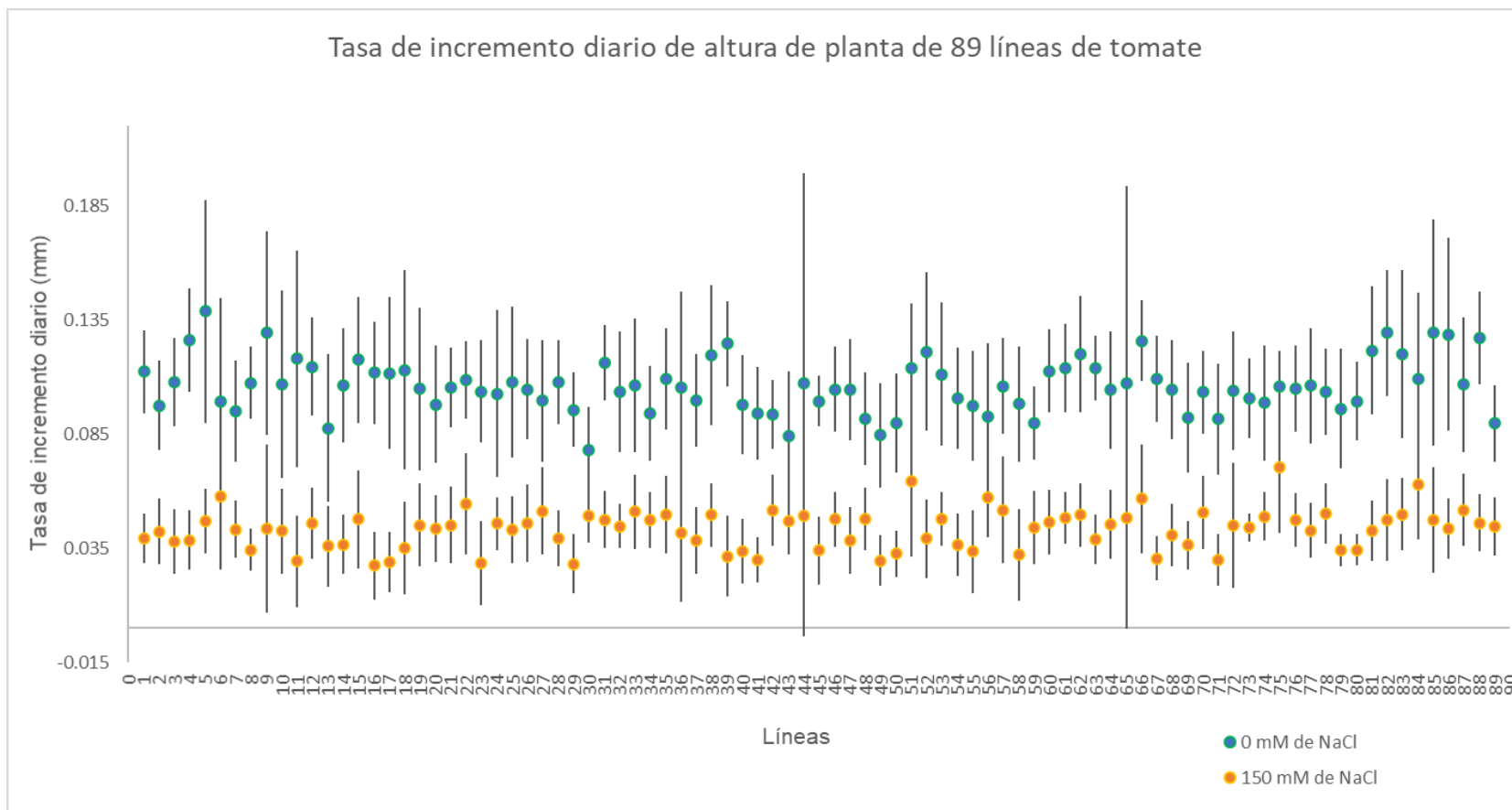


Figura 1. Tasas de crecimiento diario ($\text{mm} \cdot \text{día}^{-1}$) y sus 95 % intervalos de confianza de 89 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

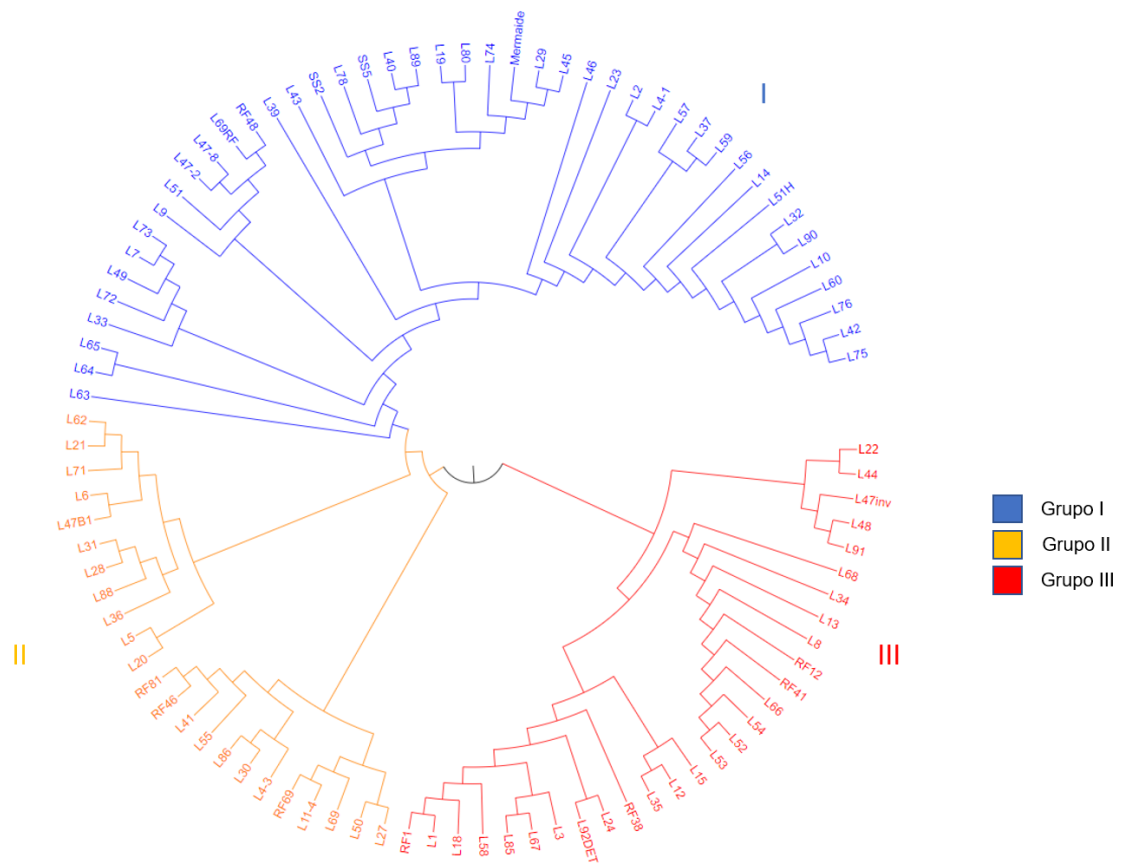


Figura 2. Dendrograma basado en el cálculo de distancias genéticas de identidad por estado (IBS) estimadas a partir de SNP de alta calidad. El dendrograma se construyó con 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con 14.328 marcadores SNP.

6.3 Análisis de asociación genómica

El análisis GWAS identificó 54 marcadores asociados significativamente a los siete rasgos fenotípicos, 18 de ellos están reportados en el genoma de referencia (Cuadro 4) y los restantes no han sido descritos (Cuadro 2A).

Con respecto a la altura de plántula se asociaron 6 SNPs ubicados en el cromosoma 6, de los cuales 5 están descritos en el genoma de referencia y uno de ellos se encuentra en una región que no ha sido estudiada.

La región Solyc06g005100.2.1 está asociada a proteínas de transferencia de fosfatidilinositol, en *Arabidopsis* regula una etapa específica en el desarrollo de

los pelos radicales, hidátodos, meristemo apical del brote y células apicales de la raíz (Vincent *et al.*, 2005). La región Solyc06g005190.2.1 codifica para la proteína CCR4-NOT, la cual desempeña un papel importante en el control de la transcripción y la desintegración del ARNm (Sarowar *et al.*, 2007) y en la región Solyc06g005270.1.1 se ubica la proteína F21O3.28, la cual tiene función desconocida.

Se encontraron 12 SNPs asociados a tasa de crecimiento diario, de los cuales 9 se ubican en regiones que no han sido reportadas y los otros 3 se en el cromosoma 6 en regiones muy cercanas, por lo cual, identificaron al mismo gen (Solyc06g017970.2.1) que codifica para la proteína hidrolasa carboxilo terminal de ubiquitina, implicada en una serie de procesos celulares esenciales que incluyen la transducción y transcripción de señales, a menudo iniciando la degradación de sustratos específicos (Hayama *et al.*, 2019).

En los cromosomas 1 y 3 se identificaron 4 marcadores asociados al área foliar. Los marcadores ubicados en el cromosoma 1 están reportados en el genoma de referencia. La región Solyc01g006150.2.1 se asocia a una proteína FieF desintoxicante de hierro ferroso, pero también puede dar cierta resistencia contra otros cationes de metales divalentes como Zn, Co, Cd, y Ni (Munkelt, Grass & Nies, 2004).

Se encontraron 13 marcadores asociados a la longitud de raíz, 5 de ellos ubicados en el cromosoma 8, 2 en el cromosoma 10, 3 en el cromosoma 1 y un marcador en los cromosomas 4 y 11. 2 de los marcadores del cromosoma 3 se han reportado en el genoma de referencia. La región Solyc03g113350.2.1 se relaciona a proteínas vegetales con dedos de zinc (ZFP), las cuales comprenden una gran familia y participan principalmente en la tolerancia al estrés abiótico (Zang *et al.*, 2016). Cheuk & Houde (2016) investigaron 53 proteínas de dedos de zinc C2H2 de tipo Q (TaZFP) de *Triticum aestivum*, y mostraron que 37 de estas TaZFP respondieron a sequía, por lo cual se asocian a la tolerancia al estrés abiótico.

Cuadro 4. Descripción de SNPs identificados de acuerdo a los caracteres evaluados (AF, LR, AF, MSR, MSPA, MST y $\beta 1$) en 89 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) del programa de mejoramiento genético de la Universidad Autónoma Chapingo.

Carácter	Cromosoma	p-value	Posición	Región localizada	Descripción
AF	6	2.85	122,951	Solyc06g005100.2.1	Phosphatidylinositol transfer protein expressed (AHRD V1 **** Q10N10_ORYSJ); contains Interpro domain(s) IPR001666 Phosphatidylinositol transfer protein
AF	6	2.88	209,710	Solyc06g005190.2.1	CCR4-NOT transcription complex subunit 4 (AHRD V1 *--- Q498M7_RAT); contains Interpro domain(s) IPR003954 RNA recognition, region 1
AF	6	2.78	204,832	Solyc06g005190.2.1	CCR4-NOT transcription complex subunit 4 (AHRD V1 *--- Q498M7_RAT); contains Interpro domain(s) IPR003954 RNA recognition, region 1
AF	6	2.83	277,182	Solyc06g005270.1.1	F21O3.28 protein (Fragment) (AHRD V1 ***- Q9SRQ9_ARATH)
AF	6	3.45	44,857,844	Solyc06g072730.2.1	Cingulin-like (AHRD V1 ***- Q6Z7G3_ORYSJ)
D	6	3.02	15,698,021	Solyc06g017970.2.1	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase (Fragment) (AHRD V1 *--- D8UG84_VOLCA); contains Interpro domain(s) IPR002083 MATH
D	6	3.28	15,698,011	Solyc06g017970.2.1	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase (Fragment) (AHRD V1 *--- D8UG84_VOLCA); contains Interpro domain(s) IPR002083 MATH
D	6	3.23	15,697,984	Solyc06g017970.2.2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase (Fragment) (AHRD V1 *--- D8UG84_VOLCA); contains Interpro domain(s) IPR002083 MATH
FA	1	6.5	570,945	Solyc01g005830.2.1	Glucan endo-1 3-beta-glucosidase 4 (AHRD V1 *- B6TL03_MAIZE); contains Interpro domain(s) IPR012946 X8
FA	1	3.04	799,345	Solyc01g006150.2.1	Cation-efflux pump fieF (AHRD V1 ***- FIEF_KLEPN); contains Interpro domain(s) IPR002524 Cation efflux protein

Cromosoma y p-value obtenidos de TASSEL v5.2.60 analizados bajo el modelo lineal general, posición del SNP de acuerdo a la gráfica de Manhattan, nombre del marcador de acuerdo al genoma de referencia (*Slycopersicum* 390) obtenido del sitio web oficial <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>.

Continuación Cuadro 4. Descripción de SNPs identificados de acuerdo a los caracteres evaluados (AF, LR, AF, MSR, MSPA, MST y $\beta 1$) en 89 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) del programa de mejoramiento genético de la Universidad Autónoma Chapingo.

Carácter	Cromosoma	p-value	Posición	Región localizada	Descripción
LR	3	2.57	63,510,019	Solyc03g113360.2.1	LOB domain family protein (AHRD V1 *-D7L292_ARALY); contains Interpro domain(s) IPR004883 Lateral organ boundaries, LOB
LR	3	2.54	63,499,878	Solyc03g113350.2.1	CHY zinc finger containing protein (AHRD V1 *-C5P643_COCP7); contains Interpro domain(s) IPR008913 Zinc finger, CHY-type
MSPA, MST	5	7.77	60,669,507	Solyc05g050530.2.1	Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase family protein (AHRD V1 ***- Q2JQH5_SYNJA); contains Interpro domain(s) IPR012349 FMN-binding split barrel
MSPA, MST	5	6.77	65,172,651	Solyc05g055610.2.1	tRNA wybutosine-synthesizing protein (AHRD V1 *--- C4QXF1_PICPG); contains Interpro domain(s) IPR003827 tRNA wybutosine-synthesizing protein
MSPA, MST	8	7.81	61,598,882	Solyc08g077690.2.1	Chromodomain helicase DNA binding protein 5 (AHRD V1 ***- B1AK51_HUMAN); contains Interpro domain(s) IPR000330 SNF2-related
MSPA, MST	9	7	67,700,064	Solyc09g076010.2.1	PHD finger family protein (AHRD V1 *--- D7MI23_ARALY); contains Interpro domain(s) IPR019787 Zinc finger, PHD-finger
MSPA, MST	1	7.04	1,284,823	Solyc01g006700.2.1	Downstream neighbor of SON (AHRD V1 *-Q5U2V7_RAT)
MSR	2	3.57	45,231,322	Solyc02g081160.2.1	Diphosphate-fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase (AHRD V1 ***- D1JTA2_9BACE); contains Interpro domain(s) IPR011183 Pyrophosphate-dependent phosphofructokinase PfpB

Cromosoma y p-value obtenidos de TASSEL v5.2.60 analizados bajo el modelo lineal general, posición del SNP de acuerdo a la gráfica de Manhattan, nombre del marcador de acuerdo al genoma de referencia (*Slycopersicum* 390) obtenido del sitio web oficial <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>.

Las proteínas ZFP regulan la expresión de una serie de genes activados por estrés en plantas a través de la señalización de especies reactivas de oxígeno (ROS) para resistir la sal, la sequía o el estrés oxidativo (Hsu *et al.*, 2014) y pueden conferir tolerancia al estrés abiótico al aumentar el contenido de ácido abscísico, prolina, azúcares solubles o clorofila, y reducir la tasa de pérdida de agua (Luo *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2016).

La región Solyc03g113360.2.1 ubicada en el cromosoma 3 y asociada a longitud de raíz, es una proteína de la familia del dominio LOB, que son importantes en el crecimiento y desarrollo de raíces y hojas, y los procesos de respuesta de defensa en las plantas, también, sirven como factores de transcripción esenciales para regular el desarrollo de órganos de las plantas (Zhang *et al.*, 2020).

Por otro parte, solo se encontró un SNP asociado a la materia seca de raíz, el cual se encuentra en la posición 45,231,322 en el cromosoma 2 y que no ha sido reportado en alguna relación de tolerancia de la planta a algún tipo de estrés.

La materia seca de parte aérea y la materia seca total se asociaron a los mismos SNPs ubicados en los cromosomas 1, 5, 8 ,9 y 12.

En el cromosoma 5 se encontraron dos marcadores descritos en el genoma de referencia, uno de ellos codifica para wybutosina, nucleósido implicado en proceso de transcripción del ARNm (Suzuki *et al.*, 2009).

En el cromosoma 7 en la posición 67,700,064 se asoció la región Solyc09g076010.2.1, la cual codifica para proteínas de la familia de dedos del homeodominio vegetal (PHD) las cuales se han reportado como involucradas en la respuesta de la planta al estrés por sequía y salinidad en maíz (Wang *et al.*, 2015) y arroz (Waziriy *et al.*, 2020) y a estrés por sequía en soja (Wu *et al.*, 2011). Estas proteínas están implicadas en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Chen, Hayat, & Cheng (2016) encontraron 45 genes putativos en tomate, que codifican para proteínas PHD distribuidas en 11 cromosomas, sin embargo, no se ha reportado con exactitud cuál es su función en esta especie.

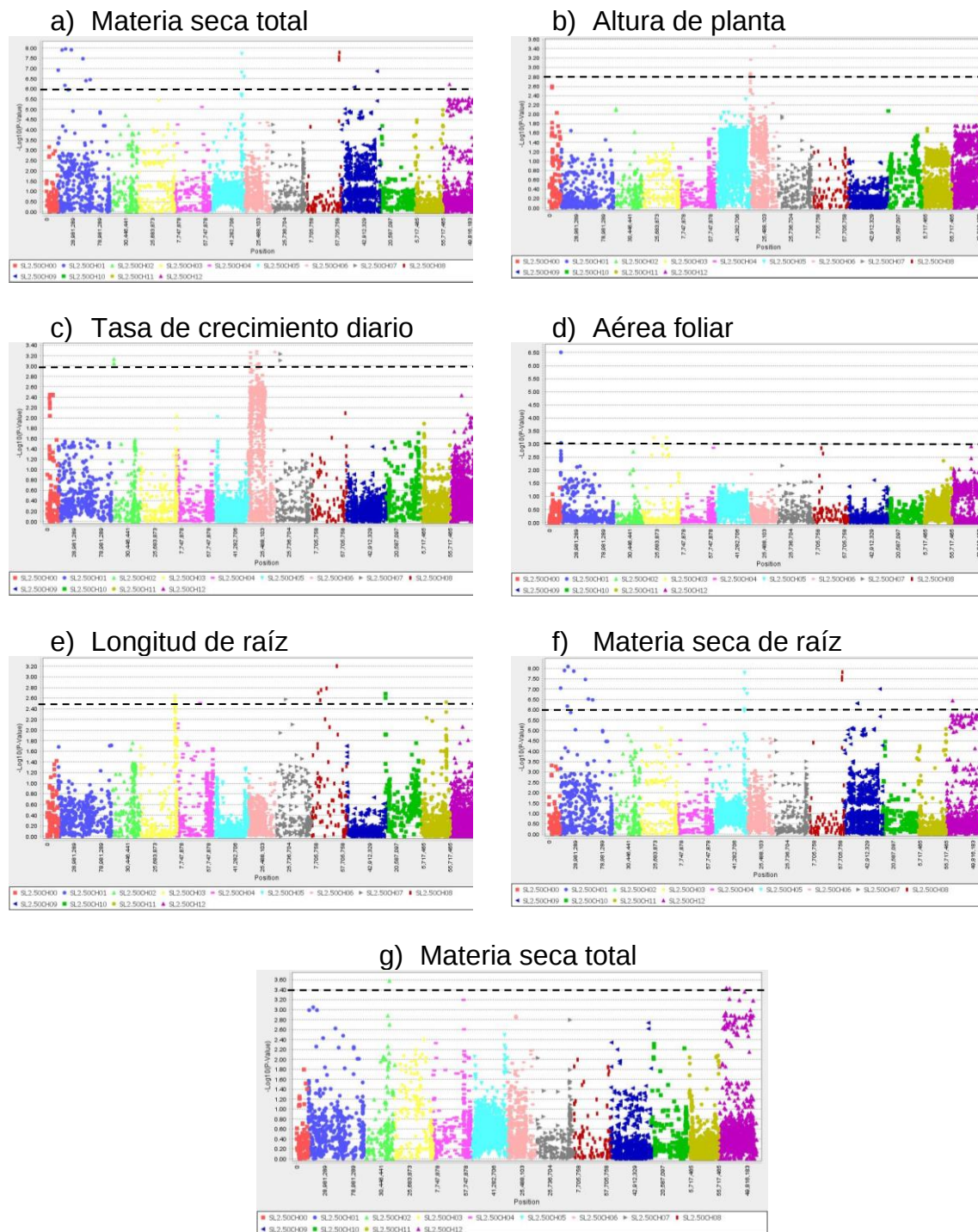


Figura 3. Gráficos de Manhattan de asociaciones marcadores-rasgos de siete caracteres fenotípicos construidos a partir de la asociación de 14.328 SNPs y caracteres fenotípicos, obtenidos en TASSEL v5.2.60 con el modelo lineal general ponderado con 89 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L). Marcadores ubicados por encima de la línea punteada son significativos.

7. CONCLUSIONES

Se identificaron tres líneas, L19, L29 y L47S8, con mayor tolerancia a la condición salina, las cuales pueden ser consideradas en estudios posteriores. Una de ellas L47S8, se ha mostrado como un progenitor sobresaliente en la generación de híbridos.

El GBS generó 22,127 marcadores o loci SNPs, de los cuales 14,328 fueron funcionales para el análisis GWAS. El análisis GWAS reveló 54 significativos marcadores asociados a seis caracteres de plántula (AF, LR, FA, MSR, MSPA y MST) en condiciones salinas. De los SNPs significativos, 18, se asociaron a genes descritos en el genoma de referencia.

En el cromosoma 3 se localizaron las regiones Solyc03g113350.2.1 y Solyc03g113360.2.1 que codifican para las proteínas con dedos de zinc (ZFP) y de la familia del dominio LOB, respectivamente, que pueden conferir tolerancia a salinidad. Adicionalmente, en el cromosoma 7 se localizó la región Solyc09g076010.2.1 que codifica para proteínas de la familia de dedos del homeodominio vegetal (PHD) que también están implicadas en la tolerancia a estrés por salinidad y otros factores abióticos.

Estos resultados muestran que el GWAS puede utilizarse como una herramienta adecuada para mejorar la eficiencia del mejoramiento para tolerancia a salinidad en la etapa de plántula de tomate.

8. LITERATURA CITADA

- Adem, G. D., Roy, S. J., Zhou, M., Bowman, J. P., & Shabala, S. (2014). Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley. *BMC plant biology*, 14(1), 113.
- Akram, M., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., Waraich, E. A., Iqbal, J., & Mohsan, M. (2010). Screening for salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *Pak. J. Bot*, 42(1), 141-154.
- Al-Karaki, G. N. (2000). Growth, sodium, and potassium uptake and translocation in salt stressed tomato. *Journal of plant nutrition*, 23(3), 369-379.
- Babu, M. A., Singh, D., & Gothandam, K. M. (2012). The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. *J Anim Plant Sci*, 22(1), 159-164.
- Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical reviews in plant sciences*, 24(1), 23-58. <https://doi.org/10.1080/07352680590910410>.
- Bazile, D., Jacobsen, S. E., & Verniau, A. (2016). The global expansion of quinoa: trends and limits. *Frontiers in Plant Science*, 7, 622.
- Beissinger, T. M., Hirsch, C. N., Sekhon, R. S., Foerster, J. M., Johnson, J. M., Muttoni, G., ... & de Leon, N. (2013). Marker density and read depth for genotyping populations using genotyping-by-sequencing. *Genetics*, 193(4), 1073-1081.
- Bonhomme, M., André, O., Badis, Y., Ronfort, J., Burgarella, C., Chantret, N., & Navier, H. (2014). High-density genome-wide association mapping implicates an F-box encoding gene in *Medicago truncatula* resistance to *Aphanomyces euteiches*. *New Phytologist*, 201(4), 1328-1342.
- Brachi, B., Morris, G. P., and Borevitz, J. O. (2011). Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field. *Genome Biol.* 12:232. doi: 10.1186/gb-2011-12-10-232
- Bruce A., Alexander J., Julian L., Martin R., Keith R., Peter W. (1994). *The Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland Science. ISBN-10: 0-8153-4072-9.
- Cadahia C., (2000). *Fertirrigación, cultivos hortícolas y ornamentales*. 2da. Edición. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España. 475 p.
- Calvo H., R. M.; L. González A.; S. Pérez B. (1994). *Manual de modelos no lineales en los ámbitos agronómico ganadero y forestal*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. España.
- Carvajal, M., Cerdá, A., & Martínez, V. (2000). *Plant Growth Regulation*, 30(1), 37–47. doi:10.1023/a:1006359503099
- Chang, H. X., & Hartman, G. L. (2017). Characterization of insect resistance loci in the USDA soybean germplasm collection using genome-wide association studies. *Front. Plant Sci* 8:670. doi: 10.3389/fpls.2017.00670

- Chen, X., Hayat, S., & Cheng, Z. (2016). Genome-wide identification and analysis of genes encoding PHD-finger protein in tomato. *Pak. J. Bot*, 48(1), 155-165.
- Cheuk, A., & Houde, M. (2016). Genome wide identification of C1-2i zinc finger proteins and their response to abiotic stress in hexaploid wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, 291(2), 873-890.
- Clavero, T., & Razz, G. (2002). Efecto de la salinidad en el crecimiento de *Gliricidia sepium*. *Revista Científica*, 12(Suplemento 2), p517-518.
- Cuartero J, Bolarín MC, Asíns MJ, Moreno V, (2006). Increasing salt tolerance in the tomato. *Journal of Experimental Botany*, 57(5): 1045- 1058.
- Cuartero, J., & Fernández-Muñoz, R. (1998). *Tomato and salinity*. *Scientia Horticulturae*, 78(1-4), 83–125. doi:10.1016/s0304-4238(98)00191-5
- Cuartero, J., Bolarín, M. C., Asíns, M. J., & Moreno, V. (2006). *Increasing salt tolerance in the tomato*. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), 1045–1058. doi:10.1093/jxb/erj102
- Dogan, M., Tipirdamaz, R. U. K. İ. Y. E., & Demir, Y. (2010). Salt resistance of tomato species grown in sand culture. *Plant, Soil and Environment*, 56(11), 499-507.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one*, 6(5), e19379.
- FAO (2008) FAO Land and Plant Nutrition Management Service. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>
- Ferchichi, S., Hessini, K., Dell'Aversana, E., D'Amelia, L., Woodrow, P., Ciarmiello, L. F., & Carillo, P. (2018). *Hordeum vulgare* and *Hordeum maritimum* respond to extended salinity stress displaying different temporal accumulation pattern of metabolites. *Functional Plant Biology*, 45(11), 1096-1109.
- Flowers, T. J., Munns, R., & Colmer, T. D. (2015). Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of botany*, 115(3), 419-431.
- Glaubitz J. C., Casstevens T. M., Lu F., Harriman J., Elshire R. J., Sun Q. (2014). TASSEL-GBS: A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS ONE*.; 9(2): e90346. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090346>.
- Hajiboland, R.; Aliasgharzadeh, A.; Laiegh, S. F. and Poschenrieder, C. (2010). Colonization with Arbuscular mycorrhizal fungi improve salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Plant and Soil*. 331(1):313-327. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0255-z>
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Fujita, M. (2014). Role of tocopherol (vitamin E) in plants: abiotic stress tolerance and beyond. In *Emerging technologies and management of crop stress tolerance* (pp. 267-289). Academic Press.
- Hasegawa, P. M. (2013). Sodium (Na⁺) homeostasis and salt tolerance of plants. *Environmental and Experimental Botany*, 92, 19-31.

- Hayama, R., Yang, P., Valverde, F., Mizoguchi, T., Furutani-Hayama, I., Vierstra, R. D., & Coupland, G. (2019). Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolases are required for period maintenance of the circadian clock at high temperature in *Arabidopsis*. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.
- He, J., Zhao, X., Laroche, A., Lu, Z. X., Liu, H., & Li, Z. (2014). Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Frontiers in plant science*, 5, 484.
- Horton, M. W., Hancock, A. M., Huang, Y. S., Toomajian, C., Atwell, S., Auton, A., & Nordborg, M. (2012). Genome-wide patterns of genetic variation in worldwide *Arabidopsis thaliana* accessions from the RegMap panel *Nature genetics*, 44(2), 212-216.
- Hsu, K. H., Liu, C. C., Wu, S. J., Kuo, Y. Y., Lu, C. A., Wu, C. R., & Yeh, C. H. (2014). Expression of a gene encoding a rice RING zinc-finger protein, OsRZFP34, enhances stomata opening. *Plant molecular biology*, 86(1-2), 125-137.
- Jenks, M. A., & Hasegawa, P. M. (Eds.). (2013). Plant Abiotic Stress. doi:10.1002/9781118764374
- Korte, A. & Farlow, A. (2013) The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. *Plant Methods*
- Kumar, S., Banks, T. W., & Cloutier, S. (2012). SNP discovery through next-generation sequencing and its applications. *International journal of plant genomics*.
- Kump, K. L., Bradbury, P. J., Wissner, R. J., Buckler, E. S., Belcher, A. R., Oropeza-Rosas, M. A., & Balint-Kurti, P. J. (2011). Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nature genetics*, 43(2), 163. doi: 10.1038/ng.747
- Langmead B, Salzberg SL. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods*. 9(4):357–9. doi:http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.1923.
- Lara, F. S., Vallejo, P. R., García, P. S., Villa, M. S., Muñoz, M. L., Rodríguez, J. C. C., & Segovia, C. P. (2015). Tolerancia de líneas nativas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la salinidad con NaCl. *Interciencia*, 40(10), 704-709.
- Lata, C., & Prasad, M. (2011). Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants. *Journal of experimental botany*, 62(14), 4731-4748. <https://doi.org/10.1093/jxb/err210>
- Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *bioinformatics*, 25(14), 1754-1760.
- Li, H., Peng, Z., Yang, X., Wang, W., Fu, J., Wang, J., ... & Liu, J. (2013). Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels. *Nature genetics*, 45(1), 43-50. doi: 10.1038/ng.2484
- Luo M, Zhao Y, Weisong, Zhang R, Su A, Li C, Wang X, Xing J, Shi Z, Zhao J (2017) Effect of saline stress on the physiology and growth of maize hybrids and their related inbred lines. *Maydica* 62: 1-8

- Luo, X., Cui, N., Zhu, Y., Cao, L., Zhai, H., Cai, H., et al. (2012). Over-expression of GsZFP1, an ABA-responsive C2H2-type zinc finger protein lacking a QALGGH motif, reduces ABA sensitivity and decreases stomata size. *J. Plant Physiol.* 169, 1192–1202. doi: 10.1016/j.jplph.2012.03.019
- McCouch, S. R., Zhao, K., Wright, M., Tung, C. W., Ebana, K., Thomson, M., & McClung, A. (2010). Development of genome-wide SNP assays for rice. *Breeding Science*, 60(5), 524-535.
- Monir, M. M., & Jun, Z. (2014). Tools for quantitative trait locus mapping and genome-wide association study mapping: a review. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 40(4), 379-386.
- Munkelt, D., Grass, G., & Nies, D. H. (2004). The chromosomally encoded cation diffusion facilitator proteins DmeF and FieF from *Wautersia metallidurans* CH34 are transporters of broad metal specificity. *Journal of bacteriology*, 186(23), 8036-8043.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.
- Ojeda, M., & Pire, R. (2011). Efecto de la salinidad en dos portainjertos de vid cultivados a pie franco o injertados. *Revista fitotecnica mexicana*, 34(1), 53-61.
- Perea, C., De La Hoz, J. F., Cruz, D. F., Lobaton, J. D., Izquierdo, P., Quintero, J. C., & Duitama, J. (2016). Bioinformatic analysis of genotype by sequencing (GBS) data with NGSEP. *BMC genomics*, 17(5), 539-551.
- Perez-Alfocea, F., Balibrea, M. E., Santa Cruz, A., & Estan, M. T. (1996). Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. *Plant and soil*, 180(2), 251-257.
- Perez-Prat, E., Narasimhan, M. L., Binzel, M. L., Botella, M. A., Chen, Z., Valpuesta, V., & Hasegawa, P. M. (1992). Induction of a putative Ca²⁺-ATPase mRNA in NaCl-adapted cells. *Plant physiology*, 100(3), 1471-1478.
- Pulido M. L., Weigand C. L., González M. J., Robles R. B. D., Cisneros E. X., & Lemus R. O. (2003). La salinidad del suelo y su efecto en el rendimiento de los cultivos estudiados con imágenes de satélite en tres distritos de riego. *Ingeniería hidráulica en México*. Vol. XVIII (2) pp.83-97
- Romero-Aranda, R., Soria, T., & Cuartero, J. (2001). Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant science*, 160(2), 265-272.
- Ruiz Espinoza, F. H., Villalpando Gutiérrez, R. L., Murillo Amador, B., Beltrán Morales, F. A., & Hernández Montiel, L. G. (2014). Respuesta diferencial a la salinidad de genotipos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en primeras etapas fenológicas. *Terra latinoamericana*, 32(4), 311-323. <http://ref.scielo.org/pcfkyv>
- Saha, J., Brauer, E. K., Sengupta, A., Popescu, S. C., Gupta, K., & Gupta, B. (2015). Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 3, 21.

- Sairam RK, Tyagi A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*. 86(3): 407-421.
- Sanchez, R., & Zhou, M. M. (2011). The PHD finger: a versatile epigenome reader. *Trends in biochemical sciences*, 36(7), 364-372.
- Sarowar, S., Oh, H. W., Cho, H. S., Baek, K. H., Seong, E. S., Joung, Y. H., & Choi, D. (2007). Capsicum annuum CCR4-associated factor CaCAF1 is necessary for plant development and defence response. *The Plant Journal*, 51(5), 792-802.
- Sauvage, C., Segura, V., Bauchet, G., Stevens, R., Do, P. T., Nikoloski, Z., & Causse, M. (2014). Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. *Plant physiology*, 165(3), 1120-1132.
- SIAP. (2019). Atlas Agroalimentario, México. Consultado en https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/
- Slavov, G. T., Nipper, R., Robson, P., Farrar, K., Allison, G. G., Bosch, M., & Jensen, E. (2014). Genome-wide association studies and prediction of 17 traits related to phenology, biomass and cell wall composition in the energy grass *Miscanthus sinensis*. *New phytologist*, 201(4), 1227-1239.
- Soto-Cerda, B. J., & Cloutier, S. (2012). Association mapping in plant genomes. *Genetic diversity in plants*, 29-54.
- Suzuki, Y., Noma, A., Suzuki, T., Ishitani, R., & Nureki, O. (2009). Structural basis of tRNA modification with CO₂ fixation and methylation by wybutosine synthesizing enzyme TYW4. *Nucleic acids research*, 37(9), 2910-2925
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiologia vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt Tolerance Mechanisms of Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 71(1). doi:10.1146/annurev-arplant-050718-100005
- Vincent, P., Chua, M., Nogue, F., Fairbrother, A., Mekeel, H., Xu, Y., & Bankaitis, V. A. (2005). A Sec14p-nodulin domain phosphatidylinositol transfer protein polarizes membrane growth of *Arabidopsis thaliana* root hairs. *The Journal of cell biology*, 168(5), 801-812.
- Wang W, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A, 2004. Role of plant heat shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends. Plant. Sci.* 9: 244-252.
- Wang, F., Tong, W., Zhu, H., Kong, W., Peng, R., Liu, Q., et al. (2016). A novel Cys2/His2 zinc finger protein gene from sweetpotato, IbZFP1, is involved in salt and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Planta* 243, 783–797. doi: 10.1007/s00425-015-2443-9
- Wang, Q., Liu, J., Wang, Y., Zhao, Y., Jiang, H., & Cheng, B. (2015). Systematic analysis of the maize PHD-finger gene family reveals a subfamily involved in abiotic stress response. *International journal of molecular sciences*, 16(10), 23517-23544.

- Waziri, A., Singh, D. K., Sharma, T., Chatterjee, S., & Purty, R. S. (2020). Genome-wide analysis of PHD finger gene family and identification of potential miRNA and their PHD finger gene specific targets in *Oryza sativa indica*. *Non-coding RNA research*.
- Wu, T., Pi, E. X., Tsai, S. N., Lam, H. M., Sun, S. M., Kwan, Y. W., & Ngai, S. M. (2011). GmPHD5 acts as an important regulator for crosstalk between histone H3K4 dimethylation and H3K14 acetylation in response to salinity stress in soybean. *BMC plant biology*, 11(1), 178.
- Wu, X., & Blair, M. W. (2017). Diversity in grain amaranths and relatives distinguished by genotyping by sequencing (GBS). *Frontiers in plant science*, 8, 1960.
- Wu, X., Shu, S., Wang, Y., Yuan, R., & Guo, S. (2019). Exogenous putrescine alleviates photoinhibition caused by salt stress through cooperation with cyclic electron flow in cucumber. *Photosynthesis research*, 141(3), 303-314. <https://doi.org/10.1007/s11120-019-00631-y>
- Xu D, Duan X, Wang B, Hong B, Ho TH, Wu R, 1996. Differential expression HVA 1, from barley confers tolerance to water deficit and salt of salt- stress in transgenic rice. *Plant Physiol*. 110: 249-257.
- Yang, X., Li, Y., Chen, H., Huang, J., Zhang, Y., Qi, M., ... & Li, T. (2020). Photosynthetic Response Mechanism of Soil Salinity-Induced Cross-Tolerance to Subsequent Drought Stress in Tomato Plants. *Plants*, 9(3), 363. <https://doi.org/10.3390/plants9030363>
- Zang, D., Li, H., Xu, H., Zhang, W., Zhang, Y., Shi, X., & Wang, Y. (2016). An Arabidopsis zinc finger protein increases abiotic stress tolerance by regulating sodium and potassium homeostasis, reactive oxygen species scavenging and osmotic potential. *Frontiers in plant science*, 7, 1272.
- Zhang, J., Song, Q., Cregan, P. B., and Jiang, G. L. (2016). Genome-wide association study, genomic prediction and marker-assisted selection for seed weight in soybean (*Glycine max*). *Theor. Appl. Genet.* 129, 117–130. doi: 10.1007/s00122-015-2614-x
- Zhang, J., Zhao, J., Xu, Y., Liang, J., Chang, P., Yan, F., ... & Zou, Z. (2015). Genome-wide association mapping for tomato volatiles positively contributing to tomato flavor. *Frontiers in plant science*, 6, 1042.
- Zhang, Y., Li, Z., Ma, B., Hou, Q., & Wan, X. (2020). Phylogeny and Functions of LOB Domain Proteins in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2278.
- Zhou, L., Wang, S. B., Jian, J., Geng, Q. C., Wen, J., Song, Q., et al. (2015). Identification of domestication-related loci associated with flowering time and seed size in soybean with the RAD-seq genotyping method. *Sci. Rep.* 5:9350. doi: 10.1038/srep09350

9. ANEXO

Cuadro 1A. Comparación de medias (Tukey, ≤ 0.05) de altura final (AF), longitud de raíz (LR), área foliar (FA), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MST) y relación de materia seca de raíz con respecto a la materia seca total (RRT).

GEN	AF	LR	FA	MSR	MSPA	MST	RRT
L1	0.47 a	0.81 abc	0.53 abc	1.10 fghijk	0.47 fghijklmno	0.54 ghijk	2.01 ab
L2	0.59 a	0.85 abc	0.55 abc	1.64 abcdefghijk	0.52 efghijklmno	0.61 fghijk	2.63 ab
L3	0.53 a	0.85 abc	0.43 abc	2.02 abcdefghijk	0.62 defghijklmno	0.75 efghijk	2.69 ab
L4-1	0.47 a	0.93 abc	0.50 abc	3.19 abcdefgh	1.10 bcdefg	1.21 defgh	3.01 ab
L4-3	0.49 a	1.03 abc	0.57 abc	2.62 abcdefghij	0.72 cdefghijklmno	0.83 efghijk	3.05 ab
L5	0.67 a	0.72 abc	0.57 abc	1.18 fghijk	0.40 ijklmno	0.45 ghijk	2.60 ab
L6	0.60 a	0.89 abc	0.56 abc	1.57 abcdefghijk	0.46 ghijklmno	0.53 ghijk	3.40 ab
L7	0.48 a	1.00 abc	0.61 abc	2.09 abcdefghijk	0.58 defghijklmno	0.65 fghijk	3.79 ab
L8	0.52 a	1.01 abc	0.79 a	1.26 fghijk	0.37 jklmno	0.44 hijk	2.90 ab
L9	0.57 a	0.99 abc	0.53 abc	1.42 defghijk	0.40 ijklmno	0.47 ghijk	3.02 ab
L10	0.50 a	0.71 abc	0.35 abc	0.71 ijk	0.28 mno	0.31 ijk	2.22 ab
L11-4	0.50 a	1.02 abc	0.62 abc	1.59 abcdefghijk	0.45 hijklmno	0.53 ghijk	3.08 ab
L12	0.58 a	1.15 a	0.44 abc	2.43 abcdefghijk	0.71 cdefghijklmno	0.97 defghij	2.62 ab
L13	0.51 a	0.84 abc	0.60 abc	1.50 abcdefghijk	0.64 defghijklmno	0.62 fghijk	2.43 ab
L14	0.54 a	0.94 abc	0.54 abc	1.21 fghijk	0.30 lmno	0.34 ijk	4.05 a
L15	0.44 a	1.01 abc	0.48 abc	1.43 cdefghijk	0.44 hijklmno	0.52 ghijk	2.77 ab
L18	0.59 a	0.86 abc	0.51 abc	2.38 abcdefghijk	0.69 cdefghijklmno	0.91 defghijk	2.61 ab
L19	0.61 a	0.88 abc	0.50 abc	2.80 abcdefghi	1.71 ab	2.26 abc	1.24 b
L20	0.62 a	0.98 abc	0.49 abc	1.29 efghijk	0.48 fghijklmno	0.55 ghijk	2.31 ab
DMSH	0.33	0.46	0.46	2.46	0.64	0.85	2.79

AF=altura final, LR= longitud de raíz, FA= área foliar, MSR=materia seca de raíz, MSPA=materia seca de parte aérea, MST= materia seca total y RRA= relación de materia seca raíz con respecto a materia seca de parte aérea. DMSH= diferencia mínima significativa honesta. Medias con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$), de acuerdo con comparaciones de medias de Tukey.

Cuadro 1A. Continuación.

GEN	AF		LR		FA		MSR		MSPA		MST		RRT	
L22	0.54	a	1.05	abc	0.56	abc	1.26	fghijk	0.55	efghijklmno	0.64	fghijk	2.02	ab
L23	0.55	a	1.12	ab	0.59	abc	2.12	abcdefghijkl	0.96	cdefghijk	0.96	defghij	2.55	ab
L24	0.47	a	0.77	abc	0.53	abc	2.01	abcdefghijkl	0.69	cdefghijklmno	0.69	efghijk	3.35	ab
L27	0.59	a	0.76	abc	0.43	abc	2.55	abcdefghijkl	0.76	cdefghijklm	0.91	defghijk	2.74	ab
L28	0.61	a	0.83	abc	0.45	abc	1.26	fghijk	0.39	ijklmno	0.46	ghijk	2.77	ab
L29	0.49	a	0.94	abc	0.52	abc	3.48	abcdefg	2.13	a	2.41	ab	1.45	ab
L30	0.53	a	0.94	abc	0.52	abc	1.64	abcdefghijkl	0.49	fghijklmno	0.56	fghijk	3.48	ab
L31	0.63	a	0.87	abc	0.47	abc	1.55	abcdefghijkl	0.69	cdefghijklmno	0.76	efghijk	2.17	ab
L33	0.47	a	0.94	abc	0.43	abc	2.69	abcdefghi	0.66	defghijklmno	0.78	efghijk	3.37	ab
L34	0.55	a	0.86	abc	0.50	abc	1.85	abcdefghijkl	0.60	defghijklmno	0.71	efghijk	2.60	ab
L35	0.69	a	0.98	abc	0.49	abc	1.42	defghijk	0.39	ijklmno	0.46	ghijk	3.72	ab
L36	0.46	a	1.03	abc	0.47	abc	1.50	abcdefghijkl	0.42	hijklmno	0.50	ghijk	3.14	ab
L37	0.66	a	0.84	abc	0.55	abc	1.08	ghijk	0.40	ijklmno	0.46	ghijk	2.34	ab
L39	0.60	a	0.88	abc	0.46	abc	2.57	abcdefghijkl	0.69	cdefghijklmno	0.81	efghijk	3.27	ab
L40	0.72	a	0.86	abc	0.54	abc	1.46	bcdefghijk	0.62	defghijklmno	0.87	efghijk	1.81	ab
L41	0.57	a	1.03	abc	0.65	abc	0.98	hijk	0.48	fghijklmno	0.54	ghijk	1.82	ab
L42	0.43	a	0.66	bc	0.25	bc	3.09	abcdefghi	0.69	cdefghijklmno	0.80	efghijk	3.31	ab
L43	0.62	a	0.83	abc	0.55	abc	1.33	defghijk	0.35	klmno	0.40	hijk	3.85	ab
L44	0.50	a	0.72	abc	0.50	abc	1.95	abcdefghijkl	0.52	efghijklmno	0.62	fghijk	3.07	ab
L45	0.40	a	0.86	abc	0.45	abc	2.15	abcdefghijkl	0.58	defghijklmno	0.68	efghijk	3.14	ab
L46	0.48	a	0.82	abc	0.54	abc	1.51	abcdefghijkl	0.59	defghijklmno	0.65	fghijk	2.47	ab
DMSH	0.33		0.46		0.46		2.46		0.64		0.85		2.79	

AF=altura final, LR= longitud de raíz, FA= área foliar, MSR=materia seca de raíz, MSPA=materia seca de parte aérea, MST= materia seca total y RRA= relación de materia seca raíz con respecto a materia seca de parte aérea. DMSH= diferencia mínima significativa honesta. Medias con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$), de acuerdo con comparaciones de medias de Tukey.

Cuadro 1A. Continuación.

GEN	AF		LR		FA		MSR		MSPA		MST		RRT	
L45	0.40	a	0.86	abc	0.45	abc	2.15	abcdefghijk	0.58	defghijklmno	0.68	efghijk	3.14	ab
L46	0.48	a	0.82	abc	0.54	abc	1.51	abcdefghijk	0.59	defghijklmno	0.65	fghijk	2.47	ab
L47B1	0.60	a	0.90	abc	0.60	abc	2.03	abcdefghijk	0.63	defghijklmno	0.72	efghijk	3.16	ab
L47S2	0.66	a	0.98	abc	0.47	abc	2.30	abcdefghijk	1.04	cdefgh	1.16	defghi	1.98	ab
L47S8	0.59	a	0.76	abc	0.49	abc	3.77	abcd	2.26	a	2.70	a	1.40	ab
L47SINV	0.73	a	0.93	abc	0.51	abc	0.11	k	0.13	no	0.12	jk	1.69	ab
L48	0.57	a	0.75	abc	0.66	ab	3.74	abcde	1.15	bcde	1.25	defgh	3.00	ab
L49	0.54	a	0.76	abc	0.45	abc	2.37	abcdefghijk	0.84	cdefghijklm	0.90	defghijk	2.65	ab
L50	0.49	a	0.94	abc	0.49	abc	1.86	abcdefghijk	0.61	defghijklmno	0.71	efghijk	2.54	ab
L51	0.57	a	0.79	abc	0.43	abc	1.80	abcdefghijk	0.66	defghijklmno	0.75	efghijk	2.36	ab
L51-H	0.57	a	1.00	abc	0.46	abc	2.22	abcdefghijk	0.72	cdefghijklmn	0.86	efghijk	2.55	ab
L52	0.60	a	0.98	abc	0.44	abc	2.59	abcdefghij	0.60	defghijklmno	0.72	efghijk	3.69	ab
L53	0.52	a	0.70	abc	0.66	abc	1.28	fghijk	0.80	cdefghijklm	0.85	efghijk	1.72	ab
L54	0.49	a	0.85	abc	0.55	abc	1.53	abcdefghijk	0.47	ghijklmno	0.55	ghijk	2.77	ab
L55	0.51	a	1.00	abc	0.44	abc	2.38	abcdefghijk	0.78	cdefghijklm	0.91	defghijk	2.50	ab
L56	0.50	a	0.94	abc	0.37	abc	1.89	abcdefghijk	0.58	defghijklmno	0.68	efghijk	2.82	ab
L57	0.50	a	0.96	abc	0.50	abc	2.24	abcdefghijk	0.67	cdefghijklmno	0.78	efghijk	2.73	ab
L58	0.53	a	0.77	abc	0.50	abc	1.50	abcdefghijk	0.47	fghijklmno	0.53	ghijk	3.23	ab
L59	0.52	a	0.78	abc	0.31	bc	1.33	defghijk	0.52	efghijklmno	0.58	fghijk	2.35	ab
L60	0.55	a	0.83	abc	0.31	bc	3.29	abcdefgh	0.93	cdefghijkl	0.98	defghij	3.40	ab
L61	0.63	a	0.83	abc	0.57	abc	1.92	abcdefghijk	0.71	cdefghijklmno	0.77	efghijk	2.61	ab
DMSH	0.33		0.46		0.46		2.46		0.64		0.85		2.79	

AF=altura final, LR= longitud de raíz, FA= área foliar, MSR=materia seca de raíz, MSPA=materia seca de parte aérea, MST= materia seca total y RRA= relación de materia seca raíz con respecto a materia seca de parte aérea. DMSH= diferencia mínima significativa honesta. Medias con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$), de acuerdo con comparaciones de medias de Tukey.

Cuadro 1A. Continuación.

GEN	AF		LR		FA		MSR		MSPA		MST		RRT	
L62	0.50	a	0.83	abc	0.49	abc	2.64	abcdefghijkl	0.86	cdefghijklm	0.90	defghijk	2.84	ab
L63	0.56	a	1.05	abc	0.63	abc	2.37	abcdefghijkl	0.71	cdefghijklmno	0.83	efghijk	2.84	ab
L64	0.52	a	0.70	abc	0.44	abc	1.27	fghijk	0.56	efghijklmno	0.64	fghijk	1.97	ab
L65	0.52	a	0.92	abc	0.43	abc	2.21	abcdefghijkl	0.78	cdefghijklm	0.90	defghijk	2.42	ab
L66	0.62	a	0.80	abc	0.46	abc	2.09	abcdefghijkl	0.82	cdefghijklm	0.95	defghij	2.21	ab
L67	0.56	a	0.91	abc	0.48	abc	0.21	jk	0.09	o	0.10	k	1.93	ab
L68	0.49	a	0.79	abc	0.52	abc	3.08	abcdefghi	0.70	cdefghijklmno	0.85	efghijk	3.63	ab
L69	0.50	a	0.94	abc	0.49	abc	3.13	abcdefghi	0.85	cdefghijklm	1.00	defghi	3.01	ab
L72	0.67	a	0.91	abc	0.50	abc	3.53	abcdefg	1.30	bc	1.51	cde	2.22	ab
L73	0.51	a	0.81	abc	0.56	abc	3.40	abcdefgh	1.09	bcdefg	1.30	defg	2.60	ab
L74	0.55	a	0.87	abc	0.46	abc	3.25	abcdefgh	1.05	cdefgh	1.21	defgh	2.67	ab
L75	0.67	a	0.98	abc	0.63	abc	3.06	abcdefghi	0.99	cdefghij	1.15	defghi	2.57	ab
L76-H	0.44	a	0.65	c	0.20	c	1.35	defghijk	0.49	fghijklmno	0.46	ghijk	2.02	ab
L78	0.55	a	0.78	abc	0.45	abc	2.77	abcdefghi	1.10	bcdef	1.25	defgh	2.14	ab
L80	0.51	a	0.82	abc	0.43	abc	2.62	abcdefghijkl	0.88	cdefghijklm	1.02	defghi	2.59	ab
L85	0.56	a	1.01	abc	0.46	abc	3.55	abcdef	0.97	cdefghijk	1.09	defghi	3.44	ab
L86	0.51	a	0.69	abc	0.43	abc	2.91	abcdefghi	0.78	cdefghijklm	0.88	defghijk	3.17	ab
L88	0.54	a	0.87	abc	0.50	abc	2.04	abcdefghijkl	0.53	efghijklmno	0.62	fghijk	3.11	ab
L90	0.52	a	0.79	abc	0.52	abc	2.33	abcdefghijkl	0.77	cdefghijklm	0.92	defghijk	2.51	ab
L91	0.53	a	0.71	abc	0.52	abc	3.15	abcdefghi	0.95	cdefghijk	1.14	defghi	2.78	ab
L92D	0.50	a	0.98	abc	0.36	abc	2.79	abcdefghi	0.87	cdefghijklm	1.04	defghi	2.75	ab
DMSH	0.33		0.46		0.46		2.46		0.64		0.85		2.79	

AF=altura final, LR= longitud de raíz, FA= área foliar, MSR=materia seca de raíz, MSPA=materia seca de parte aérea, MST= materia seca total y RRA= relación de materia seca raíz con respecto a materia seca de parte aérea. DMSH= diferencia mínima significativa honesta. Medias con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$), de acuerdo con comparaciones de medias de Tukey.

Cuadro 1A. Continuación.

GEN	AF		LR		FA		MSR		MSPA		MST		RRT	
RF1	0.48	a	0.77	abc	0.68	ab	1.63	abcdefghijk	0.46	hijklmno	0.56	fghijk	2.75	ab
RF12	0.40	a	0.73	abc	0.46	abc	1.94	abcdefghijk	0.50	fghijklmno	0.61	fghijk	3.07	ab
RF38	0.50	a	0.81	abc	0.56	abc	3.95	a	0.88	cdefghijklm	1.09	defghi	3.74	ab
RF41	0.52	a	0.93	abc	0.52	abc	1.25	fghijk	0.34	klmno	0.41	hijk	3.14	ab
RF46	0.56	a	1.07	abc	0.51	abc	1.94	abcdefghijk	0.60	defghijklmno	0.70	efghijk	2.74	ab
RF81	0.54	a	0.95	abc	0.49	abc	3.91	ab	1.20	bcd	1.41	cdef	2.78	ab
SS2	0.55	a	0.82	abc	0.52	abc	3.89	abc	1.02	cdefghi	1.73	bcd	2.66	ab
SS5	0.50	a	0.76	abc	0.53	abc	1.58	abcdefghijk	0.50	fghijklmno	0.62	fghijk	2.58	ab
MERM	0.57	a	0.88	abc	0.48	abc	2.00	abcdefghijk	0.55	efghijklmno	0.67	efghijk	2.97	ab
DMSH	0.33		0.46		0.46		2.46		0.64		0.85		2.79	

AF=altura final, LR= longitud de raíz, FA= área foliar, MSR=materia seca de raíz, MSPA=materia seca de parte aérea, MST= materia seca total y RRA= relación de materia seca raíz con respecto a materia seca de parte aérea. DMSH= diferencia mínima significativa honesta. Medias con la misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente ($p \leq 0.05$), de acuerdo con comparaciones de medias de Tukey.

Cuadro 2A. Descripción de SNPs no identificados en el genoma de referencia de tomate de acuerdo a los caracteres evaluados (AF, LR, AF, MSR, MSPA, MST y $\beta 1$) en 89 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) del programa de mejoramiento genético de la Universidad Autónoma Chapingo.

Carácter	Cromosoma	p-value	Posición	Región localizada	Descripción
AF	6	3.16	851,176	NA	NA
D	2	3.04	4,917,117	NA	NA
D	2	3.13	4,917,108	NA	NA
D	6	3.05	19,497,130	NA	NA
D	6	3.05	4,121,223	NA	NA
D	6	3.18	4,121,198	NA	NA
D	6	3.14	4,121,157	NA	NA
D	6	3.27	49,313,365	NA	NA
D	7	3.11	9,915,010	NA	NA
D	7	3.23	9,914,946	NA	NA
FA	3	3.25	44,030,028	NA	NA
FA	3	3.24	20,235,286	NA	NA
LR	3	2.64	64,221,292	NA	NA
LR	4	2.50	42,491,746	NA	NA
LR	7	2.58	20,012,280	NA	NA
LR	8	2.56	15,929,131	NA	NA
LR	8	2.69	12,304,310	NA	NA
LR	8	2.75	17,497,106	NA	NA
LR	8	2.78	27,588,814	NA	NA
LR	8	3.20	46,713,919	NA	NA
LR	10	2.60	260,724	NA	NA
LR	10	2.68	351,658	NA	NA
LR	11	2.52	48,424,089	NA	NA
MSPA	5	6.02	60,276,840	NA	NA
MSPA, MST	5	6.99	60,476,768	NA	NA
MSPA, MST	8	7.45	60,851,879	NA	NA
MSPA, MST	8	7.57	60,851,983	NA	NA
MSPA, MST	9	6.31	24,888,712	NA	NA
MSPA, MST	12	6.44	11,722,856	NA	NA
MSPA, MST	1	6.17	13,909,334	NA	NA
MSPA, MST	1	6.47	61,682,652	NA	NA
MSPA, MST	1	6.52	53,699,283	NA	NA
MSPA, MST	1	7.46	47,919,270	NA	NA
MSPA, MST	1	7.86	25,999,930	NA	NA
MSPA, MST	1	7.89	8,498,256	NA	NA
MSPA, MST	1	8.08	15,227,619	NA	NA

Cromosoma y p-value obtenidos de TASSEL v5.2.60 analizados bajo el modelo lineal general, posición del SNP de acuerdo a la gráfica de Manhattan.