



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

ASOCIACIÓN GENÓMICA Y EXPRESIÓN DE GENES DE TOLERANCIA A SALINIDAD EN *Solanum lycopersicum* L.

TESIS

**Que como requisito parcial para
obtener el grado de:**

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

ALMA AURORA DEANDA TOVAR

Bajo la dirección del Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez



Chapingo, Estado de México, junio de 2025



ASOCIACIÓN GENÓMICA Y EXPRESIÓN DE GENES DE TOLERANCIA A SALINIDAD EN *Solanum lycopersicum* L.

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

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR



DR. JUAN ENRIQUE RODRÍGUEZ PÉREZ

ASESOR



DR. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS

ASESOR



DRA. MARIA TERESA BERYL COLINAS Y LEÓN

ASESOR



DR. PAULINO PÉREZ RODRÍGUEZ

LECTOR EXTERNO



DR. AMALIO SANTACRUZ VARELA

Chapingo, México, junio 2025.

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	ix
DEDICATORIA.....	xii
AGRADECIMIENTOS	xiii
DATOS BIOGRÁFICOS	xiv
RESUMEN GENERAL	15
GENERAL ABSTRACT	16
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	17
1.1 Literatura citada.....	20
CAPÍTULO 2. Tomato Lines Tolerant to Sodium Chloride at Early Growth Stages	23
Abstract.....	23
1. Introduction.....	23
2. Materials and Methods.....	24
2.1. NaCl tolerance at germination stage.....	25
2.2. NaCl tolerance at the seedling stage	25
2.3. Statistical analysis	26
3. Results and discussion.....	26
3.1. Salinity tolerance at germination stage	26
3.2. Salinity tolerance at seedling stage.....	31
4. Conclusions.....	37
References.....	38
CAPÍTULO 3. ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS CON LA	

TOLERANCIA A CLORURO DE SODIO EN GERMINACIÓN Y PLÁNTULA DE TOMATE	42
Resumen	42
3.1 Introducción	42
3.2 Materiales y métodos.....	45
3.2.1 Evaluación fenotípica	45
3.2.2 Análisis estadísticos de la evaluación fenotípica	46
3.2.3 Extracción de ADN, genotipado y determinación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, Single Polymorfism Nucleotide)	46
3.2.4 Análisis de asociación genómica (GWAS)	47
3.2.5 Identificación de genes candidatos	48
3.3 Resultados y discusión	48
3.3.1 Evaluación fenotípica	48
3.3.2 Evaluación genotípica	50
3.3.3 Análisis de asociación genómica para tolerancia a cloruro de sodio en germinación.....	51
3.3.4 Análisis de asociación genómica para tolerancia a salinidad en plántula	56
3.4 Conclusiones	63
3.4 Literatura citada.....	64
Anexo	71
CAPÍTULO 4. EXPRESIÓN DE GENES DE TOLERANCIA A CLORURO DE SODIO EN CINCO GENOTIPOS DE TOMATE	73
Resumen	73
4.1 Introducción	73
4.2 Materiales y métodos.....	76

4.2.1 Ubicación	76
4.2.2 Genotipos evaluados.....	76
4.2.3 Concentraciones de NaCl.....	77
4.2.4 Unidad y diseño experimental	77
4.2.5 Extracción de ARN.....	77
4.2.6 Síntesis de ADNc por transcripción reversa.....	78
4.2.7 Expresión de genes de tolerancia a salinidad	78
4.2.8 Análisis estadístico.....	79
4.3 Resultados y discusión	80
4.4 Conclusión.....	81
4.5 Literatura citada.....	82
CAPÍTULO 5. DESEMPEÑO DE PLANTA ADULTA DE TOMATE ANTE CLORURO DE SODIO	85
Resumen	85
5.1 Introducción	86
5.2 Materiales y métodos.....	88
5.3 Resultados y discusión	92
5.4 Conclusiones	99
5.5 Referencias.....	100
CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN GENERAL.....	106
6.1 Literatura citada.....	109
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES GENERALES	113

LISTA DE CUADROS

Capítulo 2. Tomato Lines to Sodium Chloride at Early Growth Stages

Table 1. Eigenvectors of the discriminant variables DV1 and DV2 generated from indices of 93 experimental tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines during the germination stage.....	27
Table 2. Comparisons of NaCl concentration means for the traits evaluated in 93 tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines germinated under salinity and control conditions.	28
Table 3. Comparisons of means of the group $\times$ NaCl concentration interaction of 93 experimental tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines germinated under saline conditions. Comparisons are made within each group between control (0 mM NaCl) versus saline condition (80 mM NaCl)	29
Table 4. Comparisons of means of the concentration-by-genotype interaction nested in a group of experimental tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines selected from a set of 93 lines, germinated under salinity conditions. Comparisons are made within each genotype between control (0 mM NaCl) versus saline condition (80 mM NaCl).	29
Table 5. Eigenvector of the variables generated from indices of 88 experimental tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines at seedling stage.....	32
Table 6. Comparisons of concentration means for the traits evaluated in 88 seedlings of experimental tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines under salinity conditions.....	33
Table 7. Comparisons of group-by-concentration interaction means of 88 seedlings of tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines under salinity conditions. Comparisons are made within each group between control (0 mM NaCl) versus saline condition (150 mM NaCl).....	33
Table 8. Comparisons of means of tomato genotypes of Group 3 under two NaCl concentrations at seedling stage. Comparisons are made within each	

genotype between control (0 mM NaCl) versus saline condition (150 mM NaCl).....	34
---	----

Table 9. Clustering groups for tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) lines in salinity tolerance tests at germination and seedling stages.	36
---	----

Capítulo 3. Asociación de regiones genómicas con la tolerancia a cloruro de sodio en germinación y plántula de tomate

Cuadro 3.1 Heredabilidad en sentido amplio y varianza genotípica en cinco caracteres de líneas de tomate evaluadas en 80 mM de NaCl en germinación.....	49
--	----

Cuadro 3.2 Heredabilidad en sentido amplio y varianza genotípica en seis caracteres de líneas de tomate evaluadas en 150 mM de NaCl en etapa de plántula.....	49
--	----

Cuadro 3.3 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 93 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) evaluadas en 80 mM de NaCl en etapa de germinación para porcentaje de germinación (PG), longitud de plúmula (LP), longitud de radícula (LR), materia seca total (MST) e índice de velocidad de germinación (IVG).	54
--	----

Cuadro 3.4 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 88 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) evaluadas en 150 mM de NaCl en etapa de plántula para altura de planta (AP), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MSTo), longitud de raíz (LRa) y área foliar (AF).....	59
--	----

Cuadro A3.1 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 93 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) evaluadas en 80 mM de NaCl en etapa de germinación para porcentaje de germinación (PG), longitud de plúmula (LP), longitud de radícula (LR), materia seca total (MST) e índice de velocidad de germinación (IVG).	71
---	----

Cuadro A3.2 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 88 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) evaluadas en 150 mM de	
---	--

NaCl en etapa de plántula para altura de planta (AP), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MSTo), longitud de raíz (LRa) y área foliar (AF)	72
--	----

Capítulo 4. Expresión de genes de tolerancia a cloruro de sodio en cinco genotipos de tomate

Cuadro 4.1 Iniciadores utilizados en la expresión genes de tolerancia a salinidad en tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	78
Cuadro 4.2 Comparaciones múltiples de rangos para expresión de genes de tolerancia a salinidad en cinco genotipos de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	80

Capítulo 5. Desempeño de planta adulta de tomate ante cloruro de sodio

Cuadro 5.1 Comparaciones de medias de concentración de NaCl para caracteres evaluados en cinco genotipos de tomate en condiciones de salinidad y testigo	92
Cuadro 5.2 Comparaciones de medias de Genotipo x Concentración para caracteres evaluados en cinco genotipos de tomate en condiciones de salinidad y testigo	95

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2. Tomato Lines to Sodium Chloride at Early Growth Stages

Figure 1. Tomato lines evaluated in a floating raft system	26
Figure 2. Hierarchical dendrogram generated from Gower's distance and Ward's minimum variance algorithm of NaCl tolerance indices of 93 experimental tomato lines evaluated under salt stress during germination	27
Figure 3. Graphical representation of discriminant variables of 93 tomato lines germinated under salinity conditions. DV1: discriminant variable 1, positive values are associated with a higher germination percentage, germination rate index and dry matter content, and vice versa; DV2: discriminant variable 2 (not significant).....	28
Figure 4. Tomato seeds at the end of germination test. (A) Control without NaCl; (B) 80 mM NaCl; (C) control treatment; (D) 80 mM NaCl. Saline conditions induce seed death and root necrosis in tomato seedlings and reduce seedling length.....	31
Figure 5. Hierarchical dendrogram generated from Gower's distance and Ward's minimum variance algorithm of NaCl tolerance indices of 88 experimental tomato lines evaluated under salt stress during initial seedling development.....	31
Figure 6. Graphical representation of discriminant variables of 88 tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) seedlings under saline conditions. DV1: discriminant variable 1, positive values are associated with higher aerial and total dry matter content, as well as greater leaf area and vice versa; DV2: discriminant variable 2, positive values are associated with greater root length and seedling height and vice versa.....	32
Figure 7. Root length and leaf area of seedlings tomato. (A) Control without NaCl; (B) susceptible line to 150 mM NaCl; (C) tolerant line to 150 mM NaCl. Saline conditions significantly reduce leaf area and root length in susceptible lines, whereas in tolerant lines, leaf area is affected, but root volume tends to increase	35

Capítulo 3. Asociación de regiones genómicas con la tolerancia a cloruro de sodio en germinación y plántula de tomate

Figura 3.1 A) Matriz de parentesco de 93 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) que muestra la cercanía genética entre ellas. **B)** Gráfico de decaimiento de la varianza explicada por los componentes principales. **C)** Diagrama de dispersión primer vector propio versus segundo vector propio. 50

Figura 3.2 Desequilibrio de ligamiento (LD) que representa la disminución promedio de LD en la distribución de marcadores SNPs de 93 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). En el eje Y se presentan los valores de R^2 , mientras que el eje X representa la distancia física en kilobases (kb). 51

Figura 3.3 A) Gráficos de Manhattan obtenidos con el Modelo Lineal Mixto para índice de velocidad de germinación (IVG), porcentaje de germinación (PG), longitud de plúmula (LP), longitud de radícula (LR) y materia seca total (MST) de plántulas de tomate expuestas a 80 mM de NaCl en etapa de germinación. La línea punteada gris oscuro indica el umbral de significancia. **B)** Gráficos cuantil-cuantil (QQ) basados en $-\log_{10}(p\text{-valor})$ observado versus $-\log_{10}(p\text{-valor})$ esperado 53

Figura 3.4 A) Gráficos de Manhattan obtenidos con el Modelo Lineal Mixto para altura de planta (AP), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MSTo), longitud de raíz (LRa) y área foliar (AF) de plántulas de tomate en condiciones de 150 mM de NaCl. La línea punteada gris oscuro indica el umbral de significancia. **B)** Gráficos cuantil-cuantil (QQ) basados en $-\log_{10}(p\text{-valor})$ observado versus $-\log_{10}(p\text{-valor})$ esperado 58

Capítulo 5. Desempeño de planta adulta de tomate ante cloruro de sodio

Figura 5.1 a) plántulas de tomate en sistema de balsa flotante a los 5 días después del trasplante (DDT) b) desarrollo de plántulas de tomate, c)

desarrollo de raíz de tomate, d) líneas de tomate en condiciones testigo (0 mM de NaCl) y salina (75 mM de NaCl) a los 75 DDT..... 91

Figura 5.2 Modelos de regresión logísticos ajustados para consumo acumulado de solución nutritiva (CAS) en cinco genotipos de tomate en condiciones salinas. y_1 : corresponde a la variable respuesta para cada genotipo en concentración 0 mM de NaCl, y_2 : corresponde a la variable respuesta para cada genotipo en concentración 75 mM de NaCl..... 98

DEDICATORIA

Con todo mi amor, profunda admiración y eterna gratitud dedico este logro a Dios, quien ha guiado cada uno de mis pasos; a mis padres Evelia y Vicente por su amor incondicional, ser mi guía en la incertidumbre y mi fuerza en cada paso; a mi compañero de vida Diego Ortiz por caminar a mi lado, por sus palabras de aliento y por su amor que todo lo transforma; a mis hermanas Nancy, Rosario e Itzel, por su complicidad, apoyo y amor inquebrantable; a mis sobrinos Erik y Carlos, cuya alegría ha sido inspiración constante; a mis abuelos Aurelia y Francisco y Luciana y Guadalupe, cuya sabiduría y enseñanzas viven en mi memoria como un susurro que orienta y a la familia Ortiz Torres, por acogerme con tanto amor. Gracias por ser mi refugio, mi impulso y mi razón para seguir cumpliendo mis metas personales y profesionales.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por permitirme continuar con mi formación académica y profesional, y al Instituto de Horticultura por las facilidades otorgadas.

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por el financiamiento proporcionado durante el periodo de esta investigación.

A los miembros de mi comité asesor, con admiración, respeto y con quienes ha sido un honor colaborar: Dr. Jaime Sahagún Castellanos, Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, Dra. María Teresa Beryl Colinas y León y Dr. Paulino Pérez Rodríguez, por su amistad, valioso apoyo, orientación y compromiso en la realización de esta investigación.

A Jorge Luis Sánchez Galicia por su apoyo en la realización de las fases experimentales.

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

A todos mis compañeros y amigos, por su apoyo durante este proceso y por su colaboración en la preparación, establecimiento y registro de datos experimentales: Elin, Francis, Ana Elizabeth, Eva, Nancy, Ismael, Efrén, Plácido, Goreti, Juan, Rommel, Jhusua, Juanita, Dino, Isis.

A todos y cada uno de los que participaron en este proyecto: ¡INFINITAS GRACIAS!

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre	Alma Aurora Deanda Tovar
Fecha de nacimiento	4 de septiembre de 1994
Lugar de nacimiento	Acámbaro, Guanajuato
CURP	DETA940904MGTNVL01
Cédula profesional	12569109

Desarrollo académico

Maestría	Maestría en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo.
Licenciatura	Licenciatura en Agronomía en Horticultura Protegida, Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN GENERAL

ASOCIACIÓN GENÓMICA Y EXPRESIÓN DE GENES DE TOLERANCIA A SALINIDAD EN *Solanum lycopersicum* L.

El cultivo de tomate, hortaliza de gran importancia a nivel mundial, es gravemente afectado por la salinidad, que causa disminuciones en su crecimiento y rendimiento; de ahí la relevancia de contar con variedades tolerantes. Los objetivos de esta investigación fueron: identificar líneas tolerantes a salinidad durante germinación y plántula, asociar regiones genómicas con la tolerancia al estrés salino, medir la expresión de siete genes de tolerancia a NaCl y evaluar el desempeño de plantas adultas ante el estrés salino. Se realizaron evaluaciones fenotípicas de 93 líneas de tomate en condiciones salinas en germinación (80 mM) y en plántula (150 mM). En germinación se identificaron 28 líneas tolerantes y 23 en plántula; de estas, solo siete fueron tolerantes en ambas pruebas. A partir de las 93 líneas, un estudio GBS (genotyping by sequencing) identificó 13,779 SNPs; y un análisis GWAS (Genome Wide Association Study) determinó que 20 SNPs se asociaron a 10 anotaciones funcionales en etapa de germinación; en tanto, en la evaluación de plántula se identificaron 24 SNPs asociados a 11 anotaciones funcionales. La mayoría de las 21 anotaciones identificadas están involucradas con mecanismos de tolerancia a estrés abiótico. La expresión de siete genes de tolerancia al estrés salino (125 mM) fue similar al testigo en cinco genotipos durante el estado de plántula. En planta adulta, se evaluaron cinco genotipos con 75 mM de NaCl durante 107 días en sistema de balsa flotante, donde el peso de fruto disminuyó 45 % respecto al testigo; en contraste, el volumen de raíz incrementó 25 %, lo que identifica a este carácter como un mecanismo adaptativo a este tipo de estrés, por lo que podría emplearse como un criterio de selección dentro del mejoramiento genético de este cultivo. Los mecanismos de tolerancia a salinidad son diferentes en las tres etapas fenológicas estudiadas.

Palabras clave: cloruro de sodio, germinación, plántula, planta adulta, GWAS

GENERAL ABSTRACT

GENOMIC ASSOCIATION AND EXPRESSION OF SALINITY TOLERANCE GENES IN *Solanum lycopersicum* L.

Tomato, a vegetable of great importance worldwide, is seriously affected by salinity, which causes decrements in its growth and yield; hence the importance of developing tolerant varieties. The objectives of this research were: to identify salinity-tolerant lines during germination and seedling stage, to associate genomic regions with salt stress tolerance, to measure the expression of seven NaCl tolerance genes, and to evaluate the performance of adult plants under salt stress. Phenotypic evaluations of 93 tomato lines were conducted under saline conditions during germination (80 mM) and seedling stage (150 mM). Twenty-eight tolerant lines were identified during germination and 23 during seedling stage; of these, only seven were tolerant in both stages. From the 93 lines, a GBS (genotyping by sequencing) study identified 13,779 SNPs, and with a GWAS (Genome Wide Association Study) analysis determined that 20 SNPs were associated with 10 functional annotations in the germination; meanwhile, in the seedling stage evaluation, 24 SNPs were associated with 11 functional annotations. Most of the 21 annotations identified are involved in abiotic stress tolerance mechanisms. The expression of seven salt stress tolerance genes (125 mM) was similar to the control in five genotypes during the seedling stage. In adult plants, five genotypes were evaluated with 75 mM NaCl for 107 days in a floating raft system, where fruit weight decreased 45% compared to the control; in contrast, root volume increased 25%, identifying this trait as an adaptive mechanism to saline stress and could therefore be used as a selection criterion in breeding of this crop. The salinity tolerance mechanisms are different in the three phenological stages studied.

Keywords: sodium chloride, germination, seedling stage, adult plants, GWAS

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantas están expuestas a factores bióticos y abióticos que pueden afectar drásticamente el rendimiento y calidad de los cultivos, lo que genera considerables pérdidas económicas (Kamran et al., 2025).

La salinidad es uno de los estreses abióticos más importantes en todo el mundo; afecta el 20 % de la tierra cultivada y 33 % de superficie agrícola de riego (Hopmans et al., 2021), es originada por la acumulación de sales, principalmente sulfatos y cloruros; sin embargo, el cloruro de sodio es la sal más soluble y abundante (Munns & Tester, 2008). Esta condición reduce el rendimiento de los cultivos en aproximadamente 20 % (Alkharabsheh et al., 2021). Además, el área afectada por sales está en constante aumento debido al cambio climático, la agricultura intensiva, el drenaje deficiente de las tierras cultivadas y el agua de riego contaminada o de baja calidad (Rajabi Dehnavi et al., 2020).

El tomate es la segunda hortaliza de mayor importancia a nivel global, está ampliamente adaptado a regiones templadas y tropicales (Gatahi, 2020) y tiene alto valor económico y nutricional (Kim et al., 2021). Cada año, a nivel mundial, se siembran alrededor de 5 millones de hectáreas con producción aproximada de 189 millones de toneladas (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2022). Debido a la amplia distribución del cultivo, su establecimiento ocurre en condiciones salinas (Sadder et al., 2025).

La condición salina impacta significativamente al tomate en todas sus etapas fenológicas al generar estrés osmótico, toxicidad iónica y daño oxidativo que altera las funciones celulares (Mohapatra et al., 2023). Durante la germinación, considerada la etapa más susceptible, disminuyen tanto el porcentaje como la velocidad de germinación (Ahmed et al., 2024). En plántula, reduce la altura, longitud de raíz y área foliar (de Oliveira & de Oliveira, 2023). Durante la etapa reproductiva, afecta el desarrollo floral, el número de flores y frutos por racimo y tamaño de frutos (Ghanem et al., 2009); lo que impacta severamente en el rendimiento (Zhang et al., 2016).

En la tolerancia al estrés salino, las plantas activan una serie de mecanismos fisiológicos, morfológicos y genes específicos que favorecen su supervivencia y productividad (Isayenkov & Maathuis, 2019; Shu et al., 2022). La tolerancia a salinidad está gobernada por múltiples genes cuantitativos, lo que la convierte en un rasgo complejo (Yuan et al., 2022). En este contexto, conjuntar múltiples genes en una sola variedad es una tarea complicada (Liu et al., 2023). Por ello, es fundamental desarrollar estrategias que permitan identificar genes asociados con los mecanismos de tolerancia y caracterizar el comportamiento de los genotipos bajo condiciones salinas (Singh et al., 2024).

En el mejoramiento genético, para identificar genotipos con mayor capacidad de adaptación al estrés salino se requiere de evaluaciones fenotípicas que generalmente son destructivas (Liu et al., 2023). Adicionalmente, el uso de la selección asistida por marcadores, aplicada generalmente en las primeras etapas del mejoramiento, ha demostrado acelerar y mejorar la eficiencia en el desarrollo de variedades tolerantes (Vinod et al., 2013).

Herramientas genómicas como los estudios GBS (genotyping by sequencing) y GWAS (Genome Wide Association Study) son fundamentales en el mejoramiento genético orientado al desarrollo de variedades tolerantes (Liu et al., 2023); permiten la identificación y selección de loci asociados a genes de efectos pequeños vinculados a rasgos deseables (Huang, 2024); por ejemplo, la tolerancia a salinidad; además de permitir la exploración de la diversidad genética (Holland & Piepho, 2024).

Existen programas de mejoramiento genético en cultivos como arroz, trigo y mostaza que han logrado desarrollar variedades tolerantes a salinidad al combinar métodos de mejoramiento genético convencional y herramientas como la selección asistida con marcadores (Gilliham et al., 2016). A pesar de que la tolerancia a la salinidad implica la participación de múltiples procesos fisiológicos y genes, estos programas han logrado identificar y combinar variantes genéticas que, en conjunto, confieren mejor capacidad de respuesta ante el estrés abiótico (Battenfield et al., 2018; Gilliham et al., 2016).

Los objetivos de la presente investigación fueron: identificar líneas tolerantes a salinidad durante las etapas de germinación y desarrollo de plántula, asociar regiones genómicas con la tolerancia al estrés salino, medir la expresión de siete genes de tolerancia a sales y evaluar el desempeño de plantas adultas en condiciones salinas, con el fin de desarrollar estrategias eficientes para el desarrollo de variedades tolerantes al estrés salino. Para lo cual, se realizaron cuatro experimentos independientes en las tres etapas fenológicas del cultivo, con diferentes concentraciones de NaCl.

1.1 Literatura citada

- Ahmed, A. M., Wais, A. H., Ditta, A., Islam, M. R., Chowdhury, M. K., Pramanik, M. H., Ismaan, H. N., Soufan, W., El Sabah, A. & Islam, M. S. (2024). seed germination and early seedling growth of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) genotypes under salinity stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 33(3), 3019-3032. <https://doi.org/10.15244/pjoes/177180>
- Alkharabsheh, H. M., Seleiman, M. F., Hewedy, O. A., Battaglia, M. L., Jalal, R. S., Alhammad, B. A., Schillaci, C., Ali, N., & Al-Doss, A. (2021). Field crop responses and management strategies to mitigate soil salinity in modern agriculture: a review. *Agronomy*, 11(11), Article 2299. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112299>
- Battenfield, S. D., Sheridan, J. L., Silva, L. D., Miclaus, K. J., Dreisigacker, S., Wolfinger, R. D., Peña, R. J., Singh, R. P., Jackson, E. W., Fritz, A. K., Guzmán, C., & Poland, J. A. (2018). Breeding-assisted genomics: applying meta-GWAS for milling and baking quality in CIMMYT wheat breeding program. *PLOS One*, 13(11), Article e0204757. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204757>
- de Oliveira, L. B., & de Oliveira, L. B. (2023). Effects of water salinization on tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 10(2), 15–21. <https://doi.org/10.22161/ijaers.102.2>
- FAO. (2022) *The state of food and agriculture 2022. Leveraging automation in agriculture for transforming Agrifood Systems*; FAO.
- Gatahi, D. M. (2020). Challenges and opportunities in tomato production chain and sustainable standards. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 7(3), 235-262. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.300818.361>
- Ghanem, M. E., van Elteren, J., Albacete, A., Quinet, M., Martínez-Andújar, C., Kinet, J. M., & Lutts, S. (2009). Impact of salinity on early reproductive physiology of tomato (*Solanum lycopersicum*) in relation to a heterogeneous distribution of toxic ions in flower organs. *Functional Plant Biology*, 36(2), 125-136. <https://doi.org/10.1071/FP08256>
- Gilliham, M., Able, J. A., & Roy, S. J. (2016). Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. *The Plant Journal*, 90(5), 898-917. <https://doi.org/10.1111/tpj.13456>
- Holland, J. B., & Piepho, H. P. (2024). Don't BLUP twice. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 14(12), Article jkae250. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkae250>

- Hopmans, J. W., Qureshi, A. S., Kisekka, I., Munns, R., Grattan, S. R., Rengasamy, P., Ben-Gal, A., Assouline, S., Javaux, M., Minhas, P. S., Raats, P. A. C., Skaggs, T. H., Wang, G., De Jong van Lier, Q., Jiao, H., Lavado, R. S., Lazarovitch, N., Li, B., & Taleisnik, E. (2021). Chapter one- Critical knowledge gaps and research priorities in global soil salinity. *Advances in Agronomy*, 169, 1–191. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2021.03.001>
- Huang, W. (2024). The current situation and future of using GWAS strategies to accelerate the improvement of crop stress resistance traits. *Molecular Plant Breeding*, 15, 52-62. <https://doi.org/10.5376/mpb.2024.15.0007>
- Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. M. (2019). Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 80. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>
- Kamran, M., Burdiak, P., & Karpiński, S. (2025). Crosstalk between abiotic and biotic stresses responses and the role of chloroplast retrograde signaling in the cross-tolerance phenomena in plants. *Cells*, 14(3), Article 176. <https://doi.org/10.3390/cells14030176>
- Kim, M., Nguyen, T. T. P., Ahn, J. H. Kim, G. J., & Sim, S. C. (2021). Genome-wide association study identifies QTL for eight fruit traits in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Horticulture Research*, 8, Article 203. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00638-4>
- Liu, Y., Wang, F., Zhang, A., Chen, Z., Luo, X., Kong, D., Zhang, F., Yu, X., Liu, G., & Luo, L. (2023). Improvement of salinity tolerance in water-saving and drought-resistance rice (WDR). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), Article 5444. <https://doi.org/10.3390/ijms24065444>
- Mohapatra, M. D., Poosapati, S., Sahoo, R. K., & Swain, D. M. (2023). Helicase: A genetic tool for providing stress tolerance in plants. *Plant Stress*, 9, Article 100171. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100171>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Rajabi Dehnavi, A., Zahedi, M., Ludwiczak, A., Cardenas Perez, S., & Piernik, A. (2020). Effect of Salinity on Seed Germination and Seedling Development of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Genotypes. *Agronomy*, 10(6), Article 859. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060859>
- Sadder, M. T., Ali, A. A. M., Alsadon, A. A., & Wahb-Allah, M. A. (2025). Long-term salinity-responsive transcriptome in advanced breeding lines of tomato. *Plants*, 14(1), Article 100. <https://doi.org/10.3390/plants14010100>
- Shu, P., Li, Y., Li, Z., Sheng, J., & Shen, L. (2022). *SIMAPK3* enhances tolerance to salt stress in tomato plants by scavenging ROS accumulation and up

regulating the expression of ethylene signaling related genes. *Environmental and Experimental Botany*, 193, Article 104698. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104698>

- Singh, A. K., Pal, P., Sahoo, U. K., Sharma, L., Pandey, B., Prakash, A., Sarangi, P. K., Prus, P., Paşcalău, R., & Imbrea, F. (2024). Enhancing crop resilience: The role of plant genetics, transcription factors, and next-generation sequencing in addressing salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23), Article 12537. <https://doi.org/10.3390/ijms252312537>
- Vinod, K. K., Krishnan, S. G., Babu, N. N., Nagarajan, M., & Singh, A. K. (2013). Improving salt tolerance in rice: looking beyond the conventional. In Ahmad, P., Azooz, M.M., & Prasad, M.N.V. (Eds). *Salt stress in plants* (pp 219-260). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6108-1_10
- Yuan, L., Zhang, L., Wei, X., Wang, R., Li, N., Chen, G., Fan, F., Huang, S., Li, J., & Li, S. (2022). Quantitative trait locus mapping of salt tolerance in wild rice *Oryza longistaminata*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), Article 2379. <https://doi.org/10.3390/ijms23042379>
- Zhang, P., Senge, M., & Dai, Y. (2016). Effects of salinity stress on growth, yield, fruit quality and water use efficiency of tomato under hydroponics system. *Reviews in Agricultural Science*, 4, 46-55. <https://doi.org/10.7831/ras.4.46>



Tomato Lines Tolerant to Sodium Chloride at Early Growth Stages

Alma Aurora Deanda-Tovar ¹, Juan Enrique Rodríguez-Pérez ¹, * , Jaime Sahagún-Castellanos ¹,
María Teresa Beryl Colinas-y-León ¹ , Paulino Pérez-Rodríguez ² and Ana Elizabeth Paredes-Cervantes ¹

¹ Departamento de Fitotecnia, Instituto de Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 carretera México- Texcoco, Chapingo 56230, Estado de México, México; almadeanda2a@gmail.com (A.A.D.-T.); erodriguezx@yahoo.com.mx (J.E.R.-P.); jsahagunc@yahoo.com.mx (J.S.-C.); lozcol@gmail.com (M.T.B.C.yL.); paredescerv29@gmail.com (A.E.P.-C.)

Colegio de Postgraduados, Montecillos 56230, Estado de México, México; perpdgo@gmail.com (P.P.-R)

* Correspondence: erodriguezx@yahoo.com.mx (J.E.R.-P.)

Abstract: High concentrations of sodium chloride (NaCl) in soil and water are increasingly common conditions in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) production that impair the development and yield of this crop, generating the need for tolerant varieties. This research aimed to identify tomato lines tolerant to salinity during germination and early seedling development. A standard germination test was carried out in which 93 lines were evaluated under conditions of 0 and 80 mM NaCl for 12 days in a germination chamber with a temperature of 28 ± 1 °C and relative humidity of $80 \pm 5\%$. At the seedling stage, 88 lines were evaluated under conditions of 0 and 150 mM NaCl in a floating raft system. During germination, saline conditions decreased germination percentage (37%), plumule (43%) and radicle (47%) length, dry matter (44%) and germination rate index (70%). At the seedling stage, NaCl decreased ($p \leq 0.05$) plant height (44%) and leaf area (50%), without modifying root, aerial and total dry matter or root length. Twenty-eight tolerant lines were identified at germination and twenty-three at the seedling stage, seven of which were tolerant at both stages. This implies that salinity tolerance mechanisms differ in the developmental stages studied and makes it possible to combine these mechanisms to prolong tolerance during plant development.

Keywords: salinity; germination; seedling; tolerance; *Solanum lycopersicum* L.



Academic Editors: Yue Wu and Changxia Li

Received: 7 April 2025

Revised: 8 May 2025

Accepted: 12 May 2025

Published: 14 May 2025

Citation: Deanda-Tovar, A.A.;

Rodríguez-Pérez, J.E.;

Sahagún-Castellanos, J.;

Colinas-y-León, M.T.B.;

Pérez-Rodríguez, P.;

Paredes-Cervantes, A.E. Tomato Lines

Tolerant to Sodium Chloride at Early

Growth Stages. *Horticulturae* **2025**, *11*,

532. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050532>

Copyright: © 2025 by the authors.

Licensee MDPI, Basel, Switzerland.

This article is an open access article

distributed under the terms and

conditions of the Creative Commons

Attribution (CC BY) license

(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Salinity is one of the major abiotic factors affecting agriculture worldwide and threatening food security [1], as it is estimated that 20% of cultivated land and 33% of irrigated agricultural area are affected by this condition [2,3]; this causes reductions in agricultural crop yields between 50 and 80% [4,5], with losses of up to USD 27.3 billion annually [6]. In addition, it is estimated that by 2050, half of all crops will be affected by salinity [2,7]. Mexico also faces this problem due to the fact that of the country's 9.8 million hectares of irrigated agricultural land, 34.9% are slightly affected by excess sodium and 25.1% by salinity [8]; this percentage is constantly increasing due to inadequate agricultural practices and use of poor-quality water.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most consumed vegetables worldwide, with a harvested area of 4,917,735 hectares in 2022 [9]. Mexico is the world's eighth largest producer and leading exporter of this vegetable [10]. The widespread cultivation of this crop implies that its establishment can occur under salinity stress conditions. Although

the crop is considered moderately tolerant to salts, up to $6 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ [11], it shows disorders when grown in highly saline soils, with greater damage during germination and, to a lesser extent, during the seedling stage [12]. Saline conditions delay and reduce the germination of tomato seeds by altering their physiological and biochemical activity and by decreasing the water potential gradient and its surrounding environment [13,14]; saline conditions also reduce the germination rate due to the deterioration of enzymatic activity caused by osmotic stress or ionic toxicity caused by NaCl [15,16].

At the seedling stage, salinity reduces the height, growth and development of the stem, root and leaf area and, consequently, biomass accumulation [17,18]. High Na^+ and Cl^- concentrations in the soil solution generate osmotic stress, ionic imbalance, water deficit and oxidative stress in the plant [19]. Thus, as the concentration of salts and the stress period increase, the accumulation of Na^+ and Cl^- ions increases, which generates toxicity and inhibits the primary metabolism by damaging the photosynthetic machinery and accumulating excess reactive oxygen species (ROS) [20]. The high accumulation of ROS increases the permeability of the cell membrane due to the degradation of its functional and structural proteins [21]. In the root zone, osmotic stress reduces the ability to absorb water and nutrients, which decreases leaf and shoot growth [22].

Plants also have the ability to activate gene families involved in different metabolic, physiological and biochemical processes to tolerate salinity stress [23]. Among them, there are those that regulate stomatal closure, which prevents water loss and increase and maintains ionic homeostasis [24]; those that prevent Na^+ accumulation in roots [25]; and those that increase antioxidant activity, biomass accumulation and secondary metabolite accumulation [26]. These metabolites have the functions of preserving enzymatic activity, stabilizing structural proteins and scavenging reactive oxygen species to mitigate oxidative damage and enhance the tolerance response [22,27].

All of them together maintain root development in the face of salinity stress for the supply of nutrients. Since there is a genetic control of these processes involved in salt tolerance, some tomato breeding programs focus on the selection of these genes to obtain new tolerant varieties [28], particularly during the initial growth stages (germination, emergence and seedling), since the greatest vulnerability of tomato plants to saline conditions occurs during these stages in which the ability to adapt to salt stress is crucial to maintain crop productivity [29].

This research aimed to identify and select experimental tomato lines that are salinity tolerant at the germination and seedling stages and to design a strategy to evaluate a large number of genotypes using short-term tests and identify their degree of tolerance to salt stress in the early stages of development.

2. Materials and Methods

The genotypes evaluated were 93 homozygous lines ($\text{F}_{17}\text{--}\text{F}_{19}$) at germination and 88 lines at the seedling stage. The difference in the number of genotypes evaluated in the tests was due to seed availability. The lines were generated by the greenhouse tomato breeding program of the Universidad Autónoma Chapingo (UACH) and were obtained from balanced composites of segregating populations derived from crosses between commercial hybrids. Some characteristics of these lines are presented in Table S1 (fruit type, color and growth habit).

Two salt tolerance tests were carried out, one during germination (in 2022) and one at the seedling stage (in 2020). The NaCl concentrations studied were chosen based on Seth et al. [30] for germination, 80 mM NaCl, and Ahmed et al. [23] for seedling, 150 mM NaCl. These concentrations allowed to differentiate between tolerant and susceptible lines, without lethal doses.

2.1. NaCl tolerance at germination stage

The experiment was carried out in June and July 2022 in the seed laboratory of the Plant Science Department of the Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Two standard germination tests were performed using saline treatment (80 mM NaCl) and a control. The saline solution was prepared with distilled and deionized water and 99.3% pure NaCl (High Purity®, Mexico city, Mexico).

The experimental unit (EU) was a 56 mm diameter Petri dish with 25 seeds. Filter paper was used as a substrate saturated with 2 mL of solution, either with distilled and deionized water or 80 mM NaCl, according to the corresponding treatment. The experimental design randomized complete blocks with two replicates in the case of the control and four replicates in the case of 80 mM NaCl. Under laboratory or greenhouse conditions, environmental variation tends to be considerably smaller, allowing for a more precise estimation of experimental error with a smaller number of replicates. In contrast, under stress conditions, this variation increases. Thus, the smaller number of replicates in the control setting does not compromise the statistical validity of the results.

The tests were carried out for twelve days in a germination chamber (Lab-Tech Inc.®, model D-7140, Hopkinton, MA, USA) with three days of darkness and nine days of artificial light. The temperature was maintained at 28 ± 1 °C and relative humidity at $80 \pm 5\%$. Three 1 mL irrigations were made with the corresponding solutions, according to the water needs of the seedlings.

Germinated seeds were counted daily. A seed was considered germinated when the radicle protruded. At the end of the test, the following were evaluated:

Germination percentage (GP, in %) with respect to the total number of seeds sown.

Germination rate index (GRI) with the formula proposed by Maguire [31]:

$$GRI = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{d_i},$$

where n is the number of counts made during the trial, x_i is the number of seeds germinated in count i minus the number of seeds germinated in count $i - 1$, and d_i is the number of days after sowing until count i .

Five seedlings were randomly selected from the EU, and the average plumule length (PL, in cm) and average radicle length (RL, in cm) were determined.

Seedlings from all the EU were dried to constant weight at 45 °C in an oven (Riossa®, model H-48, series 301007, Mexico city, Mexico). Subsequently, total dry matter (TDM, in mg) was determined on an analytical balance (Sartorius, practicum224-1S, 0029604782, Goettingen, Germany).

2.2. NaCl tolerance at the seedling stage

The evaluation was carried out from July to September 2020 under greenhouse conditions at the Colegio de Postgraduados, Montecillo campus (19°27′53″ N, 98°54′19″ W); temperatures inside the greenhouse ranged between 13.5 and 35 °C.

Eighty-eight experimental lines exposed during the seedling stage to 0 and 150 mM NaCl concentrations were evaluated. The lines were sown in 200-cavity polystyrene trays with peat foam (Oasis®, Columbus, OH, USA) as substrate. Transplanting was carried out 23 days after sowing in a floating raft system (Figure 1) under greenhouse conditions. Wooden containers measuring $2.4 \times 1.2 \times 0.2$ m and covered with geomembrane and with a capacity of 500 L of nutrient solution were used. The nutrient solution used was that of Cadahia [32] at 50%. The experimental unit consisted of 5 seedlings, with a planting density of 166.6 plants·m². One container constituted a replicate. Four days after transplanting (DAT), 150 mM NaCl was

added to the nutrient solution of three containers. Two other containers corresponded to the control without NaCl. A randomized complete block experimental design was used with three replicates at 150 mM concentration and two replicates at the control.



Figure 1. Tomato lines evaluated in a floating raft system.

Seedling height (SH, in cm) was measured on three EU seedlings.

The test ended at 14 DAT. The average root length (RL, in cm) was then evaluated in three EU seedlings, and from the five EU seedlings, aerial dry matter (ADM, in g) and root dry matter (RDM, in g) were determined, both dried for 96 h at 46 °C. Leaf area (LA, in cm²), for which digital photographs were captured, was subsequently determined using ImageJ software (v1.4.3.67; National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

2.3. Statistical analysis

The statistical analysis was similar in both tests. Initially, indices were obtained by the quotient of the response obtained in the saline condition divided by the average of the response obtained in the control. With the generated indices, a cluster analysis was carried out with Gower's [33] distance and Ward's [34] minimum variance algorithm. The cut-off height was determined by Hotelling's [35] T² statistics and the pseudo-F statistic [36].

To corroborate the sets obtained by the cluster analysis, a discriminant analysis was performed, and resubstitution and cross-validation tests were applied [36]. Finally, with the original data, analysis of variance and comparison of means were performed with Tukey's test, considering the generated groups as a source of variation and the genotypes nested in this factor.

The analysis was performed with SAS statistical package (version 9.4., Cary, NC, USA) with the procedures UNIVARIATE, MEANS, DISTANCE, CLUSTER, DISCRIM and GLM.

3. Results and discussion

3.1. Salinity tolerance at germination stage

The dendrogram generated by the cluster analysis obtained from Gower's distance and Ward's minimum variance algorithm is presented in Figure 2. Hotelling's T² statistic and the pseudo-F statistic indicated the formation of three groups with a cut-off height of 0.05 of semipartial r². The groups were made up of 25, 28 and 40 genotypes.

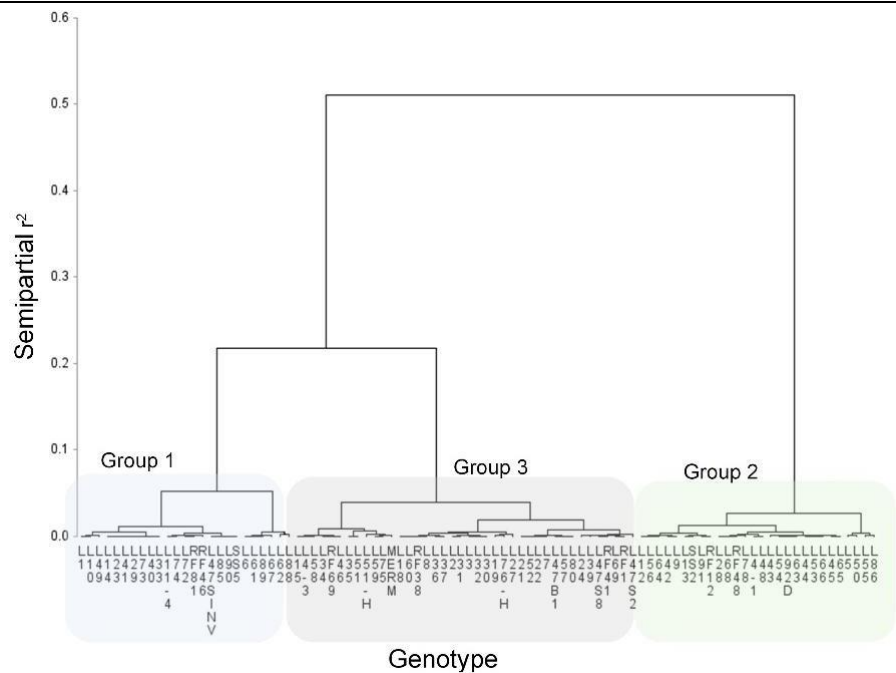


Figure 2. Hierarchical dendrogram generated from Gower’s distance and Ward’s minimum variance algorithm of NaCl tolerance indices of 93 experimental tomato lines evaluated under salt stress during germination.

The appropriateness of the achieved grouping was corroborated with a linear discriminant analysis, which indicated that the first discriminant variable (DV1), with an eigenvalue of 6.8, explained 97.4% of the variation in the data ($p \leq 0.0001$). The DV1 eigenvector indicated a greater relationship with germination percentage, germination rate index and total dry matter (Table 1); that is, lines with a high DV1 value identify lines with greater vigor during germination and vice versa. The second discriminant variable (DV2) described only 2.6% of the variation, which was not significant. Resubstitution and cross-validation tests showed adequate assignments in 90 of the 93 genotypes evaluated.

Table 1. Eigenvectors of the discriminant variables DV1 and DV2 generated from indices of 93 experimental tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines during the germination stage.

Variable	Eigenvectors		Discriminant functions	
	DV1	DV2	DV1	DV2
Total dry matter (TDM)	0.98	-0.12	1.56	-2.39
Germination percentage (GP)	0.96	0.25	0.37	2.24
Plumule length (PL)	0.77	0.21	-0.08	0.93
Radicle length (RL)	0.49	-0.22	-0.20	-0.24
Germination rate index (GRI)	0.96	0.05	1.09	-0.42

The graphical representation of the genotypes based on the two discriminant variables is presented in Figure 3. Group 2 had the highest tolerance to salt stress, showing the greatest seed vigor with the highest DV1 values, associated with the greatest development of GP, TDM, PL, RL and GRI. In contrast, Group 1 was the most susceptible to NaCl, with the lowest seed vigor, while Group 3 showed intermediate tolerance.

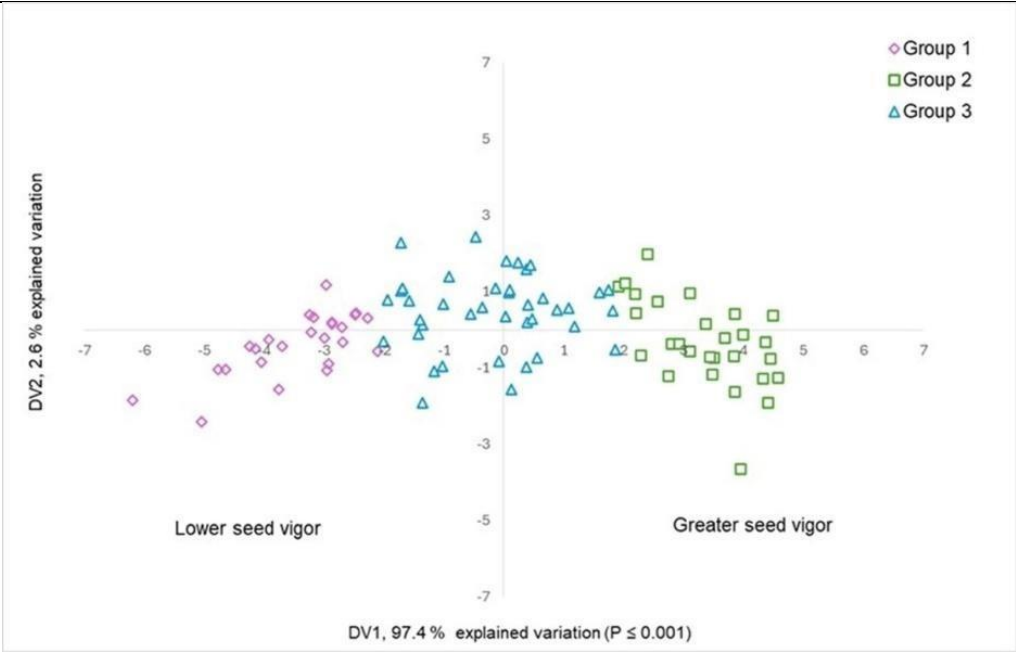


Figure 3. Graphical representation of discriminant variables of 93 tomato lines germinated under salinity conditions. DV1: discriminant variable 1, positive values are associated with a higher germination percentage, germination rate index and dry matter content, and vice versa; DV2: discriminant variable 2 (not significant).

Analyses of variance were performed for original traits where NaCl concentrations, the generated groups and the genotypes nested within groups were considered, along with the corresponding interactions. These analyses showed significance for all sources of variation in the evaluated traits, except for GP and TDM in the concentration × genotype (group) interaction. Coefficients of variation ranged between 20 and 25%, except for radicle length, which was 40% (Table S2).

The evaluated traits were diminished by more than 37% by salinity stress (Table 2). Similar results were reported by Fadhil et al. [37] in commercial cultivars under salinity conditions between 70 and 170 mM NaCl, where a negative association was detected between the increase in saline condition with the germination percentage and biomass accumulation. At 100 mM, the reductions in these two traits corresponded to 95 and 100%, whereas, in the present study, at 80 mM NaCl, they were 37 and 44%, respectively.

Table 2. Comparisons of NaCl concentration means for the traits evaluated in 93 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines germinated under salinity and control conditions.

NaCl (mM)	GP (%)		GRI		PL (cm)		RL (cm)		TDM (mg)	
0	80.62	a	6.84	a	3.40	a	1.08	a	0.028	a
80	50.87	b	2.04	b	1.94	b	0.58	b	0.015	b
% Reduction	37		70		43		47		44	
HSD	6.24		0.59		0.46		0.17		0.0029	

GP: germination percentage, GRI: germination rate index, PL: plumule length, RL: radicle length, TDM: total dry matter, % Reduction: percentage reduction from 0 to 80 mM NaCl concentration. HSD: honestly significant difference. Means with the same letter within columns do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

The evaluated lines showed reductions of less than 47% in seedling development (RL, PL and TDM) (Table 2); this contrasts with the reductions observed by Shanika and Seran [38] in the same variables and at the same NaCl concentration, which were greater than 50%. GRI was the most affected trait, being reduced by 70% over a 12-day period at

80 mM NaCl. This percentage was lower than that obtained in tomatoes native to Mexico (88%) germinated in 150 mM NaCl, although over a 20-day period [39]. At concentrations of 80 mM NaCl, the GRI reduction percentages are consistent with those observed in commercial varieties, in which they have been higher than 80% starting at 75 mM [40].

Comparisons of means of the group $\times$ NaCl concentration interaction (Table 3) indicated that in all groups the traits decreased ($p \leq 0.05$) under salt stress. However, Group 2 had greater tolerance, since it decreased the evaluated traits to a lesser extent, with appreciably smaller reductions than the other two groups; in the case of GP, PL, RL and TDM, they were less than 40%. Group 1, with the greatest susceptibility, had reduction percentages in the evaluated traits of between 57 and 84%. This is consistent with Figure 3, derived from the discriminant analysis previously performed.

Table 3. Comparisons of means of the group $\times$ NaCl concentration interaction of 93 experimental tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines germinated under saline conditions. Comparisons are made within each group between control (0 mM NaCl) versus saline condition (80 mM NaCl).

NaCl (mM)	GRO	GP (%)	GRI	PL (cm)	RL (cm)	TDM (mg)	
0	1	80.37	b	6.44	b	3.32	a
80	1	30.26	d	1.06	e	1.33	d
% Reduction		62	84	60	57	69	
0	2	86.37	a	7.85	a	3.40	a
80	2	75.07	b	3.38	c	2.52	b
% Reduction		13	57	26	31	14	
0	3	76.82	b	6.41	b	3.46	a
80	3	48.38	c	1.78	d	1.96	c
% Reduction		37	72	44	50	48	
HSD		3.05	0.17	0.13	0.07	0.0012	

GRO: group, % reduction: percentage reduction at 80 mM NaCl with respect to the control, GP: germination percentage, GRI: germination rate index, PL: plumule length, RL: radicle length, TDM: total dry matter, HSD: honestly significant difference. Means with the same letter within columns and group do not differ statistically (Tukey, $p \leq 0.05$).

The tolerant lines belonging to Group 2 (L4-1, L5, L9, L45 and L92D) showed no differences in GP, RL, PL and TDM ($p \leq 0.05$) between the saline condition (80 mM NaCl) and the control (Table 4). Previous research indicates that in various crops, including tomato, genotypes with salinity tolerance show minor reductions in these same traits [29,38,41,42].

Table 4. Comparisons of means of the concentration-by-genotype interaction nested in a group of experimental tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines selected from a set of 93 lines, germinated under salinity conditions. Comparisons are made within each genotype between control (0 mM NaCl) versus saline condition (80 mM NaCl).

NaCl (mM)	GEN	GRO	GP (%)	GRI	RL (cm)	PL (cm)	TDM (mg)
0	L4-1	2	96	a	10.2	a	1.34
80	L4-1	2	84	a	5.1	b	1.11
% Reduction			13	50	17	17	2
0	L45	2	94	a	8.0	a	0.90
80	L45	2	80	a	3.5	b	0.66
% Reduction			15	56	27	22	102
0	L5	2	100	a	9.7	a	0.84
80	L5	2	94	a	4.6	b	0.68

Table 4. Cont.

NaCl (mM)	GEN	GRO	GP (%)	GRI			RL (cm)		PL (cm)		TDM (mg)	
% Reduction			6		53		19		19		103	
0	L9	2	92	a	7.6	a	1.20	a	3.50	a	0.0328	a
80	L9	2	78	a	3.3	b	0.77	a	2.57	a	0.0240	a
% Reduction			15		57		36		27		27	
0	L92D	2	98	a	9.9	a	0.94	a	3.15	a	0.0214	a
80	L92D	2	91	a	4.1	b	0.54	a	2.16	a	0.0193	a
% Reduction			7		59		43		32		10	
0	L29	1	94	a	8.7	a	1.41	a	3.35	a	0.0403	a
80	L29	1	36	b	1.3	b	0.43	b	1.59	b	0.0126	b
% Reduction			62		84		70		53		69	
0	L33	1	88	a	6.5	a	1.16	a	3.24	a	0.0402	a
80	L33	1	38	b	1.4	b	0.42	a	1.56	b	0.0131	b
% Reduction			57		79		64		52		67	
0	L40	1	80	a	7.0	a	0.94	a	4.13	a	0.0256	a
80	L40	1	27	b	1.0	b	0.33	a	1.64	b	0.0086	b
% Reduction			66		86		65		60		66	
0	L41	1	98	a	7.1	a	1.22	a	3.44	a	0.0354	a
80	L41	1	38	b	1.2	b	0.55	a	1.28	b	0.0102	b
% Reduction			61		83		55		63		71	
0	L73	1	94	a	8.4	a	1.52	a	3.81	a	0.0416	a
80	L73	1	36	b	1.1	b	0.45	b	1.755	b	0.0124	b
% Reduction			62		87		70		54		70	
HSD			34		1.8		0.78		1.47		0.0133	

GEN: genotype, GRO: group, % reduction: percentage reduction when going from 0 to 80 mM NaCl concentration, GP: germination percentage, GRI: germination rate index, PL: plumule length, RL: radicle length, TDM: total dry matter, HSD: honestly significant difference. Means with the same letter within columns and genotype do not differ statistically (Tukey, $p \leq 0.05$).

At a concentration of 70 mM, two commercial varieties showed germination percentages of 65% [43], while the tolerant lines in the present study (80 mM NaCl) had germination percentages above 78%.

According to previous information, it was possible to identify 28 genotypes with better performance under salt stress (Table S3) than those reported in other studies [37,38,41,44,45]. In contrast, susceptible genotypes were found with diminished development under this condition (Figure 4) and were clearly outperformed by both the tolerant genotypes in this work and those from other studies [14,15,39,40,43]. This shows the usefulness of the methodology employed for the selection of NaCl tolerance during germination with a high number of genotypes.

The tolerance expressed by the genotypes during a 12-day period to the salt stress that occurred in this research must be associated with both osmotic stress tolerance and ionic tolerance. The former occurs in the initial periods of exposure to NaCl, which causes a decrease in the osmotic potential that prevents water uptake during seed germination [5,15,46,47]. In contrast, ionic stress occurs during prolonged periods of NaCl exposure, caused by the toxicity of Na^+ and Cl^- upon entering embryonic tissues, resulting in the alteration of cellular metabolism, protein synthesis and ATP synthesis [23,48–50], reasons why the germination process is considered to be the most sensitive in plant development [29,44,51]. Under this reasoning, the genotypes of Group 2, with greater tolerance during germination, must possess mechanisms of tolerance to both types of stress due to the prolonged period of the test. Group 3, with partial tolerance to NaCl, could possess one of these two mechanisms, suggesting that the tolerance gene complexes are different.

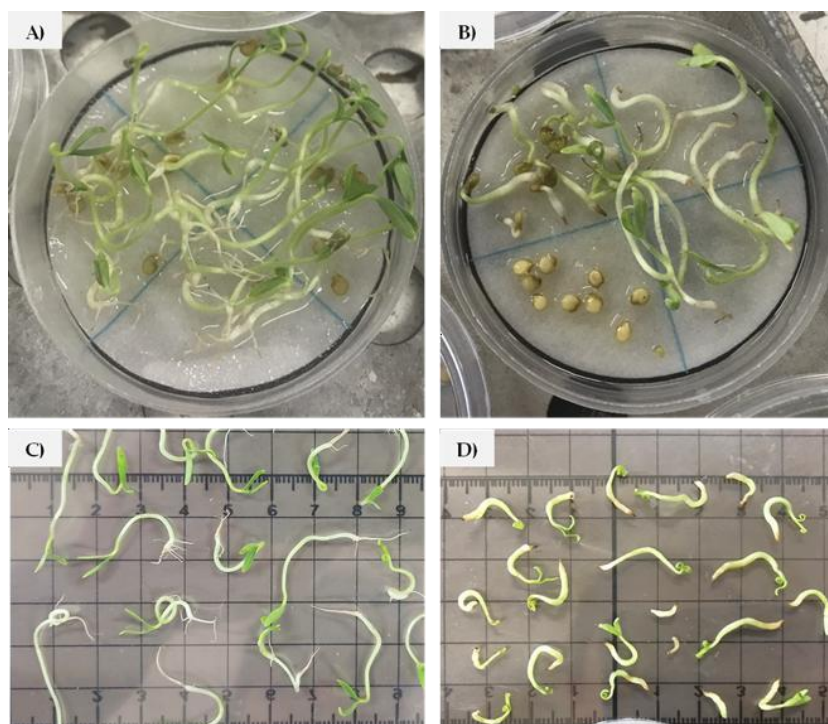


Figure 4. Tomato seeds at the end of germination test. (A) Control without NaCl; (B) 80 mM NaCl; (C) control treatment; (D) 80 mM NaCl. Saline conditions induce seed death and root necrosis in tomato seedlings and reduce seedling length.

3.2. Salinity tolerance at seedling stage

An index was calculated for each trait, which consisted of dividing the result of the saline condition by the average of the result in the absence of salt, with which multivariate analyses were performed. The dendrogram, generated with Gower's distance and Ward's minimum variance algorithm, is presented in Figure 5. Hotelling's T^2 statistic and the pseudo-F statistic indicated the formation of three groups with a cut-off height of 0.05 of semipartial r^2 .

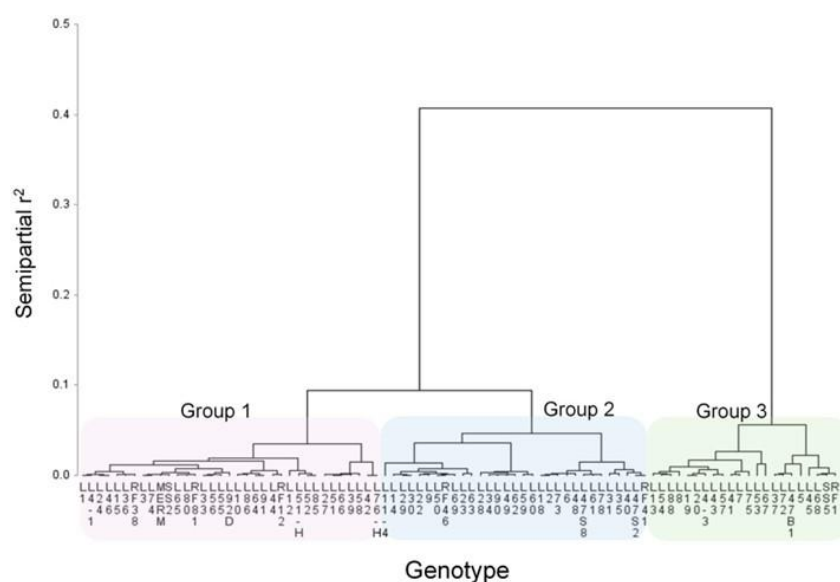


Figure 5. Hierarchical dendrogram generated from Gower's distance and Ward's minimum variance algorithm of NaCl tolerance indices of 88 experimental tomato lines evaluated under salt stress during initial seedling development.

A linear discriminant analysis was performed to corroborate the appropriateness of the grouping, which indicated that one discriminant variable (DV1), with an eigenvalue of 5.3, explained 97% of the variation in the data ($p \leq 0.0001$). The DV1 eigenvector showed a greater positive association with aerial dry matter accumulation, total dry matter and leaf area (Table 5); that is, lines with a high DV1 value indicate greater stem and leaf development. The cross-validation test showed adequate assignments in 80 of the 88 genotypes evaluated. Once the eight genotypes were reassigned, the three groups were made up of 36, 29 and 23 lines.

Table 5. Eigenvector of the variables generated from indices of 88 experimental tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines at seedling stage

Variable	Eigenvectors		Discriminant functions	
	VD1	VD2	VD1	VD2
Seedling height (SH)	0.28	0.62	0.36	0.74
Root length (RL)	0.07	0.23	-0.29	0.09
Root dry matter (RDM)	0.25	0.62	-0.07	0.93
Aerial dry matter (ADM)	0.97	-0.11	-1.76	1.83
Total dry matter (TDM)	0.98	-0.08	4.18	-2.30
Leaf area (LA)	0.62	0.31	0.02	0.05

The graphical representation of the genotype distribution based on discriminant variables DV1 and DV2 is presented in Figure 6. The Group 3 genotypes were the most tolerant to salt stress, showing higher DV1 values; that is, they had greater development of the aerial part and leaf area. In contrast, the Group 1 genotypes were susceptible, since they showed less development of the traits mentioned.

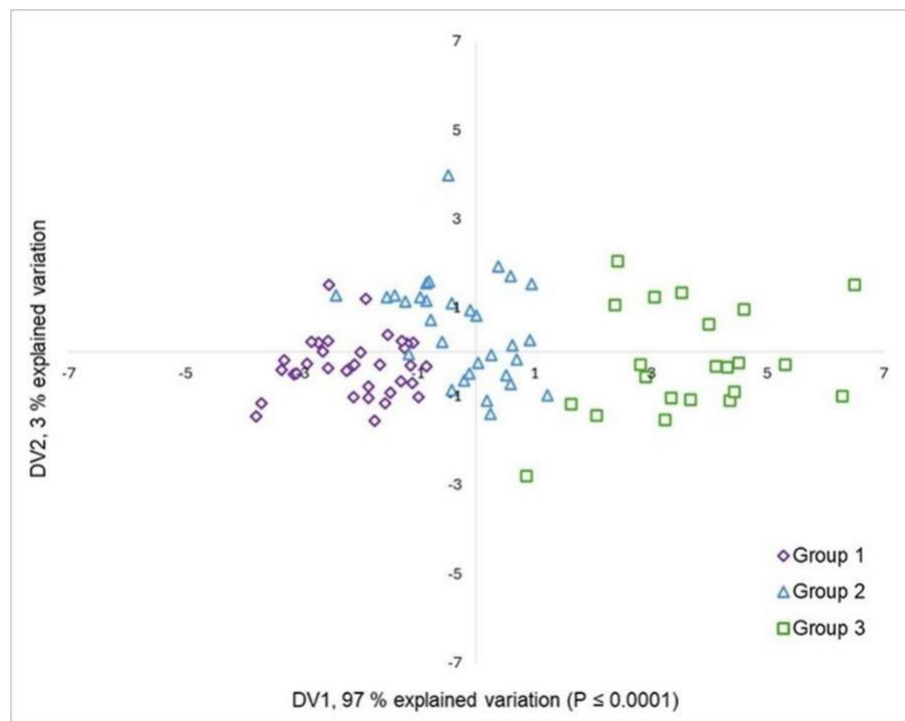


Figure 6. Graphical representation of discriminant variables of 88 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings under saline conditions. DV1: discriminant variable 1, positive values are associated with higher aerial and total dry matter content, as well as greater leaf area and vice versa; DV2: discriminant variable 2, positive values are associated with greater root length and seedling height and vice versa.

The analyses of variance considered the sources of variation: NaCl concentration, groups,

genotypes nested within groups and the corresponding interactions. In the sources of variation groups and concentration, significance was detected in the evaluated traits, except for RL in groups and TDM for concentrations. The genotypes within groups had differences ($p \leq 0.01$) in all evaluated traits. Regarding the concentrations $\times$ genotype interaction, statistical differences were only detected in SH and LA. Coefficients of variation were acceptable, between 12 and 21% in SH, RL and LA. For RDM, ADM and TDM, the coefficients of variation ranged between 34 and 37.5% (Table S4).

According to the comparisons of means for NaCl concentration, the saline condition drastically decreased SH and LA, without modifying RL, RDM, ADM or TDM (Table 6). In a previous study, tomato seedlings exposed to 105 mM NaCl had plant height reductions of 70% [43]. In commercial varieties, decreases of 30% in plant height were observed at a 100 mM NaCl concentration [41], which was 10% lower than the percentage obtained in the present study. In addition, the lines showed reductions of 50% in leaf area, results like those obtained in tomato lines native to Mexico at 205 mM NaCl, where the genotypes decreased their leaf area by 38% [52]. Similarly, at the same concentration, three commercial varieties decreased their leaf area by 50% [45].

Table 6. Comparisons of concentration means for the traits evaluated in 88 seedlings of experimental tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines under salinity conditions.

NaCl (mM)	SH (cm)		RL (cm)		RDM (g)		ADM (g)		TDM (g)		LA (cm ²)	
0	18.3	a	44.0	a	0.2	a	2.1	a	2.3	a	702.2	a
150	10.2	b	38.0	a	0.5	a	1.8	a	2.3	a	348.5	b
% Reduction	44		14		−187		13		0		50	
HSD	7.5		6.7		0.4		1.2		1.6		248.9	
CV	12.3		12.5		34.1		37.5		35.3		21.0	

% reduction: percentage reduction when going from 0 to 150 mM NaCl concentration (negative values indicate evaluated trait's increases in the saline condition), SH: seedling height, RL: root length, RDM: root dry matter, ADM: aerial dry matter, TDM: total dry matter, LA: leaf area, HSD: honestly significant difference. Means with the same letter within columns did not differ statistically (Tukey, $p \leq 0.05$).

The comparisons of means for the concentration $\times$ group interaction (Table 7) identify the genotypes of Group 3 as tolerant to NaCl, since they had fewer effects on SH, LA and RL; the percentages of reduction in the saline condition corresponded to 42, 14 and 43%, respectively, and RDM, ADM and TDM showed increases greater than 40% with respect to the control. In contrast, Group 1 genotypes were the most susceptible, showing reductions of more than 15% in the evaluated traits.

Table 7. Comparisons of group-by-concentration interaction means of 88 seedlings of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines under salinity conditions. Comparisons are made within each group between control (0 mM NaCl) versus saline condition (150 mM NaCl).

NaCl (mM)	GRO	SH (cm)		RL (cm)		RDM (g)		ADM (g)		TDM (g)		LA	
0	1	19.5	a	44.9	a	0.19	c	2.65	a	2.85	a	771.5	a
150	1	10.3	d	38.1	b	0.51	a	1.84	bc	2.35	b	351.7	de
% reduction		47		15		−163		31		17		54	
0	2	18.4	b	43.7	a	0.16	c	2.07	b	2.24	b	718.8	b
150	2	10.5	d	38.3	b	0.50	a	1.89	bc	2.39	b	366.3	d
% reduction		43		13		−201		9		−7		49	

Table 7. Cont.

NaCl (mM)	SH (cm)		RL (cm)		RDM (g)		ADM (g)		TDM (g)		LA (cm ²)	
0	18.3	a	44.0	a	0.2	a	2.1	a	2.3	a	702.2	a
150	10.2	b	38.0	a	0.5	a	1.8	a	2.3	a	348.5	b
% Reduction	44		14		-187		13		0		50	
HSD	7.5		6.7		0.4		1.2		1.6		248.9	
CV	12.3		12.5		34.1		37.5		35.3		21.0	

% Reduction: percentage reduction when going from 0 to 150 mM NaCl concentration (negative values indicate evaluated trait's increases in the saline condition), SH: seedling height, RL: root length, RDM: root dry matter, ADM: aerial dry matter, TDM: total dry matter, LA: leaf area, HSD: honestly significant difference. Means with the same letter within columns did not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

Under salinity conditions, the RDM of the tolerant genotypes of Group 3 increased by more than 100% ($p \leq 0.05$) with respect to the control (Table 7). Similar results were observed in tomato seedlings exposed to 150 mM NaCl, which increased root dry matter by 72% [53].

Table 8 shows the 10 best-performing genotypes from Group 3, which expressed the highest tolerance (Table 7); these, except in the case of SH, did not show statistical differences in the evaluated traits ($p \leq 0.05$) when going from the stress-free condition to the saline condition (150 mM NaCl). A tendency is observed in most of them to increase, although not significantly, RL, RDM and TDM; in addition, all, except one, did not reduce LA. Similar results were observed by López-Méndez et al. [39], where tolerant lines of wild tomatoes showed no statistical difference in biomass accumulation under 0 and 175 mM NaCl conditions. Previous research has indicated that as the NaCl concentration in the medium increases, stem and root length decreases, as well as dry matter accumulation [41,44,45,52]; however, in our research, aerial and root dry matter was not affected ($p \leq 0.05$) by the saline condition, and even tendencies to be increased in tolerant genotypes are observed (Figure 7). In contrast, the susceptible genotypes of Group 1 tended to increase only the RDM.

Table 8. Comparisons of means of tomato genotypes of Group 3 under two NaCl concentrations at seedling stage. Comparisons are made within each genotype between control (0 mM NaCl) versus saline condition (150 mM NaCl).

NaCl	GEN	SH (cm)		RL (cm)		RDM (g)		ADM (g)		TDM (g)		LA	
0	L13	18.3	a	50.5	a	0.109	a	0.99	a	1.10	a	518.7	a
150	L13	9.4	b	41.0	a	0.449	a	1.42	a	1.87	a	316.2	a
% reduction		49		19		-313		-44		-70		39	
0	L20	14.7	a	36.8	a	0.129	a	1.01	a	1.14	a	683.0	a
150	L20	8.8	a	36.2	a	0.357	a	1.41	a	1.77	a	340.3	a
% reduction		40		2		-176		-39		-55		50	
0	L43	14.5	a	40.8	a	0.090	a	0.68	a	0.77	a	455.7	a
150	L43	8.9	a	34.3	a	0.269	a	1.18	a	1.45	a	244.2	a
% reduction		39		16		-198		-72		-87		46	
0	L5	10.2	a	46.3	a	0.111	a	0.76	a	0.87	a	344.4	a
150	L5	8.4	a	33.7	a	0.204	a	1.06	a	1.27	a	205.0	a
% reduction		18		27		-84		-40		-45		40	
0	L75	15.1	a	37.8	a	0.085	a	0.84	a	0.93	a	409.1	a
150	L75	10.1	b	34.8	a	0.369	a	1.46	a	1.83	a	277.8	a
% reduction		33		8		-334		-74		-97		32	
0	L41	15.2	a	37.8	a	0.091	a	0.95	a	1.04	a	420.6	a
150	L41	8.8	b	39.5	a	0.369	a	1.43	a	1.80	a	279.0	a

Table 8. Cont.

NaCl	GEN	SH (cm)		RL (cm)		RDM (g)		ADM (g)		TDM (g)		LA	
% reduction		42		−5		−305		−51		−73		34	
0	L8	14.1	a	46.5	a	0.1	a	0.8	a	0.9	a	387.6	a
150	L8	7.6	b	44.0	a	0.4	a	1.2	a	1.5	a	280.1	a
% Reduction		46		5		−186		−49		−68		28	
0	L67	8.0	a	26.3	a	0.0	a	0.2	a	0.3	a	130.5	a
150	L67	4.4	b	27.8	a	0.1	a	0.4	a	0.5	a	114.6	a
% Reduction		44		−6		−150		−79		−89		12	
0	L4-3	18.6	a	33.0	a	0.1	a	1.0	a	1.1	a	487.4	a
150	L4-3	8.6	b	32.3	a	0.3	a	1.4	a	1.8	a	252.9	b
% reduction		53		2		−196		−40		−55		48	
0	L53	13.7	a	44.3	a	0.2	a	0.9	a	1.0	a	343.1	a
150	L53	8.3	b	31.2	a	0.3	a	1.8	a	2.2	a	230.3	a
% reduction		39		30		−103		−107		−107		33	

GEN: genotype, GRO: group, % reduction: percentage reduction when going from 0 to 150 mM NaCl concentration (negative values indicate evaluated trait's increases in the saline condition), SH: seedling height, RL: root length, RDM: root dry matter, ADM: aerial dry matter, TDM: total dry matter, LA: leaf area. Means with the same letter within columns and genotype do not differ statistically (Tukey, $p \leq 0.05$).



Figure 7. Root length and leaf area of seedlings tomato. (A) Control without NaCl; (B) susceptible line to 150 mM NaCl; (C) tolerant line to 150 mM NaCl. Saline conditions significantly reduce leaf area and root length in susceptible lines, whereas in tolerant lines, leaf area is affected, but root volume tends to increase.

Of the 88 lines evaluated in the seedling test, 23 were identified as tolerant (Table S5), showing better performance under saline conditions than other genotypes from previous research [39,44,45,52]. This resulted from increased development of SH, RL and LA, as well as the greater accumulation of dry matter by structures. This increase in dry matter as a mechanism of salt stress tolerance has also been reported in corn [54], sweet potato [55], barley [42] and tomato [41]; these responses are associated with increases in the synthesis of organic solutes such as reducing sugars, total sugars, proline and amino acids, which help counteract

osmotic effects and maintain plant water status [56–58]. In contrast, 36 susceptible genotypes were identified with impaired development in saline conditions, outperformed by the tolerant genotypes in this research, as well as those in other studies [16,40,51].

Under this reasoning, tolerant lines (Group 3) must have mechanisms that allow maintaining an adequate root system for the supply and distribution of water and nutrients to ensure the development and growth of seedlings, which must include tolerance to both osmotic stress and ionic toxicity by having the ability to accumulate Na^+ in the vacuole and restrict the entry and translocation of Na^+ [21,51,59]. Additionally, they participate in hormonal regulation that affects source–demand relationships and regulates the production and use of photoassimilates [60] that prevent ionic toxicity in photosynthetic tissues, which translates into greater biomass accumulation [61,62].

Upon consideration of the results of both tests, seven lines (L5, L13, L28, L43, L53, L54 and L68) were identified as salinity tolerant at the germination and seedling stages (Table 9). This set was characterized by having the lowest decreases in GP, PL and TDM during germination and RL, RDM, ADM and TDM in the seedling test when going from a normal condition to saline stress.

Table 9. Clustering groups for tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines in salinity tolerance tests at germination and seedling stages.

Seedling	Germination	Tolerant Group 2	Intermediate tolerance Group 3	Susceptible Group 1
	Tolerant Group 3	L5, L13, L28, L43, L53, L54, L68	L4-3, L8, L19, L35, L37, L47B1, L57, L75, RF1	L7, L41, L67, L72, L88, SS5
	Intermediate tolerance Group 2	L9, L45, L48, L63, L78	L2, L18, L22, L30, L31, L34, L47S2, L58, L59, L60, L69	L10, 11-4, L14, L23, L29, L40, L47S8, L49, L61, L62, L73, L90, RF46
	Susceptible Group 1	L4-1, L12, L42, L44, L50, L55, L56, L64, L65, L66, L86, L91, L92D, RF12, SS2	L3, L15, L24, L27, L36, L39, L46, L51, L51H, L52, L76H, L80, MERM, RF38, RF41	L1, L6, L33, L74, L85, RF81

Growth assessment using rapid tests during germination and seedling development exposed to NaCl is an effective strategy for the preliminary identification of tolerant genotypes [37,44]. Several studies have shown that root growth and seedling length are correlated with salinity tolerance; therefore, these variables have been used as selection criteria for tolerant genotypes [38,39,41]. These conditions are observed in our results.

Leaf area, dry matter, seedling length and root length are required variables for the identification of genotypes tolerant to salt stress [43,45,52,53]. In this context, the floating raft system allows the evaluation of root development and growth through direct and non-destructive monitoring, which represents a great advantage over the use of solid substrates, in which the quantification of these characteristics is less precise [63].

The presence of tolerant lines in a single test implies that the tolerance mechanisms activated at each stage are different. For example, line L92D was tolerant in the germination test, while in the seedling test, it showed high susceptibility. Two lines derived from native populations were included in the study; SS2 exhibited the same behavior as L92D, while SS5 was tolerant in seedlings and susceptible during germination. Thus, salinity tolerance is a complex trait regulated by the expression of various metabolic and structural genes influenced by the presence of salt [64–67], such as those involved in the exclusion and compartmentalization of toxic ions and transcription factors that participate in signaling pathways in the presence of stress [68,69] and by the adaptive responsiveness of the genotype to salt stress [51,70]. Although genotypes with different levels of tolerance were found, no

associations between this behavior and their phenotypic characteristics (fruit color and shape, growth habit) were identified (Table S1).

Similar to the present results, previous research has detected as tolerant genotypes those with smaller reductions in seedling and root length, as well as in biomass accumulation. In addition, these studies have been able to associate this response with the accumulation of secondary metabolites such as carotenoids, flavonoids, amino acids and anthocyanins, which are indicators to salinity stress adaptation [15,45,53]. Therefore, it is highly likely that the tolerant lines identified in this research possess these mechanisms that allow them to counteract the negative effects of salt stress.

Having rapid initial tests that are easy to replicate in a large number of genotypes in order to identify those that are tolerant to salt stress in periods of less than 20 days, enough time to show tolerance to both osmotic stress and ionic stress during the germination and seedling stages, facilitates the breeding of this crop. However, a detailed study of selected materials in longer periods of exposure to stress is necessary in order to quantify the concentration of secondary metabolites and nutrients, which would allow confirming tolerance to salt stress, even at advanced phenological stages. Quantification of these metabolites can provide further evidence of NaCl tolerance, complementing information from growth assessments. Under prolonged salt stress, secondary metabolites play a crucial role in maintaining enzyme function, stabilizing membrane proteins and scavenging reactive oxygen species [58,71].

4. Conclusions

Salinity caused by NaCl produces negative effects on the early developmental stages, germination and seedling of tomato lines. Furthermore, the results of this research suggest that the response to salinity stress depends on the adaptability of the genotype and the developmental stage. This is attributed to the fact that the twenty-eight tolerant genotypes in germination were different from the twenty-three tolerant ones in the seedling stage, with only seven tolerant genotypes coinciding in both phenological stages, which implies that salt stress tolerance is regulated by the expression of different genetic complexes.

The differential behavior of the lines allowed us to identify genotypes that are tolerant and susceptible to salt stress by evaluating growth and development at the germination and seedling stages using the methodologies employed in this research.

The variation in salt stress tolerance observed in a large number of tomato lines during the germination and seedling stages allowed the initial selection of genotypes for use in breeding. Thus, the tolerant lines at both stages evaluated (L5, L13, L28, L43, L53, L54 and L68) can be considered as parents for obtaining future tolerant varieties, because these genotypes showed the best response in terms of salt tolerance at germination and seedling stages.

In the germination test, salt stress-tolerant genotypes did not decrease dry matter accumulation, germination percentage or plumule and radicle length with respect to the control; in contrast, during the seedling stage, the tolerant genotypes increased root length and dry matter as an adaptive response to salt stress. This suggests the usefulness of these traits for the early selection of salt-tolerant genotypes.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/horticulturae11050532/s1>: Table S1. Phenotypic characteristics of the greenhouse tomato breeding program lines of the Universidad Autónoma Chapingo; Table S2. Analysis of variance for the traits evaluated in 93 tomato lines (*Solanum lycopersicum* L.) germinated

under salinity conditions; Table S3. Comparisons of means of the concentration-by-genotype interaction in 93 experimental tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines, germinated under salinity conditions. Comparisons are made within each genotype between control (0 mM NaCl) versus saline condition (80 mM NaCl) (Tukey, $p \leq 0.05$); Table S4. Analysis of variance for the traits evaluated in 88 seedlings tomato lines (*Solanum lycopersicum* L.) under salinity conditions; Table S5. Comparisons of means of the concentration-by-genotype interaction in 88 seedlings of experimental tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines under salinity conditions. Comparisons are made within each genotype between control (0 mM NaCl) versus saline condition (150 mM NaCl) (Tukey, $p \leq 0.05$).

Author Contributions: Conceptualization, A.A.D.-T., J.E.R.-P., J.S.-C. and M.T.B.C.-y.-L.; methodology, A.A.D.-T., J.E.R.-P., J.S.-C., M.T.B.C.-y.-L. and A.E.P.-C.; validation, A.A.D.-T., J.E.R.-P., P.P.-R. and A.E.P.-C.; formal analysis, A.A.D.-T., J.E.R.-P., P.P.-R. and A.E.P.-C.; investigation, A.A.D.-T., J.E.R.-P. and A.E.P.-C.; resources, J.E.R.-P. and J.S.-C.; writing—original draft preparation, A.A.D.-T. and J.E.R.-P.; writing—review and editing, J.S.-C. and M.T.B.C.-y.-L.; visualization, A.A.D.-T. and J.E.R.-P.; supervision, J.E.R.-P., M.T.B.C.-y.-L., J.S.-C. and P.P.-R.; project administration, J.E.R.-P. and J.S.-C.; funding acquisition, J.E.R.-P. and J.S.-C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received funding from Universidad Autónoma Chapingo through project D.G.I.P. 24002-EI2.

Data Availability Statement: Data are contained within the article. Additional information is available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: For their assistance in the conduction of the experiments, thanks to Jorge Luis Sánchez Galicia and Ricardo Gaspar Hernández.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Mukhopadhyay, R.; Sarkar, B.; Jat, H.S.; Sharma, P.C.; Bolan, N.S. Soil salinity under climate change: Challenges for sustainable agriculture and food security. *J. Environ. Manag.* **2021**, *280*, 111736. [CrossRef]
2. Shrivastava, P.; Kumar, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* **2015**, *22*, 123–131. [CrossRef] [PubMed]
3. Hopmans, J.W.; Qureshi, A.S.; Kisekka, I.; Munns, R.; Grattan, S.R.; Rengasamy, P.; Ben-Gal, A.; Assouline, S.; Javaux, M.; Minhas, P.S.; et al. Chapter One—Critical knowledge gaps and research priorities in global soil salinity. *Adv. Agron.* **2021**, *169*, 1–191. [CrossRef]
4. Vargas, R.; Pankova, E.I.; Balyuk, S.A.; Krasilnikov, P.V.; Khasankhanova, G.M. *Handbook for Saline Soil Management*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy; Lomonosov Moscow State University: Moscow, Russia, 2018.
5. Uçarlı, C. Effects of Salinity on Seed Germination and Early Seedling Stage. In *Abiotic Stress in Plants*; Fahad, S., Saud, S., Chen, Y., Wu, C., Wang, D., Eds.; IntechOpen: London, UK, 2021. [CrossRef]
6. Qadir, M.; Quillérrou, E.; Nangia, V.; Murtaza, G.; Singh, M.; Thomas, R.J.; Drechsel, P.; Noble, A.D. Economics of salt-induced land degradation and restoration. *Nat. Resour. Forum.* **2014**, *38*, 282–295. [CrossRef]
7. Zhao, S.; Zhang, Q.; Liu, M.; Zhou, H.; Ma, C.; Wang, P. Regulation of Plant Responses to Salt Stress. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 4609. [CrossRef] [PubMed]
8. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Mapa Agrícola de Afectación por Salinidad en México. 2021. Available online: <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/mapa-agricola-de-afectacion-por-salinidad-en-mexico> (accessed on 20 July 2024).
9. Food and Agriculture Organization of the United (FAOSTAT). Data About Food and Agriculture. 2024. Available online: <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (accessed on 5 July 2024).
10. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Panorama Agroalimentario 2024. Available online: <https://www.gob.mx/agricultura/dgsiap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035> (accessed on 6 April 2024).
11. Singh, A. Soil salinity: A global threat to sustainable development. *Soil Use and Manag.* **2022**, *38*, 39–67. [CrossRef]
12. Shams, M.; Khadivi, A. Mechanisms of salinity tolerance and their possible application in the breeding of vegetables. *BMC Plant Biol.* **2023**, *23*, 139. [CrossRef]
13. Zhao, C.; Zhang, H.; Song, C.; Zhu, J.-K.; Shabala, S. Mechanisms of Plant Responses and Adaptation to Soil Salinity. *Innovation* **2020**, *1*, 100017. [CrossRef]

14. Adilu, G.S.; Gebre, Y.G. Effect of salinity on seed germination of some tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties. *J. Aridland Agri.* **2021**, *7*, 76–82. [\[CrossRef\]](#)
15. Abdel-Farid, I.B.; Marghany, M.R.; Rowezek, M.M.; Sheded, M.G. Effect of Salinity Stress on Growth and Metabolomic Profiling of *Cucumis sativus* and *Solanum lycopersicum*. *Plants* **2020**, *9*, 1626. [\[CrossRef\]](#)
16. González-Grande, P.; Suárez, N.; Marín, O. Effect of salinity and seed salt priming on the physiology of adult plants of *Solanum lycopersicum* cv. 'Río Grande'. *Braz. J. Bot.* **2020**, *43*, 775–787. [\[CrossRef\]](#)
17. Osakabe, Y.; Osakabe, K.; Shinozaki, K.; Tran, L.-S.P. Response of plants to water stress. *Front. Plant Sci.* **2014**, *5*, 86. [\[CrossRef\]](#)
18. Zörb, C.; Geilfus, C.M.; Dietz, K.J. Salinity and crop yield. *Plant Biol.* **2019**, *21*, 31–38. [\[CrossRef\]](#)
19. Yang, Y.; Guo, Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses. *New Phytol.* **2018**, *217*, 523–539. [\[CrossRef\]](#)
20. Machado, R.; Serralheiro, R. Soil Salinity: Effect on Vegetable Crop Growth. Management Practices to Prevent and Mitigate Soil Salinization. *Horticulturae* **2017**, *3*, 30. [\[CrossRef\]](#)
21. Isayenkov, S.V.; Maathuis, F.J.M. Plant Salinity Stress: Many Unanswered Questions Remain. *Front. Plant Sci.* **2019**, *10*, 80. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Jameel, J.; Anwar, T.; Majeed, S.; Qureshi, H.; Siddiqi, E.H.; Sana, S.; Zaman, W.; Ali, H.M. Effect of salinity on growth and biochemical responses of brinjal varieties: Implications for salt tolerance and antioxidant mechanisms. *BMC Plant Biol.* **2024**, *24*, 128. [\[CrossRef\]](#)
23. Ahmed, A.M.; Wais, A.H.; Ditta, A.; Islam, M.R.; Chowdhury, M.K.; Pramanik, M.H.; Ismaan, H.N.; Soufan, W.; El Sabah, A.; Islam, M.S. Seed Germination and Early Seedling Growth of Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Genotypes Under Salinity Stress. *Pol. Environ. Stud.* **2024**, *33*, 3019–3032. [\[CrossRef\]](#)
24. Ludwiczak, A.; Osiak, M.; Cárdenas-Pérez, S.; Lubińska-Mielińska, S.; Piernik, A. Osmotic Stress or Ionic Composition: Which Affects the Early Growth of Crop Species More? *Agronomy* **2021**, *11*, 435. [\[CrossRef\]](#)
25. Abbas, A.; Mansha, S.; Waheed, H.; Siddiq, Z.; Hayyat, M.U.; Zhang, Y.-J.; Alwutayd, K. NaCl stress, tissue specific Na⁺ and K⁺ up-take and their effect on growth and physiology of *Helianthus annuus* L. and *Solanum lycopersicum* L. *Sci. Hortic.* **2024**, *326*, 112454. [\[CrossRef\]](#)
26. Meza, S.L.R.; Egea, I.; Massaretto, I.L.; Morales, B.; Purgatto, E.; Egea-Fernández, J.M.; Bolarin, M.C.; Flores, F.B. Traditional Tomato Varieties Improve Fruit Quality Without Affecting Fruit Yield Under Moderate Salt Stress. *Front. Plant Sci.* **2020**, *11*, 587754. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Li, K.; Zhao, M.; Zhou, S.; Niu, L.; Zhao, L.; Xu, D. Effects of antibiotics on secondary metabolism and oxidative stress in oilseed rape seeds. *Env. Sci. Poll. Res.* **2024**, *31*, 27689–27698. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Sytar, O.; Mbarki, S.; Zivcak, M.; Brestic, M. The Involvement of Different Secondary Metabolites in Salinity Tolerance of Crops. In *Salinity Responses and Tolerance in Plants*; Kumar, V., Wani, S., Suprasanna, P., Tra, L.S., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2018; Volume 2, pp. 21–48. [\[CrossRef\]](#)
29. Ellouzi, H.; Ben Slimene Debez, I.; Amraoui, S.; Rabhi, M.; Hanana, M.; Alyami, N.M.; Debez, A.; Abdelly, C.; Zorrig, W. Effect of seed priming with auxin on ROS detoxification and carbohydrate metabolism and their relationship with germination and early seedling establishment in salt stressed maize. *BMC Plant Biol.* **2024**, *24*, 704. [\[CrossRef\]](#)
30. Seth, R.; Kendurkar, S. In vitro screening: An effective method for evaluation of commercial cultivars of tomato towards salinity stress. *Inter. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **2015**, *4*, 725–730.
31. Maguire, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* **1962**, *2*, 176–177. [\[CrossRef\]](#)
32. Cadahia López, C. *Fertirrigación: Cultivos Hortícolas y Ornamentales*, 2nd ed.; Mundiprensa: Barcelona, Spain, 2000.
33. Gower, J.C. A Comparison of Some Methods of Cluster Analysis. *Biometrics.* **1967**, *23*, 623. [\[CrossRef\]](#)
34. Ward, J.H. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. *J. Am. Stat. Assoc.* **1963**, *58*, 236–244. [\[CrossRef\]](#)
35. Hotelling, H. A Generalized T Test and Measure of Multivariate Dispersion. In *Proceedings of the Second Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability*; Neyman, J., Ed.; University of California Press: Berkeley, CA, USA, 1951; pp. 23–42. [\[CrossRef\]](#)
36. Johnson, D.E. *Applied Multivariate Methods for Data Analysts*; Brooks Cole Publishing Company: Pacific Grove, MA, USA, 1998.
37. Fadhil, A.A.; Swaid, S.Y.; Mohammed, S.J.; Al-Abboodi, A. Impact of Salinity on Tomato Seedling Development: A Comparative Study of Germination and Growth Dynamics in Different Cultivars. *J. Chem. Health Risks* **2024**, *14*, 183–190. [\[CrossRef\]](#)
38. Shanika, M.M.A.N.; Seran, T.H. Impact of salinity on seed germination and seedling performance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cv KC-1. *J. Sci.* **2020**, *11*, 1–11. [\[CrossRef\]](#)
39. López-Méndez, A.G.; Rodríguez-Pérez, J.E.; Mascorro-Gallardo, J.O.; Sahagún-Castellanos, J.; Lobato-Ortiz, R. Sodium Chloride Tolerance during Germination and Seedling Stages of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Lines Native to Mexico. *Horticulturae* **2024**, *10*, 466. [\[CrossRef\]](#)

40. de Oliveira, L.B.; de Oliveira, L.B. Effects of water salinization on tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). *Int. J. Adv. Eng. Res. Sci.* **2023**, *10*, 015–021. [\[CrossRef\]](#)
41. Ruiz Espinoza, H.F.; Villalpando Gutiérrez, R.L.; Murillo Amador, B.; Beltrán Morales, F.A.; Hernández Montiel, L.G. Respuesta diferencial a la salinidad de genotipos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en primeras etapas fenológicas. *Terra Latinoam.* **2014**, *32*, 311–323.
42. Mwando, E.; Angessa, T.T.; Han, Y.; Zhou, G.; Li, C. Quantitative Trait Loci Mapping for Vigour and Survival Traits of Barley Seedlings after Germinating under Salinity Stress. *Agronomy* **2021**, *11*, 103. [\[CrossRef\]](#)
43. Sané, A.K.; Diallo, B.; Kane, A.; Sagna, M.; Sané, D.; Sy, M.O. In Vitro Germination and Early Vegetative Growth of Five Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Varieties under Salt Stress Conditions. *Am. J. Plant Sci.* **2021**, *12*, 796–817. [\[CrossRef\]](#)
44. Chakma, P.; Hossain, M.M.; Rabbani, M.G. Effects of salinity stress on seed germination and seedling growth of tomato. *J. Bangladesh Agri. Univ.* **2019**, *17*, 490–499. [\[CrossRef\]](#)
45. Mustafa, A.A.; Abass, M.H.; Awad, K.M. Responses of three tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) varieties to different salinity levels. *Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol.* **2021**, *22*, 277–291.
46. Rajendran, K.; Tester, M.; Roy, S.J. Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. *Plant Cell Environ.* **2009**, *32*, 237–249. [\[CrossRef\]](#)
47. Long, Y.; Chen, J.; Zeng, F.; Wu, S. An activatable NIR-II fluorescent probe for tracking heavy-metal ion and high-level salt-induced oxidative stress in plant sprouts. *Aggregate* **2023**, *4*, e288. [\[CrossRef\]](#)
48. Kaneko, M.; Itoh, H.; Ueguchi-Tanaka, M.; Ashikari, M.; Matsuoka, M. The α -Amylase Induction in Endosperm during Rice Seed Germination Is Caused by Gibberellin Synthesized in Epithelium. *Plant Physiol.* **2002**, *128*, 1264–1270. [\[CrossRef\]](#)
49. Zhang, P.; Senge, M.; Dai, Y. Effects of salinity stress on growth, yield, fruit quality and water use efficiency of tomato under hydroponics system. *Rev. Agric. Sci.* **2016**, *4*, 46–55. [\[CrossRef\]](#)
50. Li, J.; Wu, Y.; Feng, X.; Hussain, T.; Guo, K.; Liu, X. Nonuniform salinity regulates leaf characteristics and improve photosynthesis of cherry tomatoes under high salinity. *Environ. Exp. Bot.* **2024**, *217*, 105565. [\[CrossRef\]](#)
51. Nawaz, A.; Amjad, M.; Afzal, I.; Aslam Pervez, M. Effect of halopriming on germination and seedling vigor of tomato. *Afr. J. Agric. Res.* **2011**, *6*, 3551–3559.
52. Sanjuan-Lara, F.; Ramírez-Vallejo, P.; Sánchez-García, P.; Sandoval-Villa, M.; Livera-Muñoz, M.; Carrillo-Rodríguez, J.C.; Perales-Segovia, C. Tolerancia de líneas nativas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la salinidad con NaCl. *Interciencia* **2015**, *40*, 704–709.
53. Bogoutdinova, L.R.; Khaliluev, M.R.; Chaban, I.A.; Gulevich, A.A.; Shelepova, O.V.; Baranova, E.N. Salt Tolerance Assessment of Different Tomato Varieties at the Seedling Stage. *Horticulturae* **2024**, *10*, 598. [\[CrossRef\]](#)
54. Akram, M.; Yasin Ashraf, M.; Ahmad, R.; Waraich, E.A.; Iqbal, J.; Mohsan, M. Screening for salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *Pak. J. Bot.* **2010**, *42*, 141–154.
55. Rodríguez-Delfín, A.; Posadas, A.; Quiroz, R. Rendimiento y absorción de algunos nutrientes en plantas de camote cultivadas con estrés hídrico y salino. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* **2014**, *20*, 19–28. [\[CrossRef\]](#)
56. Babu, M.A.; Singh, D.; Gothandam, K.M. The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. *J. Anim. Plant Sci.* **2012**, *22*, 159–164.
57. Saha, J.; Brauer, E.K.; Sengupta, A.; Popescu, S.C.; Gupta, K.; Gupta, B. Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. *Front. Environ. Sci.* **2015**, *3*, 21. [\[CrossRef\]](#)
58. Sabzmejdani, E.; Sedaghatthoor, S.; Hashemabadi, D. Salinity response of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) as influenced by salicylic acid and progesterone. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* **2019**, *26*, 49–63. [\[CrossRef\]](#)
59. Parra-Terraza, S.; Angulo-Castro, A.; Sánchez-Peña, P.; Valdéz-Torres, J.B.; Rubio-Carrasco, W. Effect of Cl^- and Na^+ ratios in nutrient solutions on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) yield in a hydroponic system. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* **2022**, *28*, 67–78. [\[CrossRef\]](#)
60. Pérez-Alfocea, F.; Albacete, A.; Ghanem, M.E.; Dodd, I.C. Hormonal regulation of source—Sink relations to maintain crop productivity under salinity: A case study of root-to-shoot signalling in tomato. *Funct. Plant Biol.* **2010**, *37*, 592. [\[CrossRef\]](#)
61. Roy, S.J.; Negrão, S.; Tester, M. Salt resistant crop plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2014**, *26*, 115–124. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Pailles, Y.; Awlia, M.; Julkowska, M.; Passone, L.; Zemmouri, K.; Negrão, S.; Schmöckel, S.M.; Tester, M. Diverse Traits Contribute to Salinity Tolerance of Wild Tomato Seedlings from the Galapagos Islands. *Plant Physiol.* **2020**, *182*, 534–546. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Solanki, P.; Narayan, M.; Meena, S.S.; Srivastava, R.K. Floating raft wastewater treatment system: A review. *J. Pure App. Microbiol.* **2017**, *11*, 1113–1116. [\[CrossRef\]](#)
64. Yokoi, S.; Quintero, F.J.; Cubero, B.; Ruiz, M.T.; Bressan, R.A.; Hasegawa, P.M.; Pardo, J.M. Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na^+/H^+ antiporters in the salt stress response. *Plant J.* **2002**, *30*, 529–539. [\[CrossRef\]](#)
65. Wu, X.; Shu, S.; Wang, Y.; Yuan, R.; Guo, S. Exogenous putrescine alleviates photoinhibition caused by salt stress through cooperation with cyclic electron flow in cucumber. *Photosynth. Res.* **2019**, *141*, 303–314. [\[CrossRef\]](#)
66. Yang, X.; Li, Y.; Chen, H.; Huang, J.; Zhang, Y.; Qi, M.; Liu, Y.; Li, T. Photosynthetic Response Mechanism of Soil Salinity-Induced Cross-Tolerance to Subsequent Drought Stress in Tomato Plants. *Plants* **2020**, *9*, 363. [\[CrossRef\]](#)

67. Akram, S.; Ghaffar, M.; Wadood, A.; Shokat, S.; Hameed, A.; Waheed, M.Q.; Arif, M.A.R. AGBS-based genome-wide association study reveals the genetic basis of salinity tolerance at the seedling stage in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front. Genet.* **2022**, *13*, 997901. [\[CrossRef\]](#)
68. Hichri, I.; Muhovski, Y.; Clippe, A.; Žižková, E.; Dobrev, P.I.; Motyka, V.; Lutts, S. SIDREB2, a tomato dehydration-responsive element-binding 2 transcription factor, mediates salt stress tolerance in tomato and Arabidopsis. *Plant Cell Environ.* **2015**, *39*, 62–79. [\[CrossRef\]](#)
69. Zhang, P.; Wang, R.; Yang, X.; Ju, Q.; Li, W.; Lü, S.; Tran, L.S.P.; Xu, J. The R2R3-MYB transcription factor AtMYB49 modulates salt tolerance in Arabidopsis by modulating the cuticle formation and antioxidant defence. *Plant Cell Environ.* **2020**, *43*, 1925–1943. [\[CrossRef\]](#)
70. Dogan, M.; Tipirdamaz, R.; Demir, Y. Salt resistance of tomato species grown in sand culture. *Plant Soil Environ.* **2010**, *56*, 499–507. [\[CrossRef\]](#)
71. Khalid, M.F.; Huda, S.; Yong, M.; Li, L.H.; Chen, Z.H.; Ahmed, T. Alleviation of drought and salt stress in vegetables: Crop responses and mitigation strategies. *Plant Growth Regul.* **2023**, *99*, 177–194. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

CAPÍTULO 3. ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS CON LA TOLERANCIA A CLORURO DE SODIO EN GERMINACIÓN Y PLÁNTULA DE TOMATE

Resumen

La salinidad es uno de los principales factores abióticos que afecta al cultivo de tomate al disminuir su crecimiento y producción, por lo que la identificación de genes asociados a la tolerancia favorecerá la generación de variedades adaptadas al estrés salino. El objetivo de esta investigación fue identificar regiones genómicas asociadas con la tolerancia a salinidad en 93 líneas de tomate evaluadas en germinación y plántula. La evaluación fenotípica en germinación se realizó en 93 líneas expuestas a 80 mM de NaCl y testigo en cámara germinadora con temperatura 28 ± 1 °C y humedad relativa de 80 ± 5 %; y en plántula en 88 líneas en 150 mM de NaCl y testigo en sistema de balsa flotante. De los datos fenotípicos se obtuvieron índices mediante el cociente de la respuesta obtenida en la condición salina, dividida entre el promedio de la respuesta obtenida en el testigo, se calculó la varianza genética y la heredabilidad en sentido amplio, así como los mejores estimadores insesgados (BLUEs) de los índices generados. La heredabilidad fue mayor que 0.54 y las varianzas mayores que 0.002 en todos los caracteres. Las líneas fueron caracterizadas genotípicamente mediante un análisis GBS (Genotyping by Sequencing) con el genoma ITAG5.0. La asociación genómica se realizó mediante un análisis GWAS (Genome Wide Association Study) con un Modelo Lineal Mixto en GAPIT. El GBS generó 420,048 SNPs, después de un estricto análisis de filtrado se identificaron 13,799 SNPs funcionales para el análisis GWAS. El análisis GWAS identificó 20 SNPs en germinación, diez con anotación funcional, y 24 SNPs en plántula, once descritos en el genoma de referencia. Los SNPs asociados con la tolerancia a la salinidad en ambas etapas de crecimiento participan en la respuesta antioxidante, homeóstasis iónica, regulación de las vías de señalización del ácido abscísico y biosíntesis de metabolitos secundarios.

Palabras clave: Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), *Solanum lycopersicum* L., secuenciación, asociación, crecimiento.

3.1 Introducción

El tomate es una de las hortalizas más importantes debido a su amplia distribución, valor nutricional y económico (Kim et al., 2021). A nivel mundial, se producen alrededor de 189 millones de toneladas, cultivadas en una superficie cercana a los 5 millones de hectáreas (FAO, 2022).

A pesar del aumento de la producción de tomate, su cultivo se enfrenta tanto a factores bióticos como abióticos. Dentro de los factores bióticos se encuentran

las plagas y enfermedades; mientras que en los factores abióticos se encuentran las condiciones ambientales desfavorables como la sequía, temperaturas extremas y salinidad de suelos y agua (Amoroso et al., 2023; Sadder et al., 2025; Safdar et al., 2019).

Las plantas expuestas a salinidad inducida por cloruro de sodio enfrentan dos tipos de estrés: el osmótico que ocurre en fase inicial de la exposición a la condición salina y es provocado por la elevada concentración de sales en el medio de crecimiento (suelo, agua o sustrato) y el iónico, que comienza cuando la acumulación de iones Cl^- y Na^+ en el interior de las células alcanza niveles tóxicos (Munns & Tester, 2008).

La salinidad provoca una serie de alteraciones morfológicas, fisiológicas y moleculares que dañan las células, afectan la fotosíntesis y el metabolismo general de la planta (Diouf et al., 2018). Las etapas de germinación y plántula de tomate son las más susceptibles a la salinidad (González-Grande et al., 2020; López-Méndez et al., 2024; Zörb et al., 2019). Durante la germinación, la salinidad disminuye y retrasa el porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación y longitud de plúmula y radícula (González-Grande et al., 2020). Durante el desarrollo de plántula, la condición salina reduce la altura de planta, longitud de raíz, área foliar y como resultado, se reduce la biomasa (Zörb et al., 2019).

El desarrollo de variedades tolerantes es una de las estrategias más utilizadas para mitigar los efectos causados por la salinidad, ya que esta tolerancia está determinada por efectos cuantitativos, por lo que requiere de múltiples genes que, en conjunto, mejoran la capacidad de adaptación de la planta al estrés salino (Das et al., 2024; Singh et al., 2024). En el desarrollo de variedades tolerantes, los métodos de mejoramiento genético convencionales requieren largos periodos, por lo que el uso de herramientas moleculares permite acelerar este proceso (Simko et al., 2021).

La selección asistida por marcadores moleculares ha proporcionado una herramienta poderosa en el mejoramiento genético del tomate (Lin et al., 2014). En este sentido, los análisis GBS (Genotyping by Sequencing) y GWAS (Genome Wide Association Study) se han convertido en una herramienta biotecnológica importante en el desarrollo de variedades (Liu et al., 2023).

El GWAS es ampliamente utilizado para identificar loci asociados con caracteres cuantitativos (Liu et al., 2023). Su enfoque combina el análisis de caracteres fenotípicos con información genómica para identificar genes o regiones genómicas específicas asociadas con rasgos de interés agronómico (Huang & Han, 2014). Además, los análisis GWAS permiten explorar la diversidad genética y la estructura de la población (Holland & Piepho, 2024).

Para realizar un análisis GWAS se requieren datos fenotípicos de una población de estudio genéticamente diversa y una matriz genotípica de alta densidad, compuesta por miles o millones de marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) distribuidos a lo largo del genoma (Liu et al., 2023).

La caracterización de variantes genéticas y descubrimiento de marcadores SNP se realiza, generalmente, mediante estudios GBS (genotyping by sequencing) debido a su bajo costo en comparación con otras tecnologías de secuenciación como RAD-seq (restriction-site associated DNA sequencing) y DArT-seq (Diversity Arrays Technology sequencing) (Podbielska & Piórkowska, 2022). El GBS es un método de caracterización genotípica simple y repetible, que analiza múltiples secuencias de ADN simultáneamente en gran número de muestras (Podbielska & Piórkowska, 2022).

Diversos análisis GWAS en diferentes cultivos incluido el tomate, han permitido identificar genes asociados con la tolerancia a salinidad (Das et al., 2024; Javid et al., 2022). Estos genes están involucrados en la actividad antioxidante, homeostasis iónica, metabolismo de carbohidratos, síntesis de hormonas, fotosíntesis y proteínas transportadoras (Das et al., 2024; Javid et al., 2022; Li et al., 2022; Wang et al., 2024). La información generada ha sido fundamental para

comprender los mecanismos genéticos de tolerancia al estrés salino y ha permitido la validación de genes asociados con la tolerancia y su incorporación a programadas de mejoramiento genético mediante cruzamientos dirigidos y selección asistida por marcadores (Afzal et al., 2023).

El objetivo de la presente investigación fue identificar regiones genómicas asociadas a la tolerancia a salinidad en 93 líneas de tomate evaluadas en germinación y desarrollo de plántula mediante un estudio de asociación genómica GWAS (Genome Wide Association Study).

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Evaluación fenotípica

Los genotipos evaluados fueron 93 líneas homocigóticas (F₁₀-F₁₂) del Programa de Mejoramiento Genético de Tomate de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) obtenidas a partir de poblaciones segregantes derivadas de cruza entre híbridos comerciales.

La evaluación fenotípica de las pruebas de tolerancia a sales en germinación y en estado de plántula se describen a detalle en la publicación de Deanda-Tovar et al. (2025).

La prueba de germinación se realizó en 93 líneas con 80 mM de NaCl y testigo, durante doce días, en cámara germinadora con 28±1 °C y humedad relativa de 80±5 %. La unidad experimental (UE) fue una caja Petri de 56 mm de diámetro con 25 semillas y papel filtro como sustrato. El diseño experimental fue bloques completos al azar con dos repeticiones en el testigo y cuatro en el de 80 mM de NaCl. Se evaluó *porcentaje de germinación* (PG, en %), *índice de velocidad de germinación* (IVG), *longitud de plúmula* (LP, en cm), *longitud de radícula* (LR, en cm) y la *materia seca total* (MST, en mg).

En la prueba de plántula se evaluaron 88 líneas expuestas a 150 mM de NaCl y testigo, en un sistema de balsa flotante. La unidad experimental consistió en 5

plántulas. El diseño experimental fue bloques completos al azar con tres repeticiones en concentración 150 mM y dos repeticiones en el testigo. Se determinó *altura de plántula* (AP, en cm), *longitud de raíz* (LRa, en cm), *área foliar* (AF, en cm²) mediante fotografías digitales con escalas conocidas y procesadas con el software ImageJ (v1.4.3.67; National Institutes of Health). Finalmente se determinó la *materia seca de la parte aérea* (MSPA, en g), *materia seca de la raíz* (MSR, en g) y materia seca total (MSTo, en g).

3.2.2 Análisis estadísticos de la evaluación fenotípica

En ambas etapas de crecimiento, germinación y plántula, se obtuvieron índices de todos los caracteres evaluados a partir del cociente de la respuesta obtenida en la condición salina dividida entre el promedio de la respuesta obtenida en el testigo. Con los índices generados se calcularon la varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio, así como los mejores estimadores lineales insesgados (BLUE, Best Linear Unbiased Estimator) mediante el software Multi-Environment Trial Analysis with R (MetaR v6.0) (Alvarado et al., 2020), se consideró un diseño experimental de bloques completos al azar.

3.2.3 Extracción de ADN, genotipado y determinación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, Single Polymorphism Nucleotide)

El ADN de las líneas homocigóticas se aisló de hojas verdes tiernas y sin daño aparente de plántulas de 35 días de edad. El tejido se pulverizó con nitrógeno líquido. La extracción de ADN se realizó con el método CTAB (bromuro de alquiltrimetilamonio). La pureza e integridad del ADN se determinó mediante corrimiento en gel de agarosa al 1.5 % y se cuantificó en espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo NanoDrop Lite) en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia de la UACH.

La digestión de ADN se realizó con las enzimas BglII 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.

Los archivos FASTQ obtenidos de la biblioteca genómica generada mediante GBS fueron alineados al genoma de referencia ITAG5.0 mediante el software Bowtie2 (v.2.2.5) (Langmead & Salzberg, 2012). El genoma de referencia, *Solanum lycopersicum* ITAG5.0, se obtuvo de *Phytozome* (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>). Los alineamientos resultantes se convirtieron a los formatos SAM y BAM con el software Samtools (v1.19.2) (Li et al., 2009); la identificación y llamado de variantes se realizó con Bcftools (v1.19) (Danecek et al., 2021) mientras que el filtrado de SNPs de baja confiabilidad se realizó con VCFtools (v0.1.16). (Danecek et al., 2011).

Los SNPs de baja calidad se eliminaron con las condiciones: QUAL<30, profundidad de lectura (Depth) <5, desequilibrio de ligamiento (LD) >0.8, datos faltantes <10 % y frecuencia del alelo menor (MAF) <5%.

Los genotipos marcadores se recodificaron para efectos aditivos como 0, 1 y 2 (aa=0, Aa o aA=1 y AA=2). Con el software RStudio (v4.4.1), para los SNPs de alta calidad resultantes, se imputaron los datos faltantes con base en las frecuencias alélicas. Los SNPs monomórficos se eliminaron.

3.2.4 Análisis de asociación genómica (GWAS)

El análisis de asociación genómica se realizó con el paquete Genome Association and Prediction Integrated Tool 3.0 (GAPIT3) (Wang & Zhang, 2021) en RStudio (v4.4.1), se empleó la base de datos de marcadores SNPs filtrados y los BLUEs de los datos fenotípicos de los cinco caracteres evaluados en germinación y los seis caracteres evaluados en la etapa de plántula. El análisis de asociación SNP-carácter se realizó mediante el Modelo Lineal Mixto (Yu et al., 2006):

$$\mathbf{y} = \mu\mathbf{1} + \mathbf{x}_j\beta_j + \mathbf{Q}\mathbf{v} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e},$$

donde $\mathbf{y}$ es un vector respuesta (BLUEs) de dimensión $n \times 1$, n es el número de individuos, μ es un intercepto, $\mathbf{1}$ es un vector de unos de dimensión $n \times 1$, $\mathbf{x}_j$ es la j -ésima columna de la matriz de SNP codificada para efectos aditivos e imputada, β_j es el efecto del j -ésimo SNP ($j = 1, \dots, p$, marcadores); $\mathbf{v}$ es un

vector de efectos poblacionales, Q es una matriz de estructura de población, u es un efecto aleatorio que considera los efectos poligénicos, se modela al utilizar una variable aleatoria normal multivariada con vector de medias 0 y matriz de varianzas y covarianzas $2\sigma_g^2 K$ con σ_g^2 como varianza genética y K matriz de relaciones entre individuos de dimensión $n \times n$ que se calcula con los marcadores SNPs; Z matriz de incidencia de 0's y 1's para relacionar fenotipos y genotipos; e es el término aleatorio del error, se modela al utilizar una variable aleatoria normal multivariada con media 0 y matriz de varianzas y covarianzas $\sigma_e^2 I$ donde σ_e^2 es un componente de varianza asociado a residuales e I matriz identidad de tamaño $n \times n$.

Después del análisis de asociación genómica (GWAS), se obtuvo el p -valor correspondiente para el juego de hipótesis $H_0: \beta_j = 0$ vs $H_1: \beta_j \neq 0$, $j = 1, \dots$, marcadores SNPs. Después se calculó $-\log_{10}(p\text{-valor})$, con el objetivo de facilitar la interpretación y representación gráfica de los resultados. Los SNPs que se consideraron significativos fueron aquellos cuyo $-\log_{10}(p\text{-valor}) > 3$, equivalente a un nivel de significancia de $p \leq 0.001$.

3.2.5 Identificación de genes candidatos

La anotación funcional de las regiones genómicas o genes candidatos se realizó con la búsqueda de posición y cromosoma del SNP significativo. Se utilizó el genoma de referencia *Solanum lycopersicum* ITAG5.0 obtenido de *Phytozome* disponible en <https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>. Se consideraron las regiones cercanas ubicadas a 3750 pb downstream o upstream de los SNPs significativos.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Evaluación fenotípica

En germinación, los caracteres IVG, PG y LP mostraron alta heredabilidad en sentido amplio (H^2) entre 0.78 y 0.86, la mayor parte de la variación fenotípica se debe a diferencias genéticas (**Cuadro 3.1**). Esto sugiere que IVG, PG y LP fueron los caracteres donde es más probable detectar asociaciones significativas con los SNPs, ya que la mayor parte de su variación es explicada por la variación

genética, lo que permite que las asociaciones fenotipo-genotipo se mantengan estables y consistentes.

Cuadro 3.1 Heredabilidad en sentido amplio y varianza genotípica en cinco caracteres de líneas de tomate evaluadas en 80 mM de NaCl en germinación.

Carácter	Repeticiones	Varianza Genotípica σ_g^2	Heredabilidad H^2
IVG	4	0.013	0.86
PG	4	0.042	0.84
LP	4	0.029	0.78
LR	4	0.052	0.59
MST	4	0.028	0.64

Índice de velocidad de germinación (IVG), porcentaje de germinación (PG), longitud de plúmula (LP), longitud de radícula (LR) y materia seca total (MST).

En etapa de plántula, los caracteres MSPA, MSTo y LRa mostraron mayor heredabilidad entre 0.67 y 0.71, por lo que es más probable encontrar asociaciones de estos caracteres con los marcadores SNPs (**Cuadro 3.2**), debido a que hay fuerte influencia genética en la expresión de los caracteres evaluados bajo condiciones salinas. Las varianzas genotípicas respaldan los resultados anteriores ya que variaron de 0.002 a 0.318, lo que hay diversidad genética en la población de las líneas evaluadas.

Cuadro 3.2 Heredabilidad en sentido amplio y varianza genotípica en seis caracteres de líneas de tomate evaluadas en 150 mM de NaCl en etapa de plántula.

Carácter	Repeticiones	Varianza Genotípica σ_g^2	Heredabilidad H^2
AP	3	0.002	0.57
MSR	3	0.318	0.56
MSPA	3	0.080	0.71
MSTo	3	0.083	0.68
LRa	3	0.008	0.67
AF	3	0.004	0.54

Altura de planta (AP), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MSTo), longitud de raíz (LRa) y área foliar (AF).

3.3.2 Evaluación genotípica

El GBS (genotype-by-sequencing) indicó que todos los genotipos presentaron más de 90 % de lecturas correctamente mapeadas (datos no mostrados) y generaron 420,048 SNPs. Después del estricto análisis de filtrado, se detectaron 13,799 SNPs funcionales para el análisis GWAS, con los que se generó la matriz de marcadores SNPs de dimensiones 93 genotipos x 13,799 marcadores SNPs.

La matriz de parentesco, necesaria como covariable para la corrección de posibles asociaciones de tipo falso positivo en el análisis GWAS, calculada a partir de los 13,799 SNPs mostró la poca cercanía genética entre las líneas evaluadas y detectó que no hay estructura en la población, es decir, las líneas son diversas, por lo que no es necesario hacer ajustes por estructura poblacional en el análisis GWAS (**Figura 3.1 A**), lo cual fue corroborado por el análisis de componentes principales (**Figura 3.1 C**) que muestra que con dos componentes principales se explica solamente el 13.5 % de la varianza total (**Figura 3.1 B**).

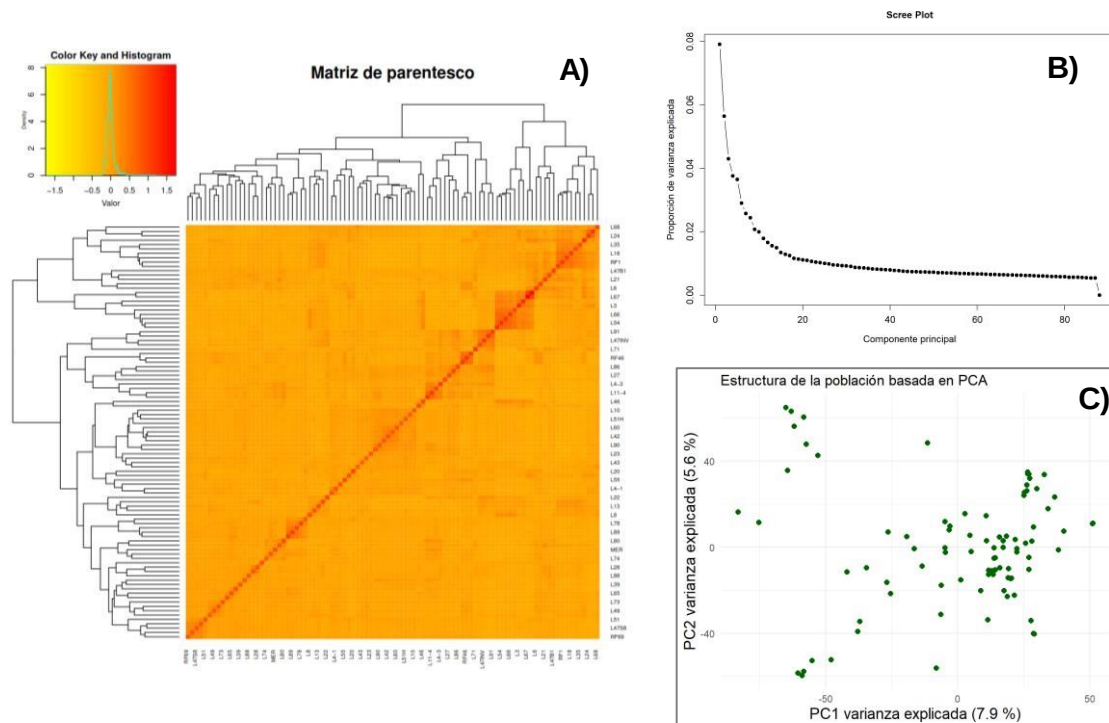


Figura 3.1 A) Matriz de parentesco de 93 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) que muestra la cercanía genética entre ellas. **B)** Gráfico de

decaimiento de la varianza explicada por los componentes principales. **C)** Diagrama de dispersión primer vector propio versus segundo vector propio.

La gráfica de decaimiento de disequilibrio de ligamiento (LD) (**Figura 3.2**), atributo importante para calcular el umbral de los SNPs significativos en el análisis de asociación genómica, indicó que a una distancia de 3.75 Kb el LD $R^2=0.2$, es decir, es la distancia a la cual los SNPs no tienen fuerte correlación. Esta distancia, 3.75 Kb, se utilizó como límite para explorar regiones genómicas en busca de genes candidatos cercanos a los SNPs significativamente asociados con los caracteres evaluados.

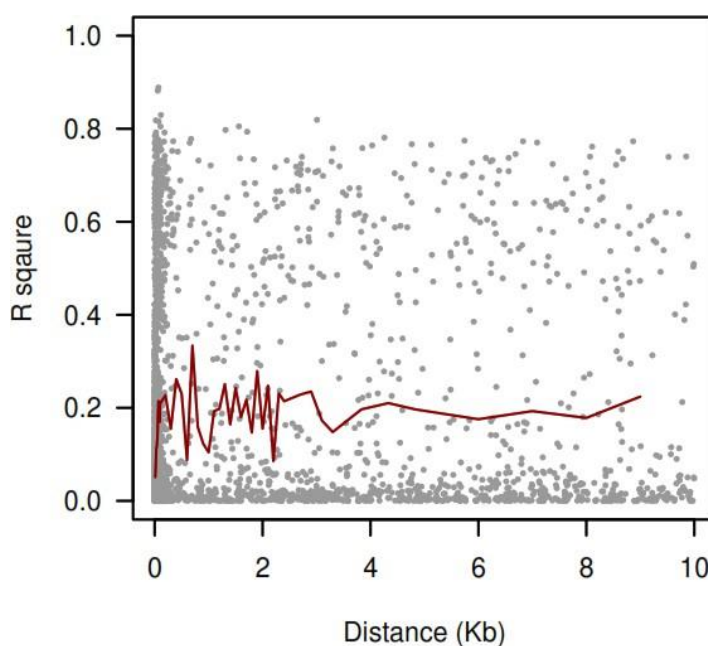


Figura 3.2 Disequilibrio de ligamiento (LD) que representa la disminución promedio de LD en la distribución de marcadores SNPs de 93 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). En el eje Y se presentan los valores de R^2 , mientras que el eje X representa la distancia física en kilobases (kb).

3.3.3 Análisis de asociación genómica para tolerancia a cloruro de sodio en germinación

Los análisis GWAS mediante el modelo lineal mixto identificaron 20 SNPs asociados significativamente con los cinco caracteres evaluados en germinación con base en el umbral de significancia $-\log_{10}(p - \text{valor}) > 3$ (**Figura 3.3 A**). Diez de los marcadores SNPs están descritos en el genoma de referencia

(**Cuadro 3.3**) y los ocho restantes no han sido descritos o la proteína para la cual codifican es desconocida (**Cuadro A3.1**). Los SNPs significativos con anotación funcional se ubicaron a lo largo del genoma del tomate en los cromosomas 1 (1 SNP), 4 (3 SNP), 7 (1 SNP), 9 (1 SNP), 11 (2 SNP) y 12 (2 SNP) y se asociaron principalmente a IVG y LR.

Las gráficas cuantil-cuantil (QQ) para los caracteres evaluados en germinación (**Figura 3.3 B**) muestran los p-valores obtenidos en el análisis de asociación genómica con el modelo lineal mixto (MLM) contra los valores esperados bajo la hipótesis nula o no asociación de los marcadores con los caracteres evaluados en germinación en escala $-\log_{10}(p\text{-valor})$. La mayoría de los SNPs se ajustan a la línea de los valores esperados, por lo que no tienen asociación con los fenotipos en estudio. Los marcadores SNPs que se desvían de la diagonal sugieren asociación con los caracteres evaluados. De los 20 SNPs identificados, siete se asociaron a MSR, cinco a LR, dos a MST, tres a LP, uno a IVG; uno asociado a LP e IVG y uno asociado con PG e IVG.

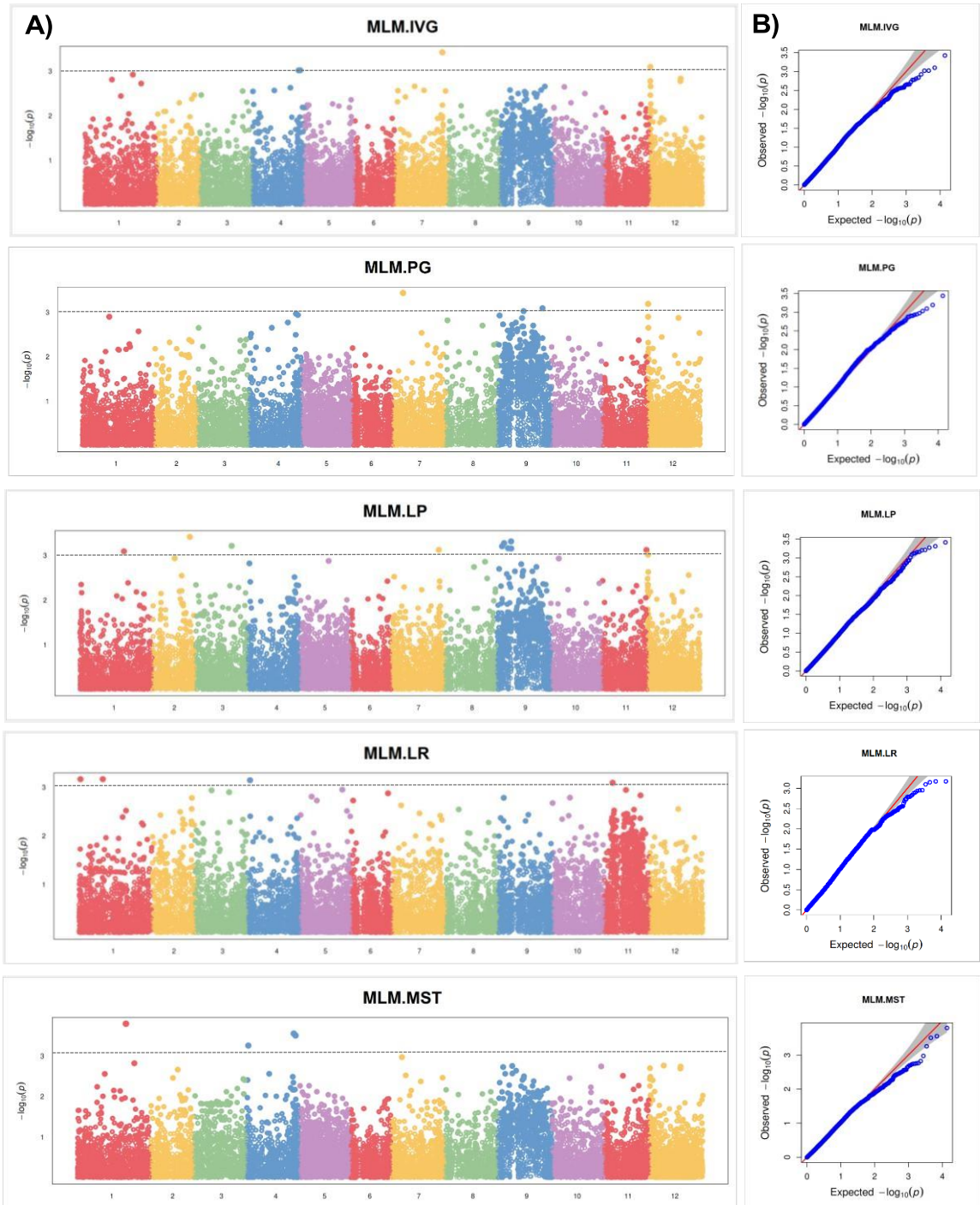


Figura 3.3 A) Gráficos de Manhattan obtenidos con el Modelo Lineal Mixto para índice de velocidad de germinación (IVG), porcentaje de germinación (PG), longitud de plúmula (LP), longitud de radícula (LR) y materia seca total (MST) de plántulas de tomate expuestas a 80 mM de NaCl en etapa de germinación. La línea punteada gris oscuro indica el umbral de significancia. **B)** Gráficos cuantil-cuantil (QQ) basados en $-\log_{10}(p\text{-valor})$ observado versus $-\log_{10}(p\text{-valor})$ esperado.

Cuadro 3.3 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 93 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) evaluadas en 80 mM de NaCl en etapa de germinación para porcentaje de germinación (PG), longitud de plúmula (LP), longitud de radícula (LR), materia seca total (MST) e índice de velocidad de germinación (IVG).

Carácter	Crom	Posición	MAF	(<i>p</i> -valor)	Nombre del gen	Función del gen
LR	1	2264344	0.49	3.17	<i>Solyc01G000234</i>	K04498 - E1A/CREB-binding protein (EP300, CREBBP, KAT3)
LR	4	3479438	0.49	3.15	<i>Solyc04G000377</i>	KOG0226 - RNA-binding proteins
MST	4	2723441	0.17	3.26	<i>Solyc04G000293</i>	PF02893 - GRAM domain (GRAM)
MST, IVG	4	60736979	0.41	3.02	<i>Solyc04G002275</i>	PF00535//PF13632//PF14569 - Glycosyl transferase family 2 (Glycos_transf_2) // Glycosyl transferase family group 2 (Glyco_trans_2_3) // Zinc-binding RING-finger
LP, IVG	7	61071356	0.44	3.42	<i>Solyc07G001914</i>	K15083 - DNA repair protein RAD16 (RAD16)
PG	9	33265902	0.15	3.03	<i>Solyc09G001232</i>	PTHR27003:SF36 - LEUCINE-RICH REPEAT PROTEIN KINASE-LIKE PROTEIN
LP	11	57022081	0.25	3.12	<i>Solyc11G002413</i>	K02908 - large subunit ribosomal protein L30e (RP-L30e, RPL30)
LR	11	10828867	0.11	3.10	<i>Solyc11G000976</i>	IPR001680//IPR001932//IPR015813//PR015943//IPR017986//IPR021135 – WD40 repeat // PPM-type phosphatase domain// Pyruvate/Phosphoenolpyruvate kinase-like domain // WD40/YVTN repeat-like-containing domain // WD40-repeat-containing domain // Phosphoenolpyruvate carboxylase
LP	12	685460	0.25	3.01	<i>Solyc12G000100</i>	K04459 - dual specificity MAP kinase
PG, IVG	12	234131	0.20	3.19	<i>Solyc12G000024</i>	Phosphatase (DUSP, MKP) K10405 - kinesin family member C1 (KIFC1)

Crom: cromosoma, posición en pares de bases, MAF: frecuencia del alelo menor (minor allele frequency), nombre y función del gen de acuerdo con el genoma de referencia ITAG5.0 disponible en <https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>

A partir de la evaluación bajo estrés salino durante germinación se identificaron siete genes involucrados directamente con la respuesta de tolerancia a salinidad (**Cuadro 3.3**). El gen *Solyc04G002275* que codifica para una celulosa sintasa (UDP-glucose-cellulose glucosyltransferase), ayuda a reforzar la pared celular para evitar la pérdida de agua y a protegerse del estrés osmótico, aunque también está involucrada en el crecimiento de la raíz (Zhang et al., 2015).

La región genómica *Solyc04G000293*, gen que contiene el dominio GRAM está relacionada con la tolerancia a salinidad (Tiwari et al., 2021). Las proteínas con dominio GRAM están involucradas en la percepción y regulación del estrés ambiental a través de las vías de señalización a ácido abscísico (ABA), metabolismo de azúcares y aminoácidos (Mauri et al., 2016; Joshi et al., 2024).

El gen *Solyc09G001232* asociado a PG, codifica una proteína quinasa, implicadas en la tolerancia a la sales en tomate; regulan las vías de señalización de ácido abscísico, modulan el metabolismo de las especies reactivas de oxígeno e influyen en la expresión de múltiples genes asociados con la respuesta al estrés (Wang et al., 2020).

El *Solyc12G000100*, gen asociado con la tolerancia a salinidad, codifica una fosfatasa de proteína tirosina (PTPasa), la cual es específica en desfosforilar residuos de tirosina y/o serina/treonina. La PTPasa es un proteína que controla la señalización relacionada con el estrés y puede activar el conjunto MKP (proteína quinasas activadas por mitógenos). El conjunto MKP funciona como regulador de la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y contribuye a la homeostasis iónica, por lo que, la sobreexpresión de PTPasa mejora capacidad de adaptación de las plantas al estrés salino (Xin et al., 2021) y abiótico (Ayatollahi et al., 2022).

Además de los genes directamente asociados con la tolerancia a la salinidad, el GWAS detectó genes involucrados en la reparación de daño al ADN y en la fotosíntesis. El gen *Solyc04G000377* ubicado en el cromosoma 4 y asociado a longitud de radícula codifica proteínas de unión al ARN (RNA-binding proteins), implicadas en el desarrollo y crecimiento de las plantas, regulación génica

postranscripcional y el metabolismo del ARN durante el estrés abiótico (Gururani, 2023). En investigaciones previas, la sobreexpresión de proteínas de unión a ARN ricas en glicina mejoró la tolerancia a estrés salino en líneas transgénicas de *Arabidopsis* (Ortega-Amaro et al., 2015).

La reparación del daño al ADN en condiciones de estrés es de suma importancia para que las células puedan llevar a cabo sus funciones básicas. El análisis GWAS detectó los genes *Solyc01G000234*, que codifican para una proteína histona acetiltransferasa, y *Solyc07G001914*, que codifica una ADN helicasa, involucrados en la reparación del daño del ADN y en la transcripción génica (Jaiswal et al., 2025). La histona acetil transferasa acetila el ADN. La acetilación al ADN permite la activación de genes que participan en la adaptación de la planta a estrés abiótico como sequía y salinidad (Imran et al., 2019; Xing et al., 2022), mediante la regulación del metabolismo de la prolina y la capacidad antioxidante al eliminar las ROS (Liu et al., 2022); mientras que la sobreexpresión de helicasas favorece el crecimiento y contenido de clorofila de plantas expuestas a salinidad (Zhu et al., 2015; Biswas et al., 2018).

Las proteínas kinesinas, son motores moleculares involucrados en el transporte de componentes celulares a lo largo de los microtúbulos y son esenciales para mantener la estructura y función celular (Nebenführ & Dixit, 2018). El gen *Solyc12G000024* ubicado en el cromosoma 12 y asociado a PG e IVG codifica proteínas kinesinas. Investigaciones previas en trigo, algodón y tomate sugieren que las kinesinas podrían regular la tolerancia a sales, ya que la mayor expresión de kinesinas en estos cultivos incrementó cuando las plantas se expusieron a condiciones salinas (Chen et al., 2024; Gu et al., 2023; Kong et al., 2012).

3.3.4 Análisis de asociación genómica para tolerancia a salinidad en plántula

En la prueba de plántula, los análisis de asociación genómica identificaron 24 SNPs significativos asociados a AP, MSR, MSPA, MSTo, LRa y AF (**Figura 3.4 A**). Once SNPs de los 24 identificados tienen anotación funcional (**Cuadro 3.4**) y 13 no han sido descritos en el genoma de referencia o la proteína para la que codifican es aún desconocida (**Cuadro A3.2**). Los 11 SNPs con anotación funcional se encuentran

distribuidos en los cromosomas 1 (2 SNP), 2 (1 SNP), 3 (1 SNP), 4 (4 SNP), 5 (1 SNP), 6 (1 SNP) y 11 (1 SNP) y se asociaron principalmente con AF y LRa. No se encontraron marcadores SNPs con función putativa asociados a MSPA.

Las gráficas cuantil-cuantil (QQ) para los caracteres evaluados en etapa de plántula (**Figura 3.4 B**) muestran los p-valores obtenidos, con el MLM, en el análisis de asociación genómica contra los valores esperados bajo la hipótesis nula o no asociación de los marcadores con los caracteres evaluados en escala $-\log_{10}(p\text{-valor})$. La mayoría de los SNPs se ajustan a la línea de los valores esperados, es decir, no tienen asociación con los fenotipos en estudio, aunque los marcadores SNPs que se desvían de la diagonal sugieren asociación con los caracteres evaluados. De los 24 SNPs identificados; siete se asociaron a MSR, cinco a LRa, cinco a AF, tres a AP, dos a MSTo, uno a MSPA y uno a AF y MSR.

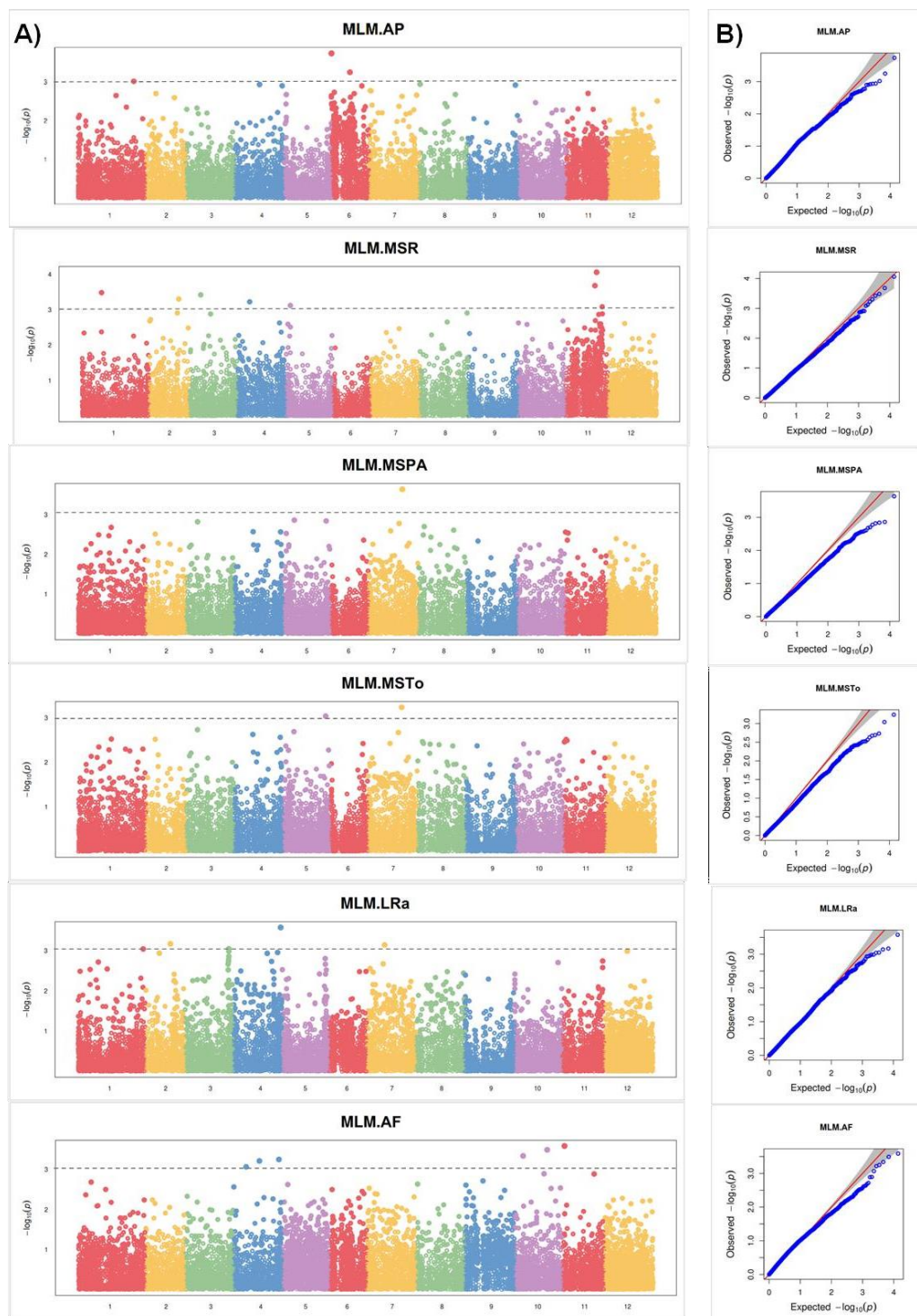


Figura 3.4 A) Gráficos de Manhattan obtenidos con el Modelo Lineal Mixto para altura de planta (AP), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MSTo), longitud de raíz (LRa) y área foliar (AF) de plántulas de tomate en condiciones de 150 mM de NaCl. La línea punteada gris oscuro indica el umbral de significancia. **B)** Gráficos cuantil-cuantil (QQ) basados en $-\log_{10}(p\text{-valor})$ observado versus $-\log_{10}(p\text{-valor})$ esperado.

Cuadro 3.4 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 88 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) evaluadas en 150 mM de NaCl en etapa de plántula para altura de planta (AP), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MSTo), longitud de raíz (LRa) y área foliar (AF).

Carácter	Crom	Posición	MAF	(<i>p</i> -valor)	Nombre del gen	Función del gen
AP	1	76971079	0.19	3.02	<i>Solyc01G002434</i>	IPR013785 - Aldolase-type TIM barrel
LRa	1	90627442	0.13	3.04	<i>Solyc01G004054</i>	K06972 - uncharacterized protein (K06972) THR10209//PTHR10209:SF130 – OXIDOREDUCTASE, 2OG-FE II OXYGENASE FAMILY PROTEIN // SUBFAMILY NOT NAMED
MSR	2	41218238	0.05	3.30	<i>Solyc02G001309</i>	PTHR11926:SF253 - UDP- GLYCOSYLTRANSFERASE 89B1
LRa	3	60638781	0.15	3.05	<i>Solyc03G002741</i>	K08734 - DNA mismatch repair protein MLH1 (MLH1)
AF	4	35784761	0.12	3.21	<i>Solyc04G001216</i>	PTHR10579//PTHR10579:SF55 - CALCIUM- ACTIVATED CHLORIDE CHANNEL REGULATOR // SUBFAMILY NOT NAMED
AF,	4	17395839	0.10	3.07	<i>Solyc04G000915</i>	PTHR23050//PTHR23050:SF167 - CALCIUM BINDING PROTEIN // SUBFAMILY NOT NAMED
MSR	4	65766062	0.15	3.57	<i>Solyc04G002822</i>	PTHR10584//PTHR10584:SF153 - SUGAR KINASE // SUBFAMILY NOT NAMED
LRa	4	59267606	0.21	3.04	<i>Solyc05G002081</i>	K13667 - protein glucosyltransferase (RUMI, KTELC1)
MSTo	5	300816	0.07	3.74	<i>Solyc06G000015</i>	PTHR24055//PTHR24055:SF214 – MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE // MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE 3
AP	6	2841817	0.29	3.59	<i>Solyc11G000340</i>	PTHR11685:SF154 - E3 UBIQUITIN-PROTEIN LIGASE ARI5-RELATED
AF	11					

Crom: cromosoma, posición en pares de bases, MAF: frecuencia del alelo menor (minor allele frequency), nombre y función del gen de acuerdo con el genoma de referencia ITAG5.0 disponible en <https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>

De manera similar al análisis GWAS para los caracteres evaluados en germinación; en la prueba de plántula se identificaron genes con anotación funcional involucrados en la respuesta al estrés salino, aunque también se identificaron genes que no están directamente relacionados con la tolerancia al estrés, pero cumplen funciones básicas como reparación del daño en el ADN, reparación del daño en el cloroplasto e intervienen en la glucólisis y ciclo de Calvin (**Cuadro 3.4**) y mejoran la capacidad de adaptación frente a condiciones de estrés abiótico (Chirinos-Arias & Spampinato, 2021; Rouvinen et al., 2021).

El gen *Solyc02G001309*, que codifica para oxidorreductasa 2OG-FE, está involucrado en la biosíntesis de metabolitos secundarios, desmetilación del ADN, hidroxilación de prolina y biosíntesis de fitohormonas (Kawai et al., 2014). Los genes de la familia Cs2ODD-C en *Camelia sinesis* L., mostraron patrones de expresión diferencial bajo tratamiento de NaCl y PEG, lo que sugiere que desempeñan papeles importantes bajo estrés abiótico como sequía y salinidad (Han et al., 2023).

Los genes *Solyc05G002081* y *Solyc03G002741* asociados a LR y MSTo codifican para proteínas glucosiltransferasas, implicadas en la síntesis de compuestos de pared celular (Amoroso et al., 2023) y síntesis de hormonas como al ácido abscísico (Qiu et al., 2023). En tomate expuesto a NaCl, se indicó la tolerancia a salinidad debido a la sobreexpresión de genes de la familia UDP-glucosiltransferasa (Qiu et al., 2023).

Durante estrés salino prolongado, las plantas acumulan grandes cantidades de iones Cl^- y Na^+ que son tóxicos, por lo que, es necesaria la eliminación de estos iones para así evitar daños celulares (Liu et al., 2021). El análisis GWAS identificó el gen *Solyc04G002486* que codifica para una proteína canal reguladora de cloruro activada por calcio. Los canales de cloruro secuestran el cloro en la vacuola para evitar la toxicidad y mejorar así la tolerancia a salinidad (Subba et al., 2020).

La región genómica *Solyc04G000915* codifica para proteínas de unión al calcio con dominios EF-hand. Las proteínas de unión al calcio incluyen calmodulinas, proteínas parecidas a calmodulinas, proteínas quinasas dependientes de calcio y calcineurina (Zhu, 2016). Las calmodulinas y proteínas parecidas a calmodulinas regulan transportadores de membrana (canales, bombas y antiportadores), factores de transcripción, proteínas quinasas, fosfatasas y enzimas metabólicas (Zeng et al., 2015). En tomate, la expresión génica de proteínas parecidas a calmodulina fue inducida por salinidad, lo que sugiere que las proteínas de unión a calcio están involucradas en la tolerancia a estrés salino (Munir et al., 2016).

El gen *Solyc04G002822* que codifica para una proteína fosfohexoquinasa se asoció con LRA. Las proteínas de la familia de las hexoquinasas son reguladoras en el metabolismo de la sacarosa, catalizan la fosforilación de hexosas, modulan el crecimiento de las plantas y están involucradas en la adaptación al estrés (Han et al., 2022). En soya, genes GmHXK2 que codifican hexoquinasas, mostraron mayor expresión en raíz cuando las plantas se expusieron a NaCl, además se mejoró la capacidad de eliminar especies reactivas de oxígeno, lo que sugiere su participación en la tolerancia a estrés salino (Chen et al., 2023).

La ubiquitina ligasa E3 con dominio RING, codificada por el gen *Solyc11G000340* y asociada a AF, participa en la tolerancia a salinidad, tiene capacidad antioxidante, promueve el cierre estomático inducido por ABA, participa en el desarrollo de raíces, crecimiento de diferentes órganos y marca proteínas específicas para su degradación (Ding et al., 2015; Shu & Yan, 2017). En tomate evaluado en condiciones salinas el gen *MdATL16*, ubiquitina ligasa E3 tipo RING, mostró mayor expresión génica respecto al testigo y participó en eliminación de especies reactivas de oxígeno e indujo la expresión de genes antioxidantes los que codifican para enzimas y proteínas que ayudan a neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), los radicales superóxido (O_2^-) y los radicales hidroxilo (OH^-) (Yuan et al., 2024).

La región genómica *Solyc06G000015* relacionada a proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), juegan un rol importante en la tolerancia a salinidad; participa en la transducción de señales mediante la fosforilación de diversos sustratos como enzimas, componentes estructurales y factores de transcripción (González-Coronel & Guevara-García, 2021). Tomates transgénicos evaluados en condiciones de salinidad tuvieron sobreexpresión de *SIMAKP3*, así como mayor peso fresco, altura de planta y longitud de raíz respecto a las plantas de tomate que no contenían el gen *MAKP3* por lo que se sugiere que dicho gen está implicado en la tolerancia al estrés salino (Shu et al., 2022).

En los cromosomas 1 y 4 se encontraron genes que podrían estar asociados con la tolerancia a la salinidad: el gen *Solyc01G002434* codifica para enzima aldolasa, encargada de la formación de los enlaces carbono-carbono (C-C) en la síntesis de metabolitos, participa en la glucólisis y ciclo de Calvin (Rouvinen et al., 2021). En la región genómica *Solyc01G004054*, se encontró una proteína que no se ha caracterizado, aunque se sabe que codifica para proteasas, esenciales en la reparación de daños inducidos por luz excesiva en los fotosistemas del cloroplasto y que participan en la maduración y mantenimiento de los complejos fotosintéticos (Nishimura et al., 2016). El gen *Solyc04G001216* asociado a una proteína de reparación de desajustes de ADN, encargada de reconocer y corregir los desajustes generados por errores de replicación e intermediarios de recombinación y factores tóxicos (Chirinos-Arias & Spampinato, 2021).

Los análisis GWAS se han convertido en una estrategia reconocida para asociar genotipos-fenotipos en diferentes especies y emplearse como herramienta eficiente en el mejoramiento genético de plantas (Wang et al., 2016).

Después de la identificación de SNPs significativamente asociados en los análisis GWAS, se realiza la validación funcional de los genes mediante técnicas complementarias como reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con transcripción reversa (RT-qPCR) o la secuenciación de ARN (ARN-seq) para confirmar el efecto del alelo sobre el fenotipo; posteriormente, los genes

validados pueden ser incorporados en programas de mejoramiento genético asistido por marcadores, lo que permite la selección temprana de genotipos portadores de alelos favorables durante las etapas iniciales del desarrollo vegetal (Naeem et al., 2021). En este contexto, nuestros resultados mostraron que genes relacionados con la tolerancia a salinidad en el cultivo de tomate, pueden ser detectados desde etapas tempranas de crecimiento.

Las regiones genómicas o genes significativos con anotación funcional se asociaron directamente con la tolerancia a salinidad. Los genes desempeñan funciones como eliminación de especies reactivas de oxígeno, mantenimiento de la homeóstasis iónica, regulación de las vías de señalización del ácido abscísico y biosíntesis de metabolitos secundarios como la prolina.

En contraste, se identificaron genes o regiones genómicas significativos y con anotación funcional que no están directamente involucrados en la tolerancia a salinidad, pero desempeñan funciones importantes en la adaptación de las plántulas al estrés salino como: regulación de la estructura de la cromatina, regulación génica, reparación del ADN, reparación de daños en el cloroplasto y mantenimiento de la estructura y función de las células.

3.4 Conclusiones

Los análisis GBS y GWAS permiten identificar SNPs y genes implicados en la tolerancia a salinidad en etapas iniciales del crecimiento del tomate.

Los mayoría de los genes con anotaciones funcionales están involucrados en los mecanismos de tolerancia a estrés abiótico; participan en la actividad antioxidante, síntesis y regulación de hormonas, transportadores de membrana plasmática y mecanismos de reparación y detoxificación.

Se identificaron genes con funciones similares en ambas etapas de crecimiento (germinación y plántula), mismos que deben ser considerados en los programas de mejoramiento genético.

Los resultados obtenidos destacan el potencial de los análisis GBS y GWAS como herramienta adecuada para la identificación de genes asociados a la tolerancia a la salinidad, los cuales, pueden ser validados y aprovechados posteriormente como marcadores moleculares en programas de mejoramiento genético, contribuyendo así a reducir el periodo necesario para el desarrollo de variedades con mayor adaptación a condiciones salinas.

3.4 Literatura citada

- Afzal, M., Hindawi, S. E. S., Alghamdi, S. S., Migdadi, H. H., Khan, M. A., Hasnain, M. U., Arslan, M., Rahman, M. H., & Sohaib, M. (2023). Potential breeding strategies for improving salt tolerance in crop plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(6), 3365-3387. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10797-w>
- Alvarado, G., Rodríguez, F. M., Pacheco, A., Burgueño, J., Crossa, J., Vargas, M., Pérez-Rodríguez, P., & Lopez-Cruz, M. A. (2020). META-R: A software to analyze data from multi-environment plant breeding trials. *The Crop Journal*, 8(5), 745–756. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.03.010>
- Amoroso, C. G., D'Esposito, D., Aiese Cigliano, R., & Ercolano, M. R. (2023). Comparison of tomato transcriptomic profiles reveals overlapping patterns in abiotic and biotic stress responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), Article 4061. <https://doi.org/10.3390/ijms24044061>
- Ayatollahi, Z., Kazanaviciute, V., Shubchynskyy, V., Kvederaviciute, K., Schwanninger, M., Rozhon, W., Stumpe, M., Mauch, F., Bartels, S., Ulm, R., Balazadeh, S., Mueller-Roeber, B., Meskiene, I., & Schweighofer, A. (2022). Dual control of MAPK activities by AP2C1 and MKP1 MAPK phosphatases regulates defense responses in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 73(8), 2369-2384. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac018>
- Biswas, S., Amin, U. M., Sarker, S., Rahman, M. S., Amin, R., Karim, R., Tuteja, N., & Seraj, Z. I. (2018). Introgression, generational expression and salinity tolerance conferred by the pea DNA helicase 45 transgene into two commercial rice genotypes, BR28 and BR47. *Molecular Biotechnology*, 60, 111-123. <https://doi.org/10.1007/s12033-017-0055-2>
- Cadahia López, C. (2000). *Fertirrigación: cultivos hortícolas y ornamentales* (2nd). Ed; Mundiprensa.
- Chen, Q., Ren, Y., Yan, Q., Zheng, Z., Zhang, G., Ma, L., Song, Q., & Niu, N. (2024). Genome-wide identification and expression analysis of the kinesin gene superfamily suggests roles in response to abiotic stress and fertility

- of wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC genomics*, 25(1), Article 1223.
<https://doi.org/10.1186/s12864-024-11156-7>
- Chen, S., Tian, Z., & Guo, Y. (2023). Characterization of hexokinase gene family members in Glycine max and functional analysis of GmHXK2 under salt stress. *Frontiers in Genetics*, 14, Article 1135290.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1135290>
- Chirinos-Arias, M. C., & Spampinato, C. P. (2021). Role of the mismatch repair protein MSH7 in *Arabidopsis* adaptation to acute salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 280-290.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.11.029>
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., McVean, G., Durbin, R., & 1000 Genomes Project Analysis Group. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), 2156-2158.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>
- Danecek, P., Bonfield, J. K., Liddle, J., Marshall, J., Ohan, V., Pollard, M. O., Whitwham, A., Keane, T., McCarthy, S. A., Davies, R. M., & Li, H. (2021). Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*, 10(2), Article giab008. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>
- Das, M. K., Park, S., Adhikari, N. D., & Mou, B. (2024). Genome-wide association study of salt tolerance at the seed germination stage in lettuce. *PLOS One*, 19(10), Article e0308818.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0308818>
- Deanda-Tovar, A. A., Rodríguez-Pérez, J. E., Sahagún-Castellanos, J., Colinas-y-León, M. T. B., Pérez-Rodríguez, P., & Paredes-Cervantes, A. E. (2025). Tomato lines tolerant to sodium chloride at early growth stages. *Horticulturae*, 11(5), Article 532.
<https://doi.org/10.3390/horticulturae11050532>
- Ding, S., Zhang, B., & Qin, F. (2015). Arabidopsis RZFP34/CHYR1, a ubiquitin E3 ligase, regulates stomatal movement and drought tolerance via SnRK2. 6-mediated phosphorylation. *The Plant Cell*, 27(11), 3228-3244.
<https://doi.org/10.1105/tpc.15.00321>
- Diouf, I. A., Derivot, L., Bitton, F., Pascual, L., & Causse, M. (2018). Water deficit and salinity stress reveal many specific QTL for plant growth and fruit quality traits in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 9, Article 279.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00279>
- FAO. *The State of Food and Agriculture 2022*. (2022). *Leveraging automation in agriculture for transforming agrifood systems*; FAO.
- González-Coronel, J. M., & Guevara-García, Á. A. (2022). La participación de las cinasas de proteínas activadas por mitógenos en la señalización por hormonas en *Arabidopsis thaliana* L. *TIP Revista Especializada en*

- González-Grande, P., Suárez, N., & Marín, O. (2020). Effect of salinity and seed salt priming on the physiology of adult plants of *Solanum lycopersicum* cv. 'Río Grande'. *Brazilian Journal of Botany*, 43(4), 775–787. <https://doi.org/10.1007/s40415-020-00636-1>
- Gu, L., Wei, F., Chen, P., Yang, M., & Liu, Z. (2023). Genome-wide identification and characterization of the kinesin gene family in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Industrial Crops and Products*, 204, Article 117246. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117246>
- Gururani, M. A. (2023). Plant RNA-binding proteins as key players in abiotic stress physiology. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 11(1), 41-53. [http://dx.doi.org/10.18006/2023.11\(1\).41.53](http://dx.doi.org/10.18006/2023.11(1).41.53)
- Han, J., Wang, X., & Niu, S. (2023). Genome-wide identification of 2-oxoglutarate and fe (ii)-dependent dioxygenase (2odd-c) family genes and expression profiles under different abiotic stresses in *Camellia sinensis* (L.). *Plants*, 12(6), Article 1302. <https://doi.org/10.3390/plants12061302>
- Han, M., Xu, X., Xiong, Y., Wei, H., Yao, K., Huang, T., Long, Y., & Su, T. (2022). Genome-wide survey and expression analyses of hexokinase family in poplar (*Populus trichocarpa*). *Plants*, 11(15), Article 2025. <https://doi.org/10.3390/plants11152025>
- Holland, J. B., & Piepho, H. P. (2024). Don't BLUP twice. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 14(12), Article jkae250. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkae250>
- Huang, X.; Han, B. (2014). Natural variations and genome-wide association studies in crop plants. *Annual Review of Plant Biology*, 65, 531–551.
- Imran, M., Shafiq, S., Farooq, M. A., Naeem, M. K., Widemann, E., Bakhsh, A., Jensen, K. B., & Wang, R. R.-C. (2019). Comparative genome-wide analysis and expression profiling of histone acetyltransferase (HAT) gene family in response to hormonal applications, metal and abiotic stresses in cotton. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21), Article 5311. <https://doi.org/10.3390/ijms20215311>
- Jaiswal, N., Liao, C. J., Hewavidana, A. I., & Mengiste, T. (2025). GCN5-related histone acetyltransferase HOOKLESS2 regulates fungal resistance and growth in tomato. *New Phytologist*, 246(3), 1217-1235. <https://doi.org/10.1111/nph.70025>
- Javid, S., Bihamta, M.R., Omid, M., Abbassi, A. R., Alipour, H., Ingvarsson, P. K. (2022). Genome-wide association study (GWAS) and genome prediction of seedling salt tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*, 22, Article 581. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03936-8>

- Joshi, H., Tiwari, S., Berendzen, K., Mishra, S. K., Prasad, V., Harter, K., & Chauhan, P. S. (2024). Novel nucleus-localized GRAM protein encoding OsGRAM57 gene enhances salt tolerance through ABA-dependent pathway and modulated carbohydrate metabolism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 273, Article 132683. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132683>
- Kawai, Yosuke, Eiichiro Ono, and Masaharu Mizutani. Evolution and diversity of the 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase superfamily in plants. 2014. *The Plant Journal*, 78(2), 328-343. <https://doi.org/10.1111/tpj.12479>
- Kim, M., Nguyen, T. T. P., Ahn, J. H. Kim, G. J., & Sim, S. C. (2021). Genome-wide association study identifies QTL for eight fruit traits in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Horticulture Research*, 8, Article 203. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00638-4>
- Kong, F., Wang, J., Cheng, L., Liu, S., Wu, J., Peng, Z., & Lu, G. (2012). Genome-wide analysis of the mitogen-activated protein kinase gene family in *Solanum lycopersicum*. *Gene*, 499(1), 108-120. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.01.048>
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9(4), 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R., & 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. (2009). The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078–2079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
- Li, X., Guo, D., Xue, M., Li, G., Yan, Q., Jiang, H., Liu, H., Chen, J., Gao, Y., Duan, L., & Xie, L. (2022). Genome-wide association study of salt tolerance at the seed germination stage in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Genes*, 13(3), Article 486. <https://doi.org/10.3390/genes13030486>
- Lin, T., Zhu, G., Zhang, J., Xu, X., Yu, Q., Zheng, Z., Zhang, Z., Lun, Y., Li, S., Wang, X., Huang, Li, J., Zhang, C., Wang, T., Zhang, Y., Lin., K., Li, C., Xiong, G., Xue, Y., Mazzucato, A., Causse, M., Fei, Z., Giovannoni, J. J., Chetelat, R. T., Zamir, D., Stadler, T., Li, J., Ye, Z., Du, Y., & Huang, S. (2014). Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature Genetics*, 46(11), 1220-1226. <https://doi.org/10.1038/ng.3117>
- Liu, J., Fu, C., Li, G., Khan, M. N., & Wu, H. (2021). ROS homeostasis and plant salt tolerance: plant nanobiotechnology updates. *Sustainability*, 13(6), Article 3552. <https://doi.org/10.3390/su13063552>
- Liu, X., Li, A., Wang, S., Lan, C., Wang, Y., Lan, C. Li, J., & Zhu, J. (2022). Overexpression of *Pyrus sinkiangensis* HAT5 enhances drought and salt

- tolerance, and low-temperature sensitivity in transgenic tomato. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 1036254. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1036254>
- Liu, Z., Jiang, J., & Li, J. (2023). GWAS characterization of the genetic regions associated with nine important agronomic traits in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Agronomy*, 13(5), Article 1191. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051191>
- López-Méndez, A. G., Rodríguez-Pérez, J. E., Mascorro-Gallardo, J. O., Sahagún-Castellanos, J., & Lobato-Ortiz, R. (2024). Sodium chloride tolerance during germination and seedling stages of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines native to Mexico. *Horticulturae*, 10(5), Article 466. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10050466>
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2), 176–177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- Mauri, N., Fernández-Marcos, M., Costas, C., Desvoves, B., Pichel, A., Caro, E., & Gutierrez, C. (2016). GEM, a member of the GRAM domain family of proteins, is part of the ABA signaling pathway. *Scientific Reports*, 6(1), Article 22660. <https://www.nature.com/articles/srep22660>
- Munir, S., Khan, M. R. G., Song, J., Munir, S., Zhang, Y., Ye, Z., & Wang, T. (2016). Genome-wide identification, characterization and expression analysis of calmodulin-like (CML) proteins in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 102, 167-179. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.020>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 5, 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Naeem, M., Demirel, U., Yousaf, M. F., Caliskan, S., & Caliskan, M. E. (2021). Overview on domestication, breeding, genetic gain and improvement of tuber quality traits of potato using fast forwarding technique (GWAS): a review. *Plant Breeding*, 140(4), 519-542. <https://doi.org/10.1111/pbr.12927>
- Nebenführ, A., & Dixit, R. (2018). Kinesins and myosins: molecular motors that coordinate cellular functions in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 69(1), 329-361. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040024>
- Nishimura, K., Kato, Y., & Sakamoto, W. (2016). Chloroplast proteases: updates on proteolysis within and across suborganellar compartments. *Plant Physiology*, 171(4), 2280-2293. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00330>

- Podbielska, A., & Piórkowska, K. (2022). Genotyping-by-sequencing (GBS) as a tool for interspecies hybrid detection. *Annals of Animal Science*, 22(4), 1185-1192. <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0063>
- Qiu, L., Chen, X., Hou, H., Fan, Y., Wang, L., Zeng, H., Chen, X., Ding, Y., Hu, X., Yan, Q., Ma, Q., & Li, J. (2023). Genome-wide characterization of the tomato UDP-glycosyltransferase gene family and functional identification of *SIUDPGT52* in drought tolerance. *Horticulture Advances*, 1, Article 14. <https://doi.org/10.1007/s44281-023-00016-1>
- Rouvinen, J., Andberg, M., Pääkkönen, J., Hakulinen, N., & Koivula, A. (2021). Current state of and need for enzyme engineering of 2-deoxy-D-ribose 5-phosphate aldolases and its impact. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(16), 6215-6228. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11462-0>
- Sadder, M. T., Ali, A. A. M., Alsadon, A. A., & Wahb-Allah, M. A. (2025). Long-term salinity-responsive transcriptome in advanced breeding lines of tomato. *Plants*, 14(1), Article 100. <https://doi.org/10.3390/plants14010100>
- Safdar, H.; Amin, A.; Shafiq, Y.; Ali, A.; Yasin, R.; Shoukat, A.; Hussan, M.U.I.; Sarwar, M.I. (2019). Impact of salinity on plant growth. *Nature and Science*, 17, 34–40. <https://doi.org/10.7537/marsnsj170119.06>
- Shu, K., & Yang, W. (2017). E3 ubiquitin ligases: ubiquitous actors in plant development and abiotic stress responses. *Plant and Cell Physiology*, 58(9), 1461-1476. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx071>
- Shu, P., Li, Y., Li, Z., Sheng, J., & Shen, L. (2022). *SIMAPK3* enhances tolerance to salt stress in tomato plants by scavenging ROS accumulation and up-regulating the expression of ethylene signaling related genes. *Environmental and Experimental Botany*, 193, Article 104698. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104698>
- Simko, I., Jia, M., Venkatesh, J., Kang, B. C., Weng, Y., Barcaccia, G., Lanteri, S., Bhattarai, G., & Foolad, M. R. (2021). Genomics and marker-assisted improvement of vegetable crops. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 40(4), 303-365. <https://doi.org/10.1080/07352689.2021.1941605>
- Singh, A. K., Pal, P., Sahoo, U. K., Sharma, L., Pandey, B., Prakash, A., Sarangi, P. K., Prus, P., Paşcalău, R., & Imbrea, F. (2024). Enhancing crop resilience: the role of plant genetics, transcription factors, and next-generation sequencing in addressing salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23), Article 12537. <https://doi.org/10.3390/ijms252312537>

- Subba, A., Tomar, S., Pareek, A., & Singla-Pareek, S. L. (2021). The chloride channels: silently serving the plants. *Physiologia Plantarum*, 171(4), 688-702. <https://doi.org/10.1111/ppl.13240>
- Tiwari, S., Muthamilarasan, M., & Lata, C. (2021). Genome-wide identification and expression analysis of Arabidopsis GRAM-domain containing gene family in response to abiotic stresses and PGPR treatment. *Journal of Biotechnology*, 325, 7-14. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.11.021>
- Wang J., & Zhang Z. (2021). GAPIT Version 3: Boosting power and accuracy for genomic association and prediction. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 19(4), 629-640. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005>
- Wang, N., Zhong, X., Cong, Y., Wang, T., Yang, S., Li, Y., & Gai, J. (2016). Genome-wide analysis of phosphoenolpyruvate carboxylase gene family and their response to abiotic stresses in soybean. *Scientific Reports*, 6(1), Article 38448. <https://doi.org/10.1038/srep38448>
- Wang, W. R., Liang, J. H., Wang, G. F., Sun, M. X., Peng, F. T., & Xiao, Y. S. (2020). Overexpression of PpSnRK1 α in tomato enhanced salt tolerance by regulating ABA signaling pathway and reactive oxygen metabolism. *BMC Plant Biology*, 20, Article 128. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02342-2>
- Wang, Z., Hong, Y., Li, D., Wang, Z., Chao, Z. F., Yu, Y., Zhu, G., & Zhu, J. K. (2024). Association analysis provides insights into molecular evolution in salt tolerance during tomato domestication. *Plant Physiology*, 196(4), 2721-2729. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiae516>
- Xin, J., Li, C., Ning, K., Qin, Y., Shang, J. X., & Sun, Y. (2021). AtPFA-DSP3, an atypical dual-specificity protein tyrosine phosphatase, affects salt stress response by modulating MPK3 and MPK6 activity. *Plant, Cell & Environment*, 44(5), 1534-1548. <https://doi.org/10.1111/pce.14002>
- Xing, G., Jin, M., Qu, R., Zhang, J., Han, Y., Han, Y., Han, Y., Li, X., Ma, F. & Zhao, X. (2022). Genome-wide investigation of histone acetyltransferase gene family and its responses to biotic and abiotic stress in foxtail millet (*Setaria italica* [L.] P. Beauv). *BMC Plant Biology*, 22(1), Article 292. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03676-9>
- Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W. H., Vroh Bi, I., Yamasaki, M., Doebley, J. F., McMullen, M. D., Gaut, B. S., Nielsen, D. M., Holland, J. B., Kresovich, S., & Buckler, E. S. (2006). A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nature Genetics*, 38(2), 203-208. <https://doi.org/10.1038/ng1702>
- Yuan, P., Wei, Y., Gao, X., Song, C., Jiao, J., Wang, M., Zhang, K., Song, S., Zheng, X., & Bai, T. (2024). The RING-H2 type E3 ubiquitin ligase gene *MdATL16* positively regulates salt tolerance in transgenic tomato and

apple. *Environmental and Experimental Botany*, 220, Article 105689.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2024.105689>

- Zeng, H., Xu, L., Singh, A., Wang, H., Du, L., & Poovaiah, B. W. (2015). Involvement of calmodulin and calmodulin-like proteins in plant responses to abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 6, Article 600.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00600>
- Zhang, S. S., Sun, L., Dong, X., Lu, S. J., Tian, W., & Liu, J. X. (2015). Cellulose synthesis genes CESA6 and CSI1 are important for salt stress tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 58(7), 623-626.
<https://doi.org/10.1111/jipb.12442>
- Zhu, J. K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>
- Zhu, M., Chen, G., Dong, T., Wang, L., Zhang, J., Zhao, Z., & Hu, Z. (2015). SIDEAD31, a putative DEAD-box RNA helicase gene, regulates salt and drought tolerance and stress-related genes in tomato. *PLOS One*, 10(8), Article e0133849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133849>
- Zörb, C., Geilfus, C. M., & Dietz, K. J. (2019). Salinity and crop yield. *Plant Biology*, 21(S1), 31–38. <https://doi.org/10.1111/plb.12884>

Anexo

Cuadro A3.1 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 93 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) evaluadas en 80 mM de NaCl en etapa de germinación para porcentaje de germinación (PG), longitud de plúmula (LP), longitud de radícula (LR), materia seca total (MST) e índice de velocidad de germinación (IVG).

Carácter	Crom	Posición	MAF	(p-valor)	Nombre del gen	Función del gen
LP	1	56939793	0.09	3.09	<i>Solyc01G001457</i>	Proteína desconocida
MSR	1	27340789	0.06	3.48	NI	NI
LR	2	34985367	0.20	3.17	NI	NI
MSR	3	16276528	0.10	3.42	NI	NI
MSR	5	6446240	0.32	3.12	NI	NI
LR	7	24757386	0.09	3.14	NI	NI
MST	7	46681952	0.07	3.64	NI	NI
MSR	11	42693900	0.06	4.06	NI	NI
MSR	11	40401554	0.07	3.68	NI	NI
MSR	11	50476844	0.07	3.09	NI	NI

Crom: cromosoma, posición en pares de bases, MAF: frecuencia del alelo menor (minor allele frequency), nombre y función del gen de acuerdo con el genoma de referencia ITAG5.0 disponible en <https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>, NI: no identificado.

Cuadro A3.2 SNPs identificados mediante el modelo lineal mixto (MLM) en 88 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) evaluadas en 150 mM de NaCl en etapa de plántula para altura de planta (AP), materia seca de raíz (MSR), materia seca de parte aérea (MSPA), materia seca total (MSTo), longitud de raíz (LRa) y área foliar (AF).

Carácter	Crom	Posición	MAF	(p-valor)	Nombre del gen	Función del gen
MSR	1	27340789	0.06	3.48	NI	NI
LRa	2	34985367	0.20	3.17	NI	NI
MSR	3	16276528	0.10	3.42	NI	NI
MSR	5	6446240	0.32	3.12	NI	NI
AP	6	25668425	0.07	3.25	NI	NI
LRa	7	24757386	0.09	3.14	NI	NI
MSPA	7	46681952	0.07	3.64	NI	NI
MSTo	7	46681952	0.07	3.24	NI	NI
AF	10	11509690	0.14	3.34	<i>Solyc10G000782</i>	Proteína desconocida
AF	10	44898051	0.10	3.49	NI	NI
MSR	11	42693900	0.06	4.06	NI	NI
MSR	11	40401554	0.07	3.68	NI	NI
MSR	11	50476844	0.07	3.09	NI	NI

Crom: cromosoma, posición en pares de bases, MAF: frecuencia del alelo menor (minor allele frequency), nombre y función del gen de acuerdo con el genoma de referencia ITAG5.0 disponible en <https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>, NI: no identificado.

CAPÍTULO 4. EXPRESIÓN DE GENES DE TOLERANCIA A CLORURO DE SODIO EN CINCO GENOTIPOS DE TOMATE

Resumen

La salinidad causada por NaCl altera la homeostasis iónica, el metabolismo y diversas funciones de las células. Para tolerar el estrés, las plantas expuestas a salinidad activan diversos mecanismos de tolerancia y genes específicos que favorecen su supervivencia y productividad. El objetivo de esta investigación fue medir el nivel de expresión de siete genes de tolerancia a salinidad en cinco genotipos de tomate mediante la aplicación de NaCl. Se evaluaron plántulas de cuatro líneas, así como el híbrido comercial El Cid con 125 mM de NaCl y testigo bajo un sistema de balsa flotante. La unidad experimental fue una plántula. El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. Se midió el nivel de expresión de siete genes de tolerancia a salinidad, para lo cual, se extrajo ARN de las plántulas en condición salina y testigo mediante el método TRIzol®, seguido de la obtención de ANDc mediante transcripción reversa (RT), se realizó la amplificación de siete genes de tolerancia a salinidad mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se midió la densidad de los productos amplificados mediante el software ImageJ para determinar de manera semicuantitativa la expresión génica. La prueba de Kruskal-Wallis mostró significancia para el nivel de expresión de todos los genes de tolerancia a salinidad ($P \leq 0.05$) y las comparaciones múltiples de rangos indicaron diferencias en el nivel de expresión génica en las condiciones salina y testigo dentro de cada genotipo; sin embargo, no se identificaron genotipos con mayor nivel de expresión de los genes en condiciones salinas en comparación con el testigo.

Palabras clave: sobreexpresión, *Solanum lycopersicum* L., estrés, RT-PCR.

4.1 Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia a nivel mundial debido a su amplia distribución y elevado consumo (FAOSTAT, 2018). El cultivo está ampliamente adaptado a climas templados (Ramírez-Ojeda et al., 2022), lo que implica que puede enfrentarse a diferentes tipos de estrés

causados por factores abióticos que afectan significativamente su rendimiento (Gerszberg y Hnatuszko-Konka, 2017). La salinidad es una de las principales problemáticas de suelos agrícolas y agua de riego, es originada por la acumulación de sales, principalmente sulfatos y cloruros, aunque el cloruro de sodio es la más común (Munns y Tester, 2008). La exposición a condiciones salinas disminuye el crecimiento y desarrollo de las plantas, lo que conlleva pérdidas significativas en su calidad y rendimiento (Van Zelm et al., 2020).

La salinidad causada por NaCl altera la homeostasis iónica, el metabolismo y diversas funciones de las células (Isayenkov y Maathius, 2019). En la fase inicial de la exposición a la condición salina, la elevada presión osmótica generada por el NaCl provoca estrés hídrico, posteriormente, durante estrés salino prolongado, la excesiva acumulación de iones Na^+ y Cl^- generan toxicidad iónica que causa daño directo a la células (Munns y Tester, 2008). El Na^+ interfiere con la actividad enzimática y compromete la integridad de las membranas celulares, mientras que el Cl^- altera la estructura del cloroplasto y reduce la fotosíntesis (Li et al., 2024). Además, la salinidad inhibe la síntesis de pigmentos fotosintéticos y osmoprotectores, promueve la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), debilita los procesos metabólicos y limita la absorción de nutrientes esenciales (Zhang et al., 2022).

Para tolerar el estrés salino, las plantas activan una serie de mecanismos fisiológicos, morfológicos y genes específicos que favorecen su supervivencia y productividad (Isayenkov y Maathuis, 2019). La tolerancia a salinidad está asociada con mecanismos de ajuste osmótico, exclusión y acumulación de iones Na^+ y Cl^- en vacuolas y tejidos (Munns y Tester, 2008), y con la expresión de genes, que mejora la capacidad adaptativa de la planta frente a condiciones adversas. Entre estos genes destacan aquellos que codifican para proteínas transportadoras de iones, así como los involucrados en la biosíntesis de metabolitos secundarios y hormonas del crecimiento (Zhang et al., 2020).

Los genes *NHX1*, *SOS1* y *AVP1* codifican proteínas clave en el transporte del Na^+ , desempeñan funciones esenciales en el secuestro o expulsión de estos iones tóxicos, lo que contribuye a mantener la homeostasis iónica bajo condiciones salinas (Nguyen et al., 2019; Hualpa-Ramírez et al., 2024; Ellouzi et al., 2024). Ante alta concentración de Na^+

en la planta, se activa la compartimentación de este ion en vacuolas y la maquinaria de protección de tejidos (Lu et al., 2023).

El antiportador NHX1 facilita la compartimentación de Na^+ mediante un intercambio Na^+ / H^+ utilizando el gradiente de protones para transportar el Na^+ hacia la vacuola (Hualpa-Ramírez et al., 2024), SOS1 (Salt Overly Sensitive 1) expulsa los iones tóxicos del citoplasma celular y regula el transporte de Na^+ a larga distancia (Ellouzi et al., 2024) y AVP1 (Vacuolar H^+ ATPasa) codifica una bomba de protones H^+ responsable de mantener el pH celular, condición fundamental para la acumulación de Na^+ en la vacuola (Nguyen et al., 2019).

Los factores de transcripción DREB y MYB desempeñan un papel crucial en la regulación de la tolerancia al estrés salino, actúan como moduladores de la expresión génica mediante la unión a regiones promotoras específicas (Hichri et al., 2015). Los factores DREB (Dehydration Responsive Element Binding) regulan la expresión de genes implicados en las vías de señalización de auxina, etileno y ácido abscísico, además de inducir la expresión de genes sensibles al estrés por sequía y salinidad (Hichri et al., 2015; Guo et al., 2019). Los factores MYB contribuyen a la mitigación del daño oxidativo al reducir la acumulación de especies reactivas de oxígeno, incrementar la actividad antioxidante y regular la expresión de genes relacionados con la deshidratación, biosíntesis y acumulación de metabolitos secundarios (Yoo et al., 2005; Li et al., 2024).

El gen TPS (Trehalosa-6-fosfato-sintasa) es fundamental en la biosíntesis de la trehalosa, un disacárido con funciones protectoras frente al estrés salino (Lyu et al., 2012). La trehalosa actúa como osmolito, estabiliza las proteínas de las membranas celulares y participa en la regulación del cierre estomático durante condiciones de sequía, lo que favorece la tolerancia de la planta (Tekdal, 2021; Kumar et al., 2022).

Se ha demostrado que la sobreexpresión de los genes NHX1, AVP1 (Bashkaran y Savithramma 2011), TPS (Lyu et al., 2012) y los factores de transcripción MYB (Zhang et al., 2020) y DREB (Hichri et al., 2015) mejoran la capacidad adaptativa del tomate frente al estrés salino. Además, la expresión combinada de dos o más de estos genes potencia significativamente la tolerancia a la salinidad, lo que sugiere una interacción sinérgica

entre sus funciones en la regulación de la homeostasis iónica, la osmorregulación y la respuesta antioxidante (Bashkaran y Savithramma, 2011).

Una de las técnicas más utilizadas para determinar la expresión génica es la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) aunque una de sus desventajas es que es un método costoso; sin embargo, puede emplearse un método alternativo, la reacción en cadena de la polimerasa semicuantitativa (RT-PCR) (Andoofar et al., 2019). El RT-PCR es una técnica que se basa en el proceso de transcripción reversa (RT), seguida de una PCR de ADN, posteriormente, la intensidad o densidad de los productos de PCR son cuantificados mediante software de imágenes que permiten determinar de manera semicuantitativa la expresión génica (Andoofar et al., 2019).

El objetivo de la presente investigación fue medir el nivel de expresión de siete genes de tolerancia a salinidad en cinco genotipos de tomate mediante la aplicación de NaCl en el medio de crecimiento en plántulas de tomate.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Ubicación

La evaluación se realizó en un invernadero tipo “full vent” de nivel tecnológico medio, con cubierta de polietileno calibre 600 con transmisión de luz de 80 %, y ventilación frontal, lateral y superior protegida por malla antiáfidos del campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) ubicado en 19°29'23"N, 98°52'26"W y 2,265 msnm y el laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia de la UACH.

4.2.2 Genotipos evaluados

Se evaluaron cuatro líneas homocigóticas del Programa de Mejoramiento Genético de Tomate para Invernadero de la UACH y el híbrido comercial El Cid (HM CLAUSE®). Las líneas L4-1 y L13 mostraron tolerancia a concentraciones elevadas de NaCl durante germinación y en etapa de plántula; en tanto que las líneas L62 y L76H mostraron susceptibilidad a esta condición (Deanda-Tovar et al., 2025). Los genotipos se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato de espuma agrícola (peat foam foami) Oasis®. El trasplante se realizó 15 días después de la siembra en un sistema de balsa flotante en condiciones de invernadero.

4.2.3 Concentraciones de NaCl

Quince días después del trasplante se aplicó NaCl en concentración 125 mM. Adicionalmente, se ensayó un tratamiento testigo sin aplicación de NaCl (0 mM).

4.2.4 Unidad y diseño experimental

La unidad experimental consistió en una plántula. Se usó el diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones, dentro de cada condición, testigo (0 mM) y 125 mM de NaCl.

4.2.5 Extracción de ARN

Setenta y dos horas después de la aplicación de los tratamientos, se cosechó tejido vegetal de brotes de las hojas para la extracción de ARN. Los brotes de hojas fueron homogeneizados con nitrógeno líquido. Se tomaron 100 mg de la muestra molida, se transfirió a un tubo de 1.5 mL y se agregó 1 mL de TRIzol® (Invitrogen, USA), se agitó de manera manual durante 15 segundos, posteriormente, la muestra homogeneizada se incubó por 10 minutos a temperatura de 15-30 °C. Se adicionaron 0.2 mL de cloroformo y la muestra se agitó vigorosamente manualmente por 15 segundos e incubó por tres minutos a temperatura de 15-30 °C.

Las muestras se centrifugaron a 14 rpm durante 10 minutos con temperatura de 2-8 °C. Seguido de la centrifugación, la muestra se separó en tres fases: inferior roja (fase fenol-cloroformo), interfase y fase acuosa (sin color). La fase acuosa fue transferida a un nuevo tubo, al que se le adicionaron 0.5 mL de alcohol isopropílico y se incubó durante 10 minutos a temperatura de 15-30 °C. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 14 000 rpm durante 10 minutos. La muestra se decantó y se adicionó 1 mL de etanol 1X al 70 %, se agitó durante 15 segundos y centrifugó a 14 000 rpm durante cinco minutos. Se eliminó el sobrenadante y el ARN se dejó secar a temperatura ambiente, sin dejar que se deshidratara la pastilla. Finalmente, el ARN se disolvió en 30 µl de TE (Tris- HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8) y se almacenó a -18°C.

La cuantificación de ARN se realizó mediante espectrofotometría de acuerdo con el método descrito por el CIMMYT (2006) y la calidad se determinó en gel de agarosa.

4.2.6 Síntesis de ADNc por transcripción reversa

Para la síntesis de ADNc se utilizó una mezcla de reacción con volumen total de 20 µL. Se colocaron en un tubo 4 µL de ARN, 1 µL de oligo dT y 7.5 µL de agua DEPC, los cuales se incubaron durante cinco minutos a 65 °C. Después, las mezclas se incubaron en hielo durante 5 minutos. Posteriormente, se adicionaron 4 µL de amortiguador 5X, 0.5 µL de inhibor ARNasa, 2 µL de mix dNTP, y 1 µL de transcriptasa reversa y se incubaron durante 60 minutos a 42 °C. Finalmente, se inactivó la mezcla de reacción a 70 °C durante 10 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se almacenó a 4 °C.

4.2.7 Expresión de genes de tolerancia a salinidad

La cuantificación de la expresión de genes de tolerancia a salinidad se realizó mediante iniciadores específicos para cada gen (**Cuadro 4.1**). El gen ubiquitina, que mostró expresión constitutiva en condiciones salina y testigo, se utilizó como control interno para la normalización de la expresión de los genes de tolerancia a salinidad evaluados. La amplificación de los genes se realizó mediante PCR punto final en termociclador (Eppendorf, Mastercycler). El volumen de cada reacción de PCR fue de 10 µl. La mezcla de cada reacción estuvo compuesta por 2.3 µl de agua grado biología molecular, 200 µM dNTP's (2 µl), 10 X de amortiguador (1 µl), 3 mM de MgCl₂ (0.6 µl), 1.5 unidades de reacción de la enzima DNA Taq polimerasa (0.1 µl), 1 µl de iniciador específico directo e inverso y 2 µl de ADNc. Las temperaturas y ciclos para la amplificación fueron: un ciclo de desnaturalización a 95 °C durante cinco minutos, 35 ciclos a 95 °C durante 30 segundos, alineación a 55 °C durante 30 segundos y polimerización a 72 °C durante 30 segundos. Se realizó un último ciclo de extensión a 72 °C durante cinco minutos. Los productos de la PCR obtenidos fueron conservados a 4 °C; posteriormente se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % con amortiguador TAE 1X y se tiñeron con bromuro de etidio. La visualización se realizó bajo un fotodocumentador (UVP®, High Performance UV Transiluminator, EUA).

Cuadro 4.1 Iniciadores utilizados en la expresión de genes de tolerancia a salinidad en tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Iniciador	Secuencia 5'-3'	Producto (pb)
-----------	-----------------	---------------

SlyAVP1	Fw: TGGTGGATCTTCAATGGCCC	301
	Rv: AGAGCTGACGAGAAGGGGAT	
SlyDREB1	Fw: ACAGGGGAGTGAGGAAGAGG	185
	Rv: CCTCCAAGCAGAGTCAGCAA	
SlyMYB2	Fw: GACCAGATGTTTCGACGTGGT	258
	Rv: CGGCGGCTTGTATTCTTTTCG	
SlyNHX1-4	Fw: GGGAGCAGGAACTGGTCTTC	298
	Rv: ATCCAAAGCATCCATGCCCA	
SlyNHX1-3	Fw: TGTTGCTGGTCTACTGAGCG	329
	Rv: ATTGTGGGCTGTCGCTTACA	
SlySOS1	Fw: GGTGAACCAGTGCATCCTCA	363
	Rv: TCTATGCGCCCGGAGAAATC	
SlyTPS1	Fw: GCTCGCGATTTGTAACGACC	455
	Rv: TGTGTACGATCTCCCCCAGT	
SlyUBI	Fw: TGGCGGTGACTTGTGAATGT	238
	Rv: GGGGGTGAATGAGTGTGTCC	

Pb: pares de bases.

La cuantificación de la densidad de los productos de PCR se estimó mediante el software ImageJ (v1.4.3.67; National Institutes of Health); posteriormente, el contenido de transcripción de cada gen de tolerancia a salinidad se normalizó al contenido de transcripción del gen de ubiquitina y se expresó en unidades relativas.

4.2.8 Análisis estadístico

Debido a que los niveles de expresión de los genes de tolerancia no tuvieron distribución normal, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples de rangos ($P \leq 0.05$) (Conover, 1999). Se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.4.

4.3 Resultados y discusión

La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis mostró significancia para todos los genes de tolerancia a salinidad ($P \leq 0.05$).

Las comparaciones múltiples de rangos (**Cuadro 4.2**) indicaron que la expresión relativa de los genes NHX1-4 y TPS1 no fue diferente en las condiciones salina y testigo en los cinco genotipos. Situación similar a la ocurrida en *Rubia tinctorum*, donde la expresión relativa de NHX1 y AVP1 en condiciones 200 mM de NaCl, determinada a las 48 horas después de la exposición a sal no fue diferente (Toranj et al., 2019).

Cuadro 4.2 Comparaciones múltiples de rangos para expresión de genes de tolerancia a salinidad en cinco genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

CON	GEN	AVP1	DREB	MYB2	NHX1-3	NHX1-4	SOS1	TPS1
0	L4-1	1.1 c	1.0 cd	1.0 bcd	0.3 f	1.4 cd	2.3 a	1.5 bcd
125	L4-1	1.1 c	0.7 d	1.2 bcd	0.6 f	1.1 d	0.3 bc	1.5 bcd
0	L13	1.2 b	4.1 ab	1.1 bcd	6.1 ab	1.3 cd	2.3 a	1.3 cd
125	L13	1.2 bc	4.3 a	0.8 d	6.9 a	1.3 cd	1.4 ab	0.9 d
0	L62	0.8 cd	1.4 bc	2.5 ab	2.2 de	1.4 bcd	1.1 ab	2.3 a
125	L62	0.6 d	0.6 d	0.7 cd	1.4 e	2.4 ab	0.9 abc	1.6 abcd
0	L76H	1.8 ab	0.7 d	3.0 a	3.4 bc	1.4 bcd	0.0 c	1.8 abc
125	L76H	0.9 cd	0.5 d	2.8 ab	3.0 cd	1.2 cd	1.6 a	1.9 abc
0	CID	5.0 a	3.7 ab	3.1 abc	2.0 e	1.4 abc	1.8 a	2.7 ab
125	CID	3.8 a	1.3 cd	0.6 d	4.8 b	4.7 a	2.1 a	2.7 a
	DMS	8.3	8.0	11.1	4.2	12.0	12.0	11.7

CON: concentración de NaCl, GEN: genotipo, DMS: diferencia mínima significativa. Los valores en columnas corresponden a la media del nivel de expresión de cada gen de tolerancia a salinidad. Medias con misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$).

La expresión relativa de los genes de tolerancia a salinidad en L13 y L4-1 no mostraron diferencia en las condiciones salina y testigo, a excepción de SOS1 para L4-1, el cual mostró mayor expresión en la condición testigo (**Cuadro 4.2**). Las expresiones génicas de DREB y MYB2 en L62 fueron similares en las condiciones testigo y salina. L76H también mostró mayor expresión génica de AVP1 y NHX1-3 en la condición testigo. La

mayor expresión génica en condiciones testigo, es una respuesta adaptativa que pueden poseer algunos genotipos, para prepararse para condiciones adversas (Joshi et al., 2024). En la regulación de genes participan diferentes mecanismos adaptativos de la planta que no solo dependen del genotipo, sino también de las funciones que desempeñan los genes (Li et al., 2024).

El mayor nivel de expresión de AVP1 y DREB en las condiciones salinas puede deberse a que estos genes participan en actividades esenciales para las células; AVP1 codifica para bomba de protones que participa en el transporte de iones a través de la membrana celular; mientras que los factores de transcripción DREB regulan la expresión de genes implicados en la biosíntesis de hormonas del crecimiento (Gou et al., 2019; Nguyen et al., 2019).

La regulación a la baja de genes de tolerancia en condiciones salinas depende no solo de la concentración a la que son expuestos los genotipos, sino también del periodo de exposición al estrés y la metodología utilizada para medir los niveles de expresión (Bouaziz et al., 2013; Toranj et al., 2019); en este sentido, la mayor expresión de la mayoría de los genes de tolerancia en condiciones salinas pudo deberse a alguno de estos factores.

Bajo este razonamiento, la expresión relativa de genes de tolerancia a sales depende de la concentración de NaCl que es aplicada al medio de crecimiento, la función que desempeñan los genes y del periodo de exposición al estrés (Bouaziz et al., 2013; Toranj et al., 2019; Li et al., 2024), por lo que es necesario considerar cada uno de estos factores al medir la expresión de los genes de tolerancia a salinidad para la identificación de genotipos tolerantes.

4.4 Conclusión

La expresión de los siete genes de tolerancia al estrés salino (125 mM) fue similar al testigo en los cinco genotipos durante el estado de plántula.

El nivel de expresión de genes de tolerancia a salinidad difiere a través de los genotipos y depende de la concentración de sales, la función de los genes y el periodo de exposición al estrés.

4.5 Literatura citada

- Bhaskaran, S., & Savithramma, D. L. (2011). Co-expression of *Pennisetum glaucum* vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter and Arabidopsis H⁺-pyrophosphatase enhances salt tolerance in transgenic tomato. *Journal of Experimental Botany*, 62(15), 5561-5570. <https://doi.org/10.1093/jxb/err237>
- Andoorfar, S., Hosseini Tafreshi, S. A., & Rezvani, Z. (2019). Assessment of the expression level of miRNA molecules using a semi-quantitative RT-PCR approach. *Molecular Biology Reports*, 46, 5057-5062. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04959-5>
- Bouaziz, D., Pirrello, J., Charfeddine, M., Hammami, A., Jbir, R., Dhieb, A., Bouzayen, M. & Gargouri-Bouazid, R. (2013). Overexpression of StDREB1 transcription factor increases tolerance to salt in transgenic potato plants. *Molecular Biotechnology*, 54, 803-817. <https://doi.org/10.1007/s12033-012-9628-2>
- CIMMYT. (2006). *Protocolos de laboratorio. Laboratorio de genética molecular aplicada del CIMMYT*. (3era ed.).
- Conover, W. J. (1999). *Practical nonparametric statistics* (3rd ed.). John Wiley & Sons.
- Ellouzi, H., Ben Slimene Debez, I., Amraoui, S., Rabhi, M., Hanana, M., Alyami, N. M., Debez, A., Abdelly, C., & Zorrig, W. (2024). Effect of seed priming with auxin on ROS detoxification and carbohydrate metabolism and their relationship with germination and early seedling establishment in salt stressed maize. *BMC Plant Biology*, 24(1), Article 704. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05413-w>
- FAOSTAT. (2018). *The future of food and agriculture: alternative pathways to 2050 global perspectives studies*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/global-perspectives-studies/resources/detail/en/c/1157074/>
- Gerszberg, A., & Hnatuszko-Konka, K. (2017). Tomato tolerance to abiotic stress: a review of most often engineered target sequences. *Plant Growth Regulation*, 83, 175-198. <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0251-x>
- Guo, Q., Lu, N., Sun, Y., Lv, W., Luo, Z., Zhang, H., Ji, Q., Yang, Q., Chen, S., Zhang, W. & Li, Y. (2019). Heterologous expression of the DREB transcription factor AhDREB in *Populus tomentosa* Carrière confers tolerance to salt without growth reduction under greenhouse conditions. *Forests*, 10(3), Article 214. <https://doi.org/10.3390/f10030214>
- Hichri, I., Muhovski, Y., Clippe, A., Žižková, E., Dobrev, P. I., Motyka, V., & Lutts, S. (2015). SIDREB2, a tomato dehydration-responsive element-binding 2 transcription factor, mediates salt stress tolerance in tomato and

Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment*, 39(1), 62-79.
<https://doi.org/10.1111/pce.12591>

- Hualpa-Ramirez, E., Carrasco-Lozano, E. C., Madrid-Espinoza, J., Tejos, R., Ruiz-Lara, S., Stange, C., & Norambuena, L. (2024). Stress salinity in plants: new strategies to cope with in the foreseeable scenario. *Plant Physiology and Biochemistry*, 208, Article 108507. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108507>
- Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. M. (2019). Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 80. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>
- Joshi, M. K., Marviya, G. V., Jacob, F., Kandoliya, U. K., Pandya, P. M., & Vala, A. G. (2024). System-wide analysis of groundnut's salinity resilience: Integrating plant-cell interactions with environmental stress dynamics through cutting-edge transcriptomics. *Journal of Biotechnology*, 394, 34-47. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2024.07.023>
- Kumar, T., Tiwari, N., Bharadwaj, C., Roorkiwal, M., Reddy, S. P. P., Patil, B. S., & Varshney, R. K. (2022). A comprehensive analysis of trehalose-6-phosphate synthase (TPS) gene for salinity tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Scientific Reports*, 12(1), Article 16315. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20771-x>
- Li, J., Wu, Y., Feng, X., Hussain, T., Guo, K., & Liu, X. (2024). Nonuniform salinity regulate leaf characteristics and improve photosynthesis of cherry tomatoes under high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 217, Article 105565. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105565>
- Lu, K. K., Song, R. F., Guo, J. X., Zhang, Y., Zuo, J. X., Chen, H. H., Liao, C. Y., Hu, X. Y., Ren, F., Lu, Y. T. & Liu, W. C. (2023). CycC1; 1-WRKY75 complex-mediated transcriptional regulation of SOS1 controls salt stress tolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 35(7), 2570-2591. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad105>
- Lu, X., Liu, X., Xu, J., Liu, Y., Chi, Y., Yu, W., & Li, C. (2023). Strigolactone-mediated trehalose enhances salt resistance in tomato seedlings. *Horticulturae*, 9(7), Article 770. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9070770>
- Lyu, J. I., Min, S. R., Lee, J. H., Lim, Y. H., Kim, J. K., Bae, C. H., & Liu, J. R. (2012). Overexpression of a trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase fusion gene enhances tolerance and photosynthesis during drought and salt stress without growth aberrations in tomato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 112, 257-262. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0225-7>
- Nguyen, N. T., Vu, H. T., Nguyen, T. T., Nguyen, L. A. T., Nguyen, M. C. D., Hoang, K. L., Nguyen, K. T. & Quach, T. N. (2019). Co-expression of Arabidopsis AtAVP1 and AtNHX1 to improve salt tolerance in soybean. *Crop Science*, 59(3), 1133-1143. <https://doi.org/10.2135/cropsci2018.10.0640>

- Tekdal, D. (2021). Characterization of trehalose-6-phosphate synthase and Na⁺/H⁺ antiporter genes in *Vuralia turcica* and expression analysis under salt and cadmium stresses. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93(3), Article e20200252 <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120200252>
- Toranj, S., Aliabad, K. K., Abbaspour, H., & Saeedpour, A. (2020). Effect of salt stress on the genes expression of the vacuolar H⁺-pyrophosphatase and Na⁺/H⁺ antiporter in *Rubia tinctorum*. *Molecular Biology Reports*, 47, 235-245. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05124-8>
- Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 71(1), 403-433. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005>
- Yoo, J. H., Park, C. Y., Kim, J. C., Do Heo, W., Cheong, M. S., Park, H. C., Kim, M. C., Moon, B. C., Choi, M. S., Kang, Y. M., Lee, J. H., Kim, H. S., Lee, S. M., Yoon, H. W., Lim, C. O., Yun, D. J., Lee, S. Y., Chung, W. S. & Cho, M. J. (2005). Direct interaction of a divergent CaM isoform and the transcription factor, MYB2, enhances salt tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry*, 280(5), 3697-3706. <https://doi.org/10.1074/jbc.M408237200>
- Zhang, P., Wang, R., Yang, X., Ju, Q., Li, W., Lü, S., Tran, L. S. P. & Xu, J. (2020). The R2R3-MYB transcription factor AtMYB49 modulates salt tolerance in *Arabidopsis* by modulating the cuticle formation and antioxidant defense. *Plant, Cell & Environment*, 43(8), 1925-1943. <https://doi.org/10.1111/pce.13784>
- Zhang, Z., Zhang, L., Liu, Y., Shang, X., & Fang, S. (2022). Identification and expression analysis of R2R3-MYB family genes associated with salt tolerance in *Cyclocarya paliurus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), Article 3429. <https://doi.org/10.3390/ijms23073429>

CAPÍTULO 5. DESEMPEÑO DE PLANTA ADULTA DE TOMATE ANTE CLORURO DE SODIO

Alma Aurora Deanda-Tovar¹, Juan Enrique Rodríguez-Pérez^{1*}, Jaime Sahagún-Castellanos¹,
María Teresa Beryl Colinas y León¹, Paulino Pérez-Rodríguez², Diego Ortiz-Torres.

¹Departamento de Fitotecnia, Instituto de Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo,
Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, C. P. 56230,
MÉXICO.

²Colegio de Postgraduados, Montecillos, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

Resumen

La amplia distribución del tomate implica que su cultivo puede ser amenazado por factores abióticos como la salinidad, que demerita el crecimiento y puede disminuir significativamente el rendimiento, por lo que es conveniente contar con variedades tolerantes. El objetivo de esta investigación fue identificar genotipos tolerantes a salinidad durante el desarrollo de planta adulta mediante una metodología que permita evaluar el desarrollo de la raíz, de la parte aérea y del rendimiento de fruto. Se evaluaron las líneas L4-1, L13, L62, L76H y un híbrido comercial bajo un sistema de balsa flotante en condiciones normales (testigo) y con 75 mM de NaCl en la solución nutritiva. El diseño experimental fue bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La condición salina redujo ($P \leq 0.05$) la materia seca de tallo (22 %), altura de planta (12 %) y el consumo acumulado de solución nutritiva (27 %) durante el ciclo de cultivo; en contraste, incrementó ($P \leq 0.05$) el volumen de raíz (25 %) y las unidades SPAD (8 %). En cuanto al rendimiento, la salinidad demeritó el peso promedio de frutos (45 %), rendimiento de los tres racimos iniciales (36 %); además, incrementó el número de frutos con deficiencias nutrimentales (42 %). El estrés salino (75 mM) durante el desarrollo de planta adulta no modificó, con respecto al testigo, el área foliar, la materia seca de hoja y la materia seca de raíz. Las líneas L4-1 y L13 fueron tolerantes debido a su mayor capacidad de adaptación a periodos prolongados de estrés salino.

Palabras clave: tolerancia, rendimiento, *Solanum lycopersicum* L., salinidad, crecimiento.

5.1 Introducción

La salinidad de los suelos es causada por la precipitación, viento, erosión y actividades humanas como uso excesivo de agua y fertilizantes (Khalid et al., 2022). Una porción significativa de las tierras agrícolas del mundo está afectada por salinidad, alrededor de 833 millones de hectáreas, de las cuales 20 % son tierras cultivadas y 33 % tierras de riego (Kraamwinkel et al., 2021). Cada año se salinizan entre uno y dos millones de hectáreas, lo cual representa grandes desafíos para la agricultura (Cuartero et al., 2006) y amenaza la seguridad alimentaria (Ortas et al., 2021). Las principales sales que se encuentran en el agua de riego y afectan los suelos agrícolas son cloruro de sodio (NaCl), sulfato de calcio (CaSO₄) y sulfato de magnesio (MgSO₄) (Bello et al., 2021); sin embargo, el NaCl es el más soluble y abundante (Munns & Tester, 2008).

El tomate es una de las especies hortícolas más cultivadas y consumidas debido a su amplia adaptación a regiones templadas y tropicales, su alto valor económico en los sectores agrícola y agroindustrial (Gatahi, 2020) y su importante contenido de vitaminas, carotenoides y compuestos fenólicos (Quinet et al., 2019). A nivel mundial, anualmente se siembran alrededor de 5 millones de hectáreas de tomate con producción aproximada de 189 millones de toneladas (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2022). No obstante, su producción se ve amenazada por diversos factores abióticos, entre ellos la salinidad, que demerita el crecimiento y puede disminuir significativamente el rendimiento (Conti et al., 2023; Roşca et al., 2023).

Las plantas de tomate expuestas a salinidad inicialmente responden con una disminución del potencial osmótico y cierre estomático para minimizar la pérdida de agua, lo que genera estrés hídrico (Li et al., 2022). Posteriormente, la entrada y la excesiva acumulación de iones Na⁺ y Cl⁻ en órganos y vacuolas genera toxicidad iónica, que induce desequilibrios fisiológicos y bioquímicos debido a la menor asimilación de K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ y NO³⁻ (Zörb et al., 2018), lo que provoca pérdida de permeabilidad de membrana, menor capacidad antioxidante y disminución del contenido de pigmentos fotosintéticos y moléculas osmoprotectoras (Li et al., 2024).

En condiciones de salinidad, el primer órgano afectado es la raíz, la cual reduce su longitud y volumen causado por el estrés hídrico y toxicidad iónica (Munns, 2005). La presión osmótica en la zona radical impide la absorción y utilización eficiente de agua y nutrientes; en consecuencia, se restringe el suministro de carbohidratos necesarios para el crecimiento y desarrollo de raíces, brotes y hojas nuevas (Li et al., 2022). El estrés salino altera la estructura del cloroplasto, reduce la

actividad de las enzimas fotosintéticas y limita el crecimiento de hojas, lo que disminuye el área foliar y la producción de biomasa (Roy et al., 2014).

Durante la etapa reproductiva, la alta demanda de nutrimentos y su poca disponibilidad afectan el desarrollo floral, se reduce el número de flores y frutos por racimo, disminuye el tamaño de frutos e incrementa la producción de frutos con deficiencias nutrimentales, especialmente las de Ca^{2+} y K^{+} (Ghanem et al., 2009). El resultado de la exposición prolongada al estrés salino demerita la calidad de los frutos e impacta severamente en el rendimiento del cultivo (Zhang et al., 2016).

La productividad también depende de la disponibilidad de agua y eficiencia en su uso. La eficiencia de uso de agua se refiere a la cantidad de agua requerida para la producción de biomasa o rendimiento de la planta (Alharbi et al., 2024). En condiciones de estrés por salinidad, la eficiencia de uso de agua disminuye a medida que aumenta la concentración de sales, debido al estrés hídrico y toxicidad generada por la sal en la zona radical (Zhou et al., 2024).

La tolerancia a salinidad en tomate, al igual que en todas las plantas, depende de su estructura genética (Parihar et al., 2015), la etapa de crecimiento del cultivo (Tola et al., 2024) y la concentración de sal en el medio (Yadav et al., 2019). Las variedades tolerantes activan diversos mecanismos de tolerancia durante el periodo de exposición al estrés (Khalid et al., 2022), incluyen la modulación osmótica, regulación antioxidante y homeostasis iónica que permiten a las células mantener sus actividades metabólicas (Adem et al., 2014; Khalid et al., 2022) y la productividad (Roy et al., 2014).

El mejoramiento genético puede considerarse como método sustentable para confrontar el estrés salino ya que busca generar variedades tolerantes (Raza et al., 2023). Sin embargo, conjuntar los mecanismos de tolerancia en una sola variedad es una tarea complicada debido a que los complejos genéticos asociados a la tolerancia son generalmente particulares en cada etapa fenológica (Deanda-Tovar et al., 2025) y se asocian a caracteres cuantitativos (Yuan et al., 2022). Por ello, se requiere caracterizar el comportamiento de los genotipos bajo condiciones salinas con propósitos de selección (Singh et al., 2024).

El objetivo de la presente investigación fue identificar genotipos tolerantes a salinidad durante el desarrollo de planta adulta mediante una metodología que permita evaluar el desarrollo de la raíz, de la parte aérea y del rendimiento de fruto.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Ubicación

El experimento se realizó de marzo a julio del año 2023, en el campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) ubicado en 19°29'23"N, 98°52'26"W y 2,265 msnm, en un invernadero tipo “full vent” de nivel tecnológico medio, con cubierta de polietileno calibre 600 con transmisión de luz de 80 %, y ventilación frontal, lateral y superior protegida por malla antiáfidos. Las temperaturas mínima, máxima y media registradas fueron 6.1 °C, 34.3 °C y 21.3 °C y la humedad relativa osciló entre 15 y 83 %, con promedio de 66 %.

5.2.2 Genotipos evaluados

Se evaluaron cuatro líneas homocigóticas del Programa de Mejoramiento Genético de Tomate para Invernadero de la UACH y el híbrido comercial El Cid (HM CLAUSE®). De acuerdo con evaluaciones previas durante germinación y etapa de plántula, las líneas L4-1 y L13 fueron tolerantes a NaCl; en tanto que las líneas L62 y L76H fueron susceptibles (Deanda-Tovar et al., 2025). Las líneas L4-1 y L13 y El Cid producen frutos tipo saladette y las líneas L62 y L76H tipo bola. Todos los genotipos son de hábito de crecimiento indeterminado.

5.2.3 Concentraciones de cloruro de sodio

Los genotipos se evaluaron bajo dos condiciones. El testigo sin aplicación de NaCl a la solución nutritiva, la cual tuvo conductividad eléctrica (CE) de $2 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$, con oscilación entre 2 y $3 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ durante todo el experimento. El tratamiento salino consistió en incrementar la concentración de sales en la solución nutritiva a partir de 11 DDT a razón de 15 mM (aproximadamente $1 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$) cada 15 días hasta lograr la concentración de 75 mM de NaCl a los 75 DDT, lo que correspondió a una CE de $7 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$. Esta condición se mantuvo hasta el final del experimento (105 DDT). La conductividad eléctrica fue valorada con un potenciómetro HANNA instruments, HI98129.

5.2.4 Unidad y diseño experimental

La unidad experimental (UE) consistió en dos plantas establecidas en sistema de balsa flotante, construida con contenedores de 20 L de capacidad. El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar con cuatro repeticiones.

5.2.5 Caracteres evaluados

Consumo diario de solución nutritiva (CDS, en $\text{L} \cdot \text{d}^{-1}$). El volumen se registró mediante una manguera transparente graduada en el exterior de los contenedores de 20 L, con la que se

determinaba el nivel de la solución nutritiva en el interior del contenedor. La solución nutritiva consumida fue repuesta diariamente.

Consumo acumulado de solución nutritiva (CAS, en L). Suma del consumo diario de solución nutritiva.

Altura de planta final (AP, en m) medida a los 97 DDT. La AP se midió desde la base del tallo hasta el ápice de crecimiento con cinta métrica.

Unidades SPAD (SPAD) a los 89 DDT, se registró el promedio de mediciones obtenidas en tres folíolos de las últimas dos hojas de las dos plantas de la UE con medidor de unidades SPAD digital (SPAD-502PLUS, Tokio). Se consideraron folíolos bien formados, sin daño mecánico ni de patógenos.

Número total de frutos de los tres primeros racimos (NTF).

Número total de frutos con deficiencias nutrimentales de los tres primeros racimos (NFD). Se consideró a aquellos frutos que mostraron síntomas característicos de pudrición apical.

Peso fresco de frutos de los racimos 1, 2 y 3 (PF1, PF2, PF3, respectivamente, en kg), pesados en balanza digital (Ohaus, modelo V11P6, EUA).

Peso fresco total de frutos de los tres primeros racimos (REN, kg) a partir de la suma de PF1, PF2 y PF3.

Peso promedio de fruto (PPF, en g), calculado a partir del cociente del peso total de frutos (REN) entre el número total de frutos (NTF).

Al finalizar la prueba, 105 DDT, se determinó:

Volumen de raíz (VR, en L) obtenido por el desplazamiento del nivel de agua ejercido por la raíz, introducida en una probeta con volumen conocido.

Materia seca de hoja (MSH, en g). Se colectaron todas las hojas producidas de la unidad experimental durante todo el experimento para ser secadas durante 72 horas a 55 °C en estufa de secado (BGX-E, BG Pronalab).

Materia seca de tallo (MSTa, en g) y *materia seca de raíz* (MSR, en g), secadas durante 72 horas a 55 °C en estufa de secado (BGX-E, BG Pronalab) y *materia seca total* (MST, en g) a partir de la suma de MSH, MSTa y MSR.

Área foliar total (AF, en cm²), a partir de cuatro hojas del quinto racimo de cada unidad experimental se evaluó la materia seca de hoja de la muestra y el área foliar de la muestra mediante integrador de área foliar (LI-COR®, LI-3000A, EUA). El área foliar total se calculó mediante un modelo de regresión lineal simple a partir del área foliar de la muestra y la materia seca de la muestra, se utilizó el modelo $\hat{y} = 121.45 + 120.05x$, $R^2=0.86$, donde $\hat{y}$ es el área foliar predicha y x es la cantidad de materia seca de la muestra.

Se determinó la *eficiencia de uso de solución nutritiva* con respecto a la acumulación de materia seca (EUS, g·L⁻¹), calculada a partir de la relación entre materia seca total (MST, en g) y consumo acumulado de solución nutritiva (CAS, en L).

5.2.6 Manejo experimental

Los genotipos se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato de espuma agrícola (peat foam foami) Oasis®. El trasplante se realizó 17 días después de la siembra en un sistema de balsa flotante en contenedores con capacidad de 20 L de solución nutritiva pintados de color negro, sellados para evitar evaporación y con oxigenación entre 4.5 y 6.5 partes por millón (ppm), la cual se mantuvo con bombas de aire eléctricas (Elite 802) (**Figura 5.1**). La solución nutritiva utilizada fue 180 ppm de Ca, 155 ppm de N, 47 ppm de P, 250 ppm de K, 24 ppm de Mg, 65 ppm de S, 5 ppm de Fe y 1 ppm de B, 1 ppm de Cu, 0.5 ppm de Zn y 0.5 ppm de Mn.

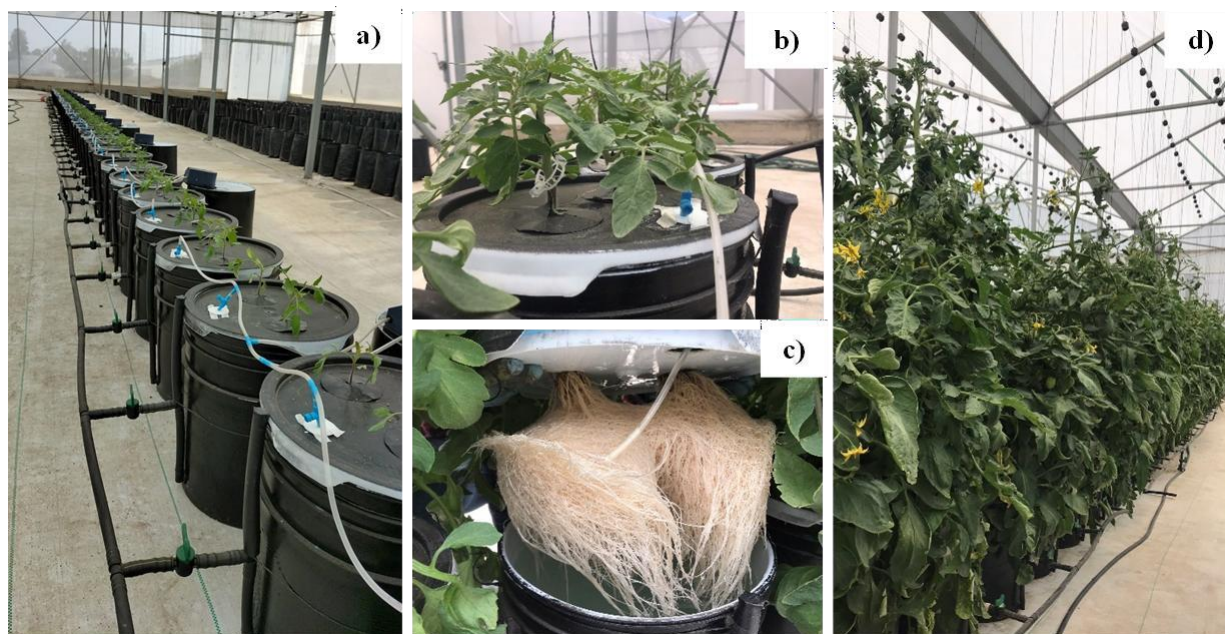


Figura 5.1 a) plántulas de tomate en sistema de balsa flotante a los 5 días después del trasplante (DDT) b) desarrollo de plántulas de tomate, c) desarrollo de raíz de tomate, d) líneas de tomate en condiciones testigo (0 mM de NaCl) y salina (75 mM de NaCl) a los 75 DDT.

5.2.7 Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza al considerar una serie de experimentos, donde los bloques se anidaron en la concentración de NaCl. Así mismo, se realizaron comparaciones de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

La tasa de consumo diario de solución nutritiva de cada UE se determinó mediante el modelo logístico:

$$y_i = \frac{A}{1 + Be^{-Cx_i}} + \varepsilon_i,$$

donde y_i es la variable respuesta (consumo diario de solución nutritiva) para el caso i -ésimo; A es el valor máximo que puede alcanzar la variable respuesta; x_i es el número de días después del trasplante; B es un parámetro de escala y corresponde a la ordenada al origen en la escala logarítmica de CDS; C es la tasa de consumo diario de solución nutritiva; e es la base del logaritmo natural ($e=2.7182\dots$). Se supone que los errores son independientes y tienen distribución normal con media cero y varianza σ^2 , es decir, $\varepsilon_i \sim NIID(0, \sigma^2)$.

El análisis de datos se realizó con el paquete estadístico SAS versión 9.4 con los procedimientos GLM, MEANS y NLIN.

5.3 Resultados y discusión

Los análisis de varianza mostraron significancia ($P \leq 0.05$) en todos los caracteres evaluados para genotipo (datos no mostrados). En Concentración no hubo significancia en MSR, MSH, MST, AF, PF3 y C. La interacción Genotipo x Concentración mostró significancia en la mayoría de los caracteres evaluados, a excepción de SPAD y NTF, por lo que los genotipos tuvieron comportamiento diferente en las dos concentraciones de NaCl. La información se considera confiable ya que los coeficientes de variación oscilaron entre 15 y 28 %, a excepción de NFD con valor de 48.2 %.

Las comparaciones de medias de las concentraciones de NaCl (**Cuadro 5.1**) detectaron que el desarrollo de la planta fue demeritado ($P \leq 0.05$) por el estrés salino; con reducciones con respecto al testigo de 12 %, 22 % y 27 % en AP, MSTa y CAS, respectivamente; en contraste ocurrieron incrementos de 25 % y 8% en VR y SPAD. No se detectaron diferencias en AF, MSR, MSH y MST. Situación similar a la ocurrida en tomates silvestres expuestos a 30 mM de NaCl durante 98 días, donde no se observaron diferencias en biomasa con respecto al testigo (Ntansi et al., 2023).

El rendimiento de los tres primeros racimos (REN) se redujo 36 % ($P \leq 0.05$) en la condición salina respecto al testigo, así como el PPF (**Cuadro 5.1**). Los genotipos expuestos a salinidad produjeron mayor número de frutos (11 %); sin embargo, también produjeron mayor NFD (42 %), los cuales mostraron síntomas característicos de pudrición apical. Tomates expuestos a concentración 50 mM de NaCl exhibieron reducción en altura de planta (13 %) y rendimiento (64 %) respecto al testigo y mostraron incremento en la producción de frutos con síntomas característicos de pudrición apical (20 %) (Costan et al., 2019).

Cuadro 5.1 Comparaciones de medias de concentración de NaCl para caracteres evaluados en cinco genotipos de tomate en condiciones de salinidad y testigo.

NaCl (mM)	AP (m)	AF (cm ²)	VR (L)	MSTa (g)	MSR (g)	MSH (g)	MST (g)	SPAD	CAS (L)
0	1.13 a	14518.9 a	0.8 b	110.2 a	61.6 a	119.9 a	291.7 a	51.7 b	265 a
75	0.99 b	13779.8 a	1.0 a	85.7 b	67.8 a	113.8 a	267.3 a	55.7 a	193 b

% reducción	12	5	-25	22	-10	5	8	-8	27
DMSH	0.02	2115.2	0.1	9.8	7.4	17.6	32.7	2.3	11.9
CV	5.0	9.6	13.8	11.9	14.3	9.7	10.2	5.1	11.5

% reducción: porcentaje de reducción al pasar de concentración 0 a 75 mM de NaCl (valores negativos indican que el carácter evaluado incrementó en la condición salina), AP: altura final de planta, AF: área foliar, VR: volumen de raíz, MSTa: materia seca de tallo, MSR: materia seca de raíz, MSH: materia seca de hoja, MST: materia seca total, SPAD: unidades SPAD, CAS: consumo acumulado de solución nutritiva. DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Medias con misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 5.1 Continuación...

NaCl (mM)	EUS (g·L ⁻¹)	C	PF1 (kg)	PF2 (kg)	PF3 (kg)	PPF (g)	REN (kg)	NFD	NTF
0	18.3 a	-0.06 a	1.6 a	1.7 a	1.4 a	143 a	4.8 a	0.5 b	38 b
75	16.4 a	-0.07 a	1.2 b	1.0 b	0.8 b	78 b	3.0 b	1.5 a	42 a
% reducción	10	-5	28	39	43	45	36	-42	-11
DMSH	1.96	0.004	0.14	0.42	0.37	9.0	0.39	0.54	2.68
CV	13.1	4.5	21.7	28.0	27.7	8.9	15.3	48.2	14.9

% reducción: porcentaje de reducción al pasar de concentración 0 a 75 mM de NaCl (valores negativos indican que el carácter evaluado incrementó en la condición salina), EUS: eficiencia de uso de solución nutritiva, C: tasa de consumo diario de solución nutritiva, PF1: peso fresco de frutos del racimo 1, PF2: peso fresco de frutos del racimo 2, PF3: peso fresco de frutos del racimo 3, PPF: peso promedio de fruto, REN: peso total de frutos de los racimos 1 a 3, NFD: número total de frutos con deficiencia, NTF: número total de frutos de los racimos 1 a 3. DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Medias con misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

Las comparaciones de medias de la interacción Genotipo x Concentración (**Cuadro 5.2**) indicaron que los genotipos no mostraron diferencias en MST, EUS y NTF al pasar de la condición normal (testigo) al estrés salino ($P \leq 0.05$). Las plantas cultivadas en condiciones salinas, leves o moderadas, en sistema de balsa flotante son capaces de mantener la producción de biomasa y consumo adecuado de solución nutritiva; debido a la constante disponibilidad de solución nutritiva

y a la activación de mecanismos fisiológicos de adaptación al estrés salino (Voutsinos-Frantzis et al., 2023). Cabe destacar que, cuando el nivel de salinidad aumenta gradualmente, las plantas se benefician de un periodo de adaptación que mejora su capacidad para afrontar el estrés (Carrillo et al., 2021).

L13 y L4-1 (**Cuadro 5.2**) mostraron mayor tolerancia al estrés salino ya que los caracteres evaluados no fueron demeritados en forma significativa ($P \leq 0.05$) al pasar de la condición normal a la condición salina, a excepción de MSTa para L4-1 que disminuyó 28 %; en el caso de L13, la salinidad disminuyó drásticamente la calidad de fruto al incrementar 300 % el NFD con respecto al testigo. Se han identificado genotipos de tomate sin modificaciones de su rendimiento ante concentraciones entre 50 y 60 mM de NaCl (Moles et al., 2019; Meza et al., 2020), lo que coincide con el comportamiento de las líneas L13 y L4-1, al no reducir el rendimiento de fruto en 75 mM de NaCl, con respecto al testigo. Los rendimientos de L76H y El Cid fueron afectados a partir del segundo y tercer racimo, donde el PPF fue menor en la condición salina, lo que finalmente disminuyó el REN ($P \leq 0.05$).

La línea L62 (**Cuadro 5.2**) fue la más susceptible a la condición salina al disminuir el crecimiento vegetativo (AP, AF, VR, MSH, CAS y C) y el rendimiento (PF1, PF2, PPF y REN) ($P \leq 0.05$). Tomates tipo cherry y bola evaluados en salinidad disminuyeron el crecimiento vegetativo entre 5 y 10 % por cada $\text{dS} \cdot \text{m}^{-1}$ (aproximadamente 15 mM de NaCl) incrementado en la solución nutritiva (Agius et al., 2022; Magán et al., 2008). Otros estudios detectaron disminuciones del rendimiento mayores que 20 % en tomates cultivados en concentraciones entre 30 y 100 mM de NaCl (Cela et al., 2024; Tola et al., 2024).

Adicionalmente, L62 incrementó las unidades SPAD (19 %) en la condición salina ($P \leq 0.05$). En contraste, variedades comerciales de tomate expuestas a 70 mM de NaCl experimentaron reducciones entre 8 y 13 % en unidades SPAD (Al-Gaadi et al., 2024). Las unidades SPAD están asociadas al contenido de clorofila, por lo que, incrementos en unidades SPAD indican mayor contenido de clorofila (Costan et al., 2019; Yunus & Zari, 2017). El incremento en contenido de clorofila está relacionado con cambios en la morfología y densidad de los tejidos foliares, ya que, la salinidad, al reducir el tamaño de las hojas, aumenta la concentración de clorofila por unidad de área foliar (Shahzad et al., 2022). En este contexto, el incremento de unidades SPAD en L62 puede atribuirse a la reducción de su área foliar.

Cuadro 5.2 Comparaciones de medias de Genotipo x Concentración para caracteres evaluados en cinco genotipos de tomate en condiciones de salinidad y testigo.

GEN	NaCl	AP (m)	AF (cm ²)	VR (L)	MSTa (g)	MSR (g)	MSH (g)	MST (g)	SPAD	CAS (L)
L4-1	0	1.3 ab	18748 a	1.1 a	169.5 a	78.3 b	155.2 a	403.0 a	55.2 abc	245.5 bcd
L4-1	75	1.1 bc	17498 a	1.2 ab	121.7 bc	86.6 ab	144.7 a	353.0 a	60.1 ab	189.3 de
% reducción		15	7	-11	28	-11	7	12	-9	23
L13	0	0.8 f	12160 c	0.7 cd	60.2 f	47.3 c	100.3 c	207.8 bc	54.1 abc	212.0 cde
L13	75	0.8 f	13641 bc	1.0 ab	50.8 f	54.0 c	112.6 bc	217.4 bc	58.6 ab	179.4 e
% reducción		0	-12	-54	16	-14	-12	-5	-8	15
L62	0	1.2 bc	12611 c	0.9 bc	90.0 de	49.3 c	104.0 c	243.4 bc	38.7 e	248.3 bcd
L62	75	0.9 ef	8768 d	0.5 d	60.7 ef	43.5 c	72.0 d	176.2 c	46.1 d	153.7 e
% reducción		25	30	41	33	12	31	28	-19	38
L76H	0	1.0 de	12602 c	0.4 d	98.1 cd	51.6 c	104.0 c	253.7 b	51.6 cd	264.0 bc
L76H	75	0.9 ef	10516 cd	1.0 ab	70.7 def	49.8 c	86.6 cd	207.1 bc	53.5 bc	164.8 e
% reducción		10	17	-24	28	3	17	18	-4	38
CID	0	1.3 a	16473 ab	0.9 bc	133.2 b	81.5 b	136.2 ab	350.9 a	58.7 ab	357.2 a
CID	75	1.1 cd	18476 a	1.2 a	124.8 bc	105.3 a	152.9 a	382.9 a	60.4 a	279.9 b
% reducción		15	-12	-35	6	-29	-12	-9	-3	22

GEN genotipo, NaCl: concentración de NaCl, % reducción: porcentaje de reducción al pasar de concentración 0 a 75 mM de NaCl (valores negativos indican que el carácter evaluado incrementó en la condición salina), AP: altura final de planta, AF: área foliar, VR: volumen de raíz, MSTa: materia seca de tallo, MSR: materia seca de raíz, MSH: materia seca de hoja, MST: materia seca total, SPAD:

unidades SPAD, CAS: consumo acumulado de solución nutritiva. DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Medias con misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 5.2 Continuación...

GEN	NaCl	EUS (g · L ⁻¹)	C	PF1 (kg)	PF2 (kg)	PF3 (kg)	PPF (g)	REN (kg)	NFD	NTF
L4-1	0	7.7 e	-0.06 ab	0.85 ef	0.64 de	0.37 e	63 de	1.86 ef	1.00 abc	27.5 b
L4-1	75	5.1 e	-0.06 ab	0.41 f	0.31 e	0.23 e	26 f	0.95 f	1.21 ab	32.7 b
% reducción		35		51	51	39	58	49	-31	-19
L13	0	20.6 bc	-0.06 a	1.18 cde	1.91 a	1.27 bcd	79 cd	4.36 bc	0.45 bc	54.0 a
L13	75	23.3 ab	-0.06 ab	1.33 cde	1.58 abcd	1.22 bcd	61 de	4.13 bc	1.85 a	62.2 a
% reducción		-13		-12	17	4	23	5	-314	-16
L62	0	20.6 bc	-0.06 ab	1.82 bc	1.84 ab	1.42 abc	172 b	5.08 bc	0.00 c	29.5 b
L62	75	16.6 cd	-0.07 c	0.96 def	0.95 bcde	0.54 de	89 c	2.44 de	0.17 bc	27.5 b
% reducción		22	17	48	48	62	49	52	-25	7
L76H	0	27.0 ab	-0.06 ab	2.83 a	2.22 a	2.08 a	300 a	7.13 a	0.52 bc	23.0 b
L76H	75	23.9 ab	-0.07 b	2.29 ab	0.77 cde	0.90 cde	161 b	3.96 c	0.90 abc	23.0 b
% reducción		11	4	19	65	57	46	44	-43	0
CID	0	15.6 cd	-0.06 ab	1.68 bcd	1.93 a	1.98 ab	102 c	5.58 b	0.45 bc	54.0 a
CID	75	13.6 d	-0.06 ab	1.04 def	1.61 abc	1.16 cd	54 e	3.81 cd	2.00 a	63.2 a
% reducción		13		38	16	41	47	32	-342	-17

% reducción: porcentaje de reducción al pasar de concentración 0 a 75 mM de NaCl (valores negativos indican que el carácter evaluado incrementó en la condición salina), GEN: genotipo, NaCl: concentración de NaCl, EUS: eficiencia de uso de solución nutritiva, C: tasa

de consumo diario de solución nutritiva, PF1: peso fresco de frutos del racimo 1, PF2: peso fresco de frutos del racimo 2, PF3: peso fresco de frutos del racimo 3, PFT: peso total de frutos de los racimos 1 a 3, NFD: número total de frutos con deficiencia, NTF: número total de frutos de los racimos 1 a 3. DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Medias con misma letra dentro de columnas no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

El análisis de regresión no lineal mediante el modelo logístico mostró que CAS fue similar en la condición salina y testigo en los primeros 75 DDT en los genotipos evaluados (**Figura 5.2**). Las líneas L4-1 y L13 no mostraron diferencias en el CAS en la condición salina y el testigo; en contraste, L62, L76H y El Cid tuvieron reducciones de CAS, con respecto al testigo, a partir de 105 DDT (**Figura 5.2; Cuadro 5.2**).

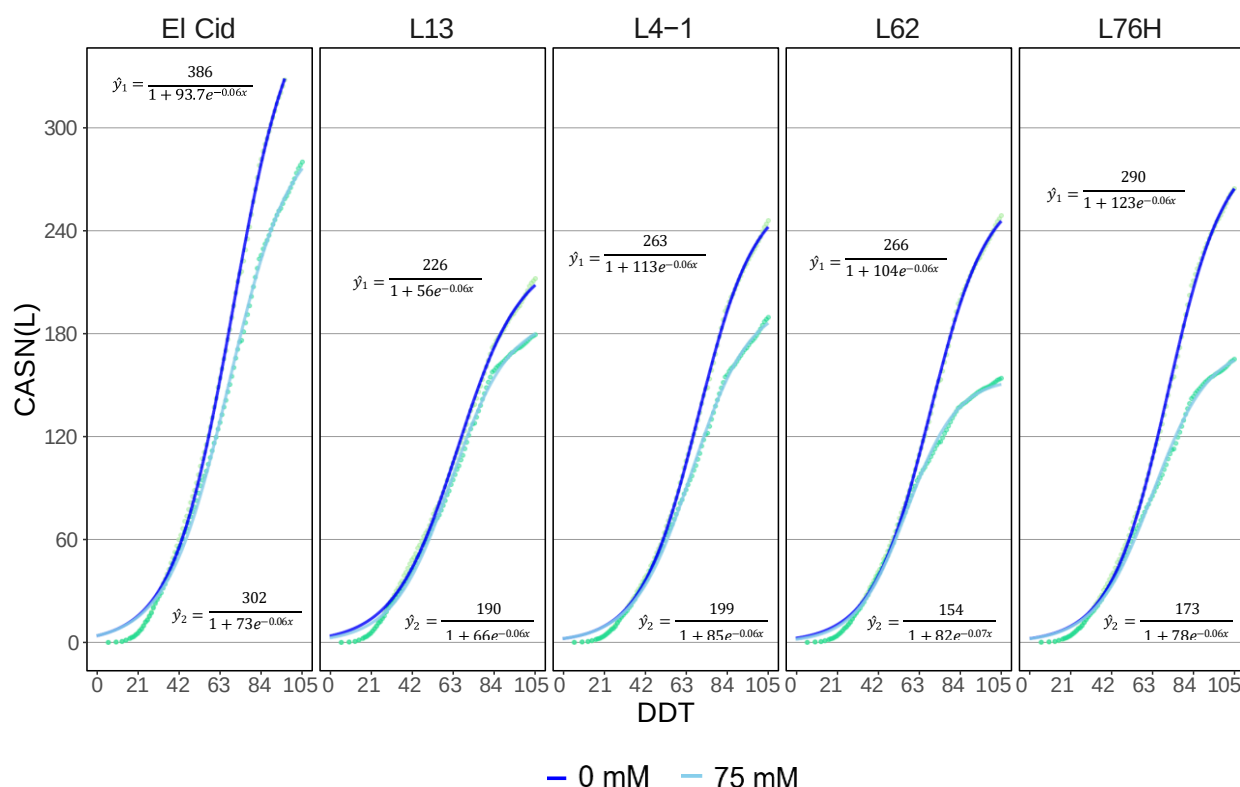


Figura 5.2 Modelos de regresión logísticos ajustados para consumo acumulado de solución nutritiva (CAS) en cinco genotipos de tomate en condiciones salinas. $\hat{y}_1$: corresponde a la variable respuesta para cada genotipo en concentración 0 mM de NaCl, $\hat{y}_2$: corresponde a la variable respuesta para cada genotipo en concentración 75 mM de NaCl.

Se ha demostrado que plantas expuestas a condiciones salinas que no experimentan reducción en el consumo de agua están asociadas con mejor sistema radical (Ntanasi et al., 2023). En este sentido, la tolerancia observada en L4-1 y L13, se atribuye, en gran medida, al VR, el cual no fue afectado por la condición salina e incluso se observaron incrementos de VR en L13, L76H y el Cid, a pesar de que estas dos últimas son consideradas como susceptibles. Lo anterior se

asocia a una adaptación ante el estrés salino que consiste en la emisión de raíces con el propósito de incrementar el área de exploración y mantener el consumo y traslocación adecuados de nutrimentos esenciales para el crecimiento (Ludwiczak et al., 2021); situación observada también en etapas tempranas de desarrollo, como lo indican Deanda-Tovar et al. (2025). Esto generalmente es acompañado por otras estrategias como el cierre estomático y disminución de la tasa de transpiración para evitar pérdida de biomasa y rendimiento (Madugundu et al., 2023).

El crecimiento y rendimiento de L62 fueron severamente afectados, lo que se atribuye al estrés osmótico que altera el crecimiento de brotes y hojas y a la toxicidad iónica. Los iones tóxicos, Na^+ y Cl^- , interfieren con la absorción de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} (Zörb et al., 2018). La deficiencia de K^+ y Ca^{2+} durante la maduración de frutos incrementa el número de frutos con pudrición apical (Li et al., 2022). Por lo tanto, la disminución de la calidad de los frutos de L62 debe estar asociada con la deficiencia de estos iones esenciales.

La tolerancia a salinidad está asociada con mecanismos morfológicos como disminución de área foliar y mayor desarrollo de raíz (Flowers & Colmer, 2015), y mecanismos fisiológicos como altas tasas fotosintéticas, que favorecen la producción de moléculas energéticas, indispensables en la elongación y división celular (Tola et al., 2024), balances hormonales más estables, aumento de la actividad antioxidante, acumulación de moléculas osmoprotectoras, y acumulación y exclusión de iones tóxicos de vacuolas y tejidos (Khan et al., 2020; Negrão et al., 2017; Roşca et al., 2023), razones por las cuales, las líneas L13 y L4-1 podrían poseer algunos de estos mecanismos.

5.4 Conclusiones

El comportamiento diferencial del crecimiento vegetativo y rendimiento de los genotipos frente a las concentraciones salina y testigo, permitió la identificación de las líneas L13 y L4-1 como tolerantes. Los genotipos L76H y el Cid mostraron tolerancia intermedia, aunque, las sales no afectaron su crecimiento vegetativo, el rendimiento fue demeritado.

La salinidad reduce el crecimiento y rendimiento de plantas de tomate cuando son expuestas a largos periodos de estrés. La respuesta a la condición salina dependerá de la capacidad del genotipo para tolerar el estrés y activar mecanismos que le permitan adaptarse y mantener la productividad.

Agradecimientos

A Jorge Luis Sánchez Galicia por el apoyo ofrecido durante la instalación, conducción experimental y registro de datos.

Declaración de conflictos de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de intereses económicos ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

5.5 Referencias

- 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, Article 113. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-113>
- Agius, C., von Tucher, S., & Rozhon, W. (2022). The effect of salinity on fruit quality and yield of cherry tomatoes. *Horticulturae*, 8(1), Article 59. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010059>
- Al-Gaadi, K. A., Tola, E., Madugundu, R., Zeyada, A. M., Alameen, A. A., Edris, M. K., Edrees H. F. & Mahjoop, O. (2024). Response of leaf photosynthesis, chlorophyll content and yield of hydroponic tomatoes to different water salinity levels. *PLOS One*, 19(2), Article e0293098. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293098>
- Alharbi, S., Felemban, A., Abdelrahim, A., & Al-Dakhil, M. (2024). Agricultural and technology-based strategies to improve water-use efficiency in arid and semiarid areas. *Water*, 16(13), Article 1842. <https://doi.org/10.3390/w16131842>
- Bello, S. K., Alayafi, A. H., Al-Solaimani, S. G., & Abo-Elyousr, K. A. (2021). Mitigating soil salinity stress with gypsum and bio-organic amendments: A review. *Agronomy*, 11(9), Article 1735. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091735>
- Cela, F., Carmassi, G., Najjar, B., Taglieri, I., Sanmartin, C., Cialli, S., Ceccanti, C., Guidi, L., Venturi, F., & Incrocci, L. (2024). Salinity impact on yield, quality and sensory profile of ‘pisanello’ tuscan local tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in closed soilless cultivation. *Horticulturae*, 10(6), Article 570. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10060570>

- Conti, V., Parrotta, L., Romi, M., Del Duca, S., & Cai, G. (2023). Tomato biodiversity and drought tolerance: a multilevel review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, Article 10044. <https://doi.org/10.3390/ijms241210044>
- Costan, A., Stamatakis, A., Chrysargyris, A., Petropoulos, S. A., & Tzortzakis, N. (2019). Interactive effects of salinity and silicon application on *Solanum lycopersicum* growth, physiology and shelf-life of fruit produced hydroponically. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(2), 732-743. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10076>
- 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. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj102>
- Deanda-Tovar, A. A., Rodríguez-Pérez, J. E., Sahagún-Castellanos, J., Colinas-y-León, M. T. B., Pérez-Rodríguez, P., & Paredes-Cervantes, A. E. (2025). tomato lines tolerant to sodium chloride at early growth stages. *Horticulturae*, 11(5), Article 532. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050532>
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2015). Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Annals of Botany*, 115(3), 327-331. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu267>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2022). *The State of Food and Agriculture 2022. Leveraging Automation in Agriculture for Transforming Agrifood Systems*. <https://openknowledge.fao.org/items/98a4c80a-b4d3-403c-8557-d8536c8316ee>
- Gatahi, D. M. (2020). Challenges and opportunities in tomato production chain and sustainable standards. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 7(3), 235-262. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.300818.361>
- Ghanem, M. E., van Elteren, J., Albacete, A., Quinet, M., Martínez-Andújar, C., Kinet, J. M., & Lutts, S. (2009). Impact of salinity on early reproductive physiology of tomato (*Solanum lycopersicum*) in relation to a heterogeneous distribution of toxic ions in flower organs. *Functional Plant Biology*, 36(2), 125-136. <https://doi.org/10.1071/FP08256>

- Khalid, M. F., Huda, S., Yong, M., Li, L., Li, L., Chen, Z. H., & Ahmed, T. (2022). Alleviation of drought and salt stress in vegetables: crop responses and mitigation strategies. *Plant Growth Regulation*, 99(2), 177-194. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00905-x>
- Khan, A.; Bilal, S.; Khan, A.L.; Imran, M.; Shahzad, R.; Al-Harrasi, A.; Al-Rawahi, A.; Al-Azhri, M.; Mohanta, T. K.; Lee, I.-J. (2020). Silicon and gibberellins: synergistic function in harnessing aba signaling and heat stress tolerance in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Plants*, 9(5), Article 620. <https://doi.org/10.3390/plants9050620>
- Kraamwinkel, C. T., Beaulieu, A., Dias, T., & Howison, R. A. (2021). Planetary limits to soil degradation. *Communications Earth & Environment*, 2(1), Article 249. <https://doi.org/10.1038/s43247-021-00323-3>
- Li, J., Wu, Y., Feng, X., Hussain, T., Guo, K., & Liu, X. (2024). Nonuniform salinity regulate leaf characteristics and improve photosynthesis of cherry tomatoes under high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 217, Article 105565. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105565>
- Li, X., Wang, S., Chen, X., Cong, Y., Cui, J., Shi, Q., Liu, H. & Diao, M. (2022). The positive effects of exogenous sodium nitroprusside on the plant growth, photosystem II efficiency and Calvin cycle of tomato seedlings under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 299, Article 111016. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111016>
- Ludwiczak, A., Osiak, M., Cárdenas-Pérez, S., Lubińska-Mielińska, S., & Piernik, A. (2021). Osmotic stress or ionic composition: Which affects the early growth of crop species more? *Agronomy*, 11(3), Article 435. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030435>
- Madugundu, R., Al-Gaadi, K. A., Tola, E., Patil, V. C., & Sigrimis, N. (2023). The impact of salinity and nutrient regimes on the agro-morphological traits and water use efficiency of tomato under hydroponic conditions. *Applied Sciences*, 13(17), Article 9564. <https://doi.org/10.3390/app13179564>
- Magán J. J., Gallardo, M., Thompson, R. B, Lorenzo P. (2008). Effects of salinity on fruit yield and quality of tomato grown in soil-less culture in greenhouses in Mediterranean climatic conditions. *Agricultural Water Management*, 95(9), 1041–1055. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2008.03.01>

- Meza, S. L., Egea, I., Massaretto, I. L., Morales, B., Purgatto, E., Egea-Fernández, J. M., Bolarín, M. C. & Flores, F. B. (2020). Traditional tomato varieties improve fruit quality without affecting fruit yield under moderate salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 587754. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.587754>
- Moles, T. M., de Brito Francisco, R., Mariotti, L., Pompeiano, A., Lupini, A., Incrocci, L., Carmassi, G., Scartazza, A., Pistelli, L., Guglielminetti, L., Pardossi, A., Sunseri, F., Hörtensteiner, S. & Santelia, D. (2019). Salinity in autumn-winter season and fruit quality of tomato landraces. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 1078. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01078>
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x>
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Negrão, S., Schmöckel, S.M., & Tester M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*, 119(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw191>
- Ntanasi, T., Karavidas, I., Zioviris, G., Ziogas, I., Karaolani, M., Fortis, D., Conesa, M. A., Schubert, A., Savvas, D. & Ntatsi, G. (2023). Assessment of growth, yield, and nutrient uptake of mediterranean tomato landraces in response to salinity stress. *Plants*, 12(20), Article 3551. <https://doi.org/10.3390/plants12203551>
- Ortas, I., Rafique, M., Çekiç, F.Ö. (2021). Do Mycorrhizal Fungi Enable Plants to Cope with Abiotic Stresses by Overcoming the Detrimental Effects of Salinity and Improving Drought Tolerance?. In: Shrivastava, N., Mahajan, S., Varma, A. (Eds) *Symbiotic Soil Microorganisms. Soil Biology* (pp. 391-428). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51916-2_23
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 4056-4075. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>
- Carillo, P., Soteriou, G. A., Kyriacou, M. C., Giordano, M., Raimondi, G., Napolitano, F., Di Stasio, E., Mola, I. D., Mori, M., & Roupahel, Y. (2021). Regulated salinity eustress in

- a floating hydroponic module of sequentially harvested lettuce modulates phytochemical constitution, plant resilience, and post-harvest nutraceutical quality. *Agronomy*, 11(6), Article 1040. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061040>
- Quinet, M., Angosto, T., Yuste-Lisbona, F. J., Blanchard-Gros, R., Bigot, S., Martinez, J. P., & Lutts, S. (2019). Tomato fruit development and metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 1554. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01554>
- Raza, A., Tabassum, J., Fakhar, A. Z., Sharif, R., Chen, H., Zhang, C., Ju, L., Fotopoulus, V., Siddique, K. H. M., Singh, R. K., Zhuang, W. Varshney, R. K. (2022). Smart reprogramming of plants against salinity stress using modern biotechnological tools. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(7), 1035–1062. <https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2093695>
- Roşca, M., Mihalache, G., & Stoleru, V. (2023). Tomato responses to salinity stress: From morphological traits to genetic changes. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1118383. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1118383>
- Roy, S. J., Negrão, S., & Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>
- Shahzad, B., Yun, P., Shabala, L., Zhou, M., Sellamuthu, G., Venkataraman, G., Chen, Z. H., & Shabala, H. (2022). Unravelling the physiological basis of salinity stress tolerance in cultivated and wild rice species. *Functional Plant Biology*, 49(4), 351-364.
- Singh, A. K., Pal, P., Sahoo, U. K., Sharma, L., Pandey, B., Prakash, A., Sarangi, P. K., Prus, P., Paşcalău, R., & Imbrea, F. (2024). Enhancing Crop Resilience: The role of plant genetics, transcription factors, and next-generation sequencing in addressing salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23), Article 12537. <https://doi.org/10.3390/ijms252312537>
- Tola, E., Al-Gaadi, K. A., Madugundu, R., Zeyada, A. M., Edris, M. K., Edrees, H. F., & Mahjoop, O. (2024). Yield response of grafted and self-rooted tomato plants grown hydroponically under varying levels of water salinity. *Agronomy*, 14(6), Article 1240. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061240>

- Voutsinos-Frantzis, O., Karavidas, I., Petropoulos, D., Zioviris, G., Fortis, D., Ntanasi, T., Ropokis, A., Karkanis, A., Sabatino, L., Savvas, D., & Ntatsi, G. (2023). Effects of NaCl and CaCl₂ as eustress factors on growth, yield, and mineral composition of hydroponically grown *Valerianella locusta*. *Plants*, 12(7), Article 1454. <https://doi.org/10.3390/plants12071454>
- Yadav, S. P., Bharadwaj, R., Nayak, H., Mahto, R., Singh, R. K., & Prasad, S. K. (2019). Impact of salt stress on growth, productivity and physicochemical properties of plants: A Review. *International Journal of Chemical Studies*, 7(2), 1793-1798. https://www.researchgate.net/profile/Shiv-Yadav-19/publication/332605054_Impact_of_salt_stress_on_growth_productivity_and_physicochemical_properties_of_plants_A_Review/links/5ddbf2e592851c1fedb1c0e7/Impact-of-salt-stress-on-growth-productivity-and-physicochemical-properties-of-plants-A-Review.pdf
- Yuan, L., Zhang, L., Wei, X., Wang, R., Li, N., Chen, G., Fan, F., Huang, S., Li, J., & Li, S. (2022). Quantitative trait locus mapping of salt tolerance in wild rice *Oryza longistaminata*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), Article 2379. <https://doi.org/10.3390/ijms23042379>
- Yunus, Q., & Zari, M. (2017). Effect of exogenous silicon on ion distribution of tomato plants under salt stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48(16), 1843–1851. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1311908>
- Zhang, P., Senge, M., & Dai, Y. (2016). Effects of salinity stress on growth, yield, fruit quality and water use efficiency of tomato under hydroponics system. *Reviews in Agricultural Science*, 4, 46-55. <https://doi.org/10.7831/ras.4.46>
- Zhou, Q., Lyu, D., Li, W., Wen, Y., & Wang, Z. (2024). Effects of irrigation amount and salinity levels on maize (*Zea mays* L.) growth, water productivity and carbon emissions in arid region of northwest China. *Agronomy*, 14(11), Article 2656. <https://doi.org/10.3390/agronomy14112656>
- Zörb, C., Geilfus, C. M., & Dietz, K. J. (2018). Salinity and crop yield. *Plant Biology*, 21(S1), 31–38. <https://doi.org/10.1111/plb.12884>

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN GENERAL

Las líneas tolerantes en germinación mostraron mayor porcentaje de germinación, longitud de plántula y acumulación de materia seca respecto al testigo ($P \leq 0.05$); mientras que, en etapa de plántula tuvieron mayor altura de planta, longitud de raíz y área foliar, así como mayor acumulación de materia seca ($P \leq 0.05$). El aumento de la materia seca como mecanismo de tolerancia al estrés salino también se ha reportado en otros cultivos; esta respuesta se asocia con aumentos en la síntesis de solutos orgánicos como azúcares reductores, azúcares totales, prolina y aminoácidos, que ayudan a contrarrestar los efectos osmóticos y a mantener el estado hídrico de la planta (Mwando et al., 2021; Rodríguez-Delfín et al., 2014).

En las evaluaciones fenotípicas en plántula y germinación, se identificaron tres líneas que fueron susceptibles a la salinidad en germinación y tolerantes en plántula y viceversa, lo que sugiere que los complejos genéticos que rigen la tolerancia a la salinidad pueden ser diferentes; en otros cultivos, también se ha demostrado diferente grado de tolerancia de acuerdo con la etapa fenológica (Li et al., 2024; Oguz et al., 2022).

En planta adulta, el desarrollo fue demeritado ($P \leq 0.05$) por el estrés salino con respecto al testigo; se redujo la altura de planta, materia seca de tallo y el consumo acumulado de solución nutritiva; en contraste, no se afectó el área foliar ni la materia seca de raíz y hoja; además, ocurrieron incrementos en volumen de raíz y unidades SPAD. Un sistema de raíz bien desarrollado permite el correcto suministro y distribución de agua y nutrientes, lo que favorece el adecuado desarrollo y crecimiento de las plantas (Ludwiczak et al., 2021). Las unidades SPAD están asociadas al contenido de clorofila, por lo que incrementos en unidades SPAD indican mayor contenido de clorofila (Yunus & Zari, 2017). El incremento en contenido de clorofila está relacionado con cambios en la morfología y densidad de los tejidos foliares, ya que, la salinidad, al reducir el tamaño de las hojas, aumenta la concentración de clorofila por unidad de área foliar (Shahzad et al., 2022).

En plántula y planta adulta, la acumulación de materia seca y longitud de raíz fueron características que determinaron el grado de tolerancia a salinidad en las líneas evaluadas, estas características podrían considerarse en la selección de genotipos tolerantes. En investigaciones previas se ha demostrado que la raíz y longitud de planta se correlacionan con la tolerancia a la salinidad (López-Méndez et al., 2024; Ruiz Espinoza et al., 2014; Shanika & Serán, 2020).

El comportamiento de las líneas tolerantes varió en las tres etapas fenológicas evaluadas, lo que indica que en cada fase del desarrollo se identificaron diferentes líneas con tolerancia a la salinidad. Por lo tanto, en los programas de mejoramiento genético orientados al desarrollo de variedades tolerantes a sales, es fundamental realizar la identificación y selección de genotipos de manera específica para cada etapa de crecimiento.

De acuerdo con los análisis GWAS, las regiones genómicas y/o genes identificados ($p \leq 0.001$) se asociaron con mecanismos de tolerancia que participan en la eliminación de especies reactivas de oxígeno, mantenimiento de la homeóstasis iónica, regulación de las vías de señalización del ácido abscísico y biosíntesis de metabolitos secundarios como la prolina (Sing et al., 2024; Wang et al., 2020;), lo que demuestra la importancia de evaluar los metabolitos secundarios en la identificación de genotipos tolerantes al estrés salino (Xin et al., 2021; Zhu 2016). Adicionalmente, se identificaron genes que participan en la regulación de la estructura de la cromatina, regulación génica, reparación del ADN, reparación de daños en el cloroplasto y mantenimiento de la estructura y función de las células (Chirinos-Arias & Spampinato, 2021; Wang et al., 2016; Zhu et al., 2015).

Se ha demostrado que los genotipos tolerantes a salinidad tienen mayor expresión de genes o factores de transcripción que codifican para proteínas transportadoras de iones, genes que participan en la biosíntesis de metabolitos secundarios y hormonas del crecimiento (Hichri et al., 2015; Zhang et al., 2020), por lo que se midió el nivel de expresión de genes de tolerancia a salinidad en plántulas de dos genotipos tolerantes y dos susceptibles ante condiciones salina (125 mM de NaCl) y testigo; sin embargo, el nivel de expresión de los genes de tolerancia dentro de cada genotipo no mostraron

diferencias en la condición salina con respecto al testigo, lo que puede estar relacionado con la concentración de NaCl aplicada al medio de crecimiento, la función de los genes y el periodo de exposición al estrés (Toranj et al., 2019).

En los análisis GWAS, una vez identificados los genes cercanos a SNPs significativamente asociados con características de interés agronómico, se realiza la validación funcional de los genes mediante análisis de expresión génica con herramientas biotecnológicas como RT-qPCR o ARN-seq con el fin de confirmar diferencias en la expresión entre genotipos contrastantes (tolerantes y susceptibles). Además, se realizan estudios de silenciamiento génico para confirmar el efecto del gen sobre el fenotipo y los genes se evalúan en diferentes poblaciones y condiciones para asegurar la consistencia de su efecto (Rockstad et al., 2025; Sahito et al., 2024).

El objetivo de la validación de los genes es su aplicación en programas de mejoramiento genético a través de la selección asistida por marcadores al seleccionar individuos con potencial genético deseado desde etapas tempranas del crecimiento (Naeem et al., 2021).

6.1 Literatura citada

- Chirinos-Arias, M. C., & Spampinato, C. P. (2021). Role of the mismatch repair protein MSH7 in Arabidopsis adaptation to acute salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 280-290. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.11.029>
- Hichri, I., Muhovski, Y., Clippe, A., Žižková, E., Dobrev, P. I., Motyka, V., & Lutts, S. (2015). SIDREB2, a tomato dehydration-responsive element-binding 2 transcription factor, mediates salt stress tolerance in tomato and Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment*, 39(1), 62-79. <https://doi.org/10.1111/pce.12591>
- Li, J., Wu, Y., Feng, X., Hussain, T., Guo, K., & Liu, X. (2024). Nonuniform salinity regulate leaf characteristics and improve photosynthesis of cherry tomatoes under high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 217, Article 105565. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105565>
- López-Méndez, A. G., Rodríguez-Pérez, J. E., Mascorro-Gallardo, J. O., Sahagún-Castellanos, J., & Lobato-Ortiz, R. (2024). Sodium chloride tolerance during germination and seedling stages of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) lines native to Mexico. *Horticulturae*, 10(5), Article 466. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10050466>
- Ludwiczak, A., Osiak, M., Cárdenas-Pérez, S., Lubińska-Mielińska, S., & Piernik, A. (2021). Osmotic stress or ionic composition: Which affects the early growth of crop species more? *Agronomy*, 11(3), Article 435. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030435>
- Mwando, E.; Angessa, T.T.; Han, Y.; Zhou, G.; Li, C. (2021). Quantitative trait loci mapping for vigour and survival traits of barley seedlings after germinating under salinity stress. *Agronomy*, 11(1), Article 103. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010103>
- Naeem, M., Demirel, U., Yousaf, M. F., Caliskan, S., & Caliskan, M. E. (2021). Overview on domestication, breeding, genetic gain and improvement of tuber quality traits of potato using fast forwarding technique (GWAS): a review. *Plant Breeding*, 140(4), 519-542. <https://doi.org/10.1111/pbr.12927>

Oguz, M. C., Aycan, M., Oguz, E., Poyraz, I., & Yildiz, M. (2022). Drought stress tolerance in plants: interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages. *Physiologia*, 2(4), 180-197. <https://doi.org/10.3390/physiologia2040015>

Rockstad, G. B., Yu, X., de Siqueira Gesteira, G., Gaire, S., Dickey, A. N., Gouveia, B. T., Schoonmaker, A. N., Hulse-Kemp, A. M., & Milla-Lewis, S. R. (2025). The integration of quantitative trait locus mapping and transcriptome studies reveals candidate genes for water stress response in *St. Augustinegrass*. *BMC Plant Biology*, 25(1), Article 662. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06692-7>

Rodríguez-Delfín, A., Posadas, A., & Quiroz, R. (2014). Rendimiento y absorción de algunos nutrientes en plantas de camote cultivadas con estrés hídrico y salino. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 20(1), 19-28. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.01.001>

Ruiz Espinoza H. F., 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 (*Lycopersicum esculentum* Mill.) en primeras etapas fenológicas. *Terra Latinoamericana*, 32, 311-323.

Sahito, J. H., Zhang, H., Gishkori, Z. G. N., Ma, C., Wang, Z., Ding, D., Zhang, X., & Tang, J. (2024). Advancements and Prospects of Genome-Wide Association Studies (GWAS) in Maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), Article 1918. <https://doi.org/10.3390/ijms25031918>

Shahzad, B., Yun, P., Shabala, L., Zhou, M., Sellamuthu, G., Venkataraman, G., Chen, Z. H., & Shabala, H. (2022). Unravelling the physiological basis of salinity stress tolerance in cultivated and wild rice species. *Functional Plant Biology*, 49(4), 351-364.

Shanika, M. M. A. N., & Seran, T. H. (2020). Impact of salinity on seed germination and seedling performance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cv KC-1. *Journal of Science*, 11(2), 1-11. <https://doi.org/10.4038/jsc.v11i2.26>

Singh, A. K., Pal, P., Sahoo, U. K., Sharma, L., Pandey, B., Prakash, A., Sarangi, P. K., Prus, P., Paşcalău, R., & Imbrea, F. (2024). Enhancing crop resilience: the role of

plant genetics, transcription factors, and next-generation sequencing in addressing salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23), Article 12537. <https://doi.org/10.3390/ijms252312537>

Toranj, S., Aliabad, K. K., Abbaspour, H., & Saeedpour, A. (2020). Effect of salt stress on the genes expression of the vacuolar H⁺-pyrophosphatase and Na⁺/H⁺ antiporter in *Rubia tinctorum*. *Molecular Biology Reports*, 47, 235-245. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05124-8>

Wang, N., Zhong, X., Cong, Y., Wang, T., Yang, S., Li, Y., & Gai, J. (2016). Genome-wide analysis of phosphoenolpyruvate carboxylase gene family and their response to abiotic stresses in soybean. *Scientific Reports*, 6(1), Article 38448. <https://doi.org/10.1038/srep38448>

Wang, W. R., Liang, J. H., Wang, G. F., Sun, M. X., Peng, F. T., & Xiao, Y. S. (2020). Overexpression of PpSnRK1 α in tomato enhanced salt tolerance by regulating ABA signaling pathway and reactive oxygen metabolism. *BMC Plant Biology*, 20, Article 128. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02342-2>

Xin, J., Li, C., Ning, K., Qin, Y., Shang, J. X., & Sun, Y. (2021). AtPFA-DSP3, an atypical dual-specificity protein tyrosine phosphatase, affects salt stress response by modulating MPK3 and MPK6 activity. *Plant, Cell & Environment*, 44(5), 1534-1548. <https://doi.org/10.1111/pce.14002>

Yunus, Q., & Zari, M. (2017). Effect of exogenous silicon on ion distribution of tomato plants under salt stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48(16), 1843–1851. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1311908>

Zhang, P., Wang, R., Yang, X., Ju, Q., Li, W., Lü, S., Tran, L. S. P. & Xu, J. (2020). The R2R3-MYB transcription factor AtMYB49 modulates salt tolerance in *Arabidopsis* by modulating the cuticle formation and antioxidant defense. *Plant, Cell & Environment*, 43(8), 1925-1943. <https://doi.org/10.1111/pce.13784>

Zhu, J. K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>

Zhu, M., Chen, G., Dong, T., Wang, L., Zhang, J., Zhao, Z., & Hu, Z. (2015). SIDEAD31, a putative DEAD-box RNA helicase gene, regulates salt and drought tolerance and stress-related genes in tomato. *PLOS One*, 10(8), Article e0133849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133849>

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES GENERALES

El comportamiento diferencial de las líneas en etapas de germinación y plántula permitió identificar genotipos tolerantes y susceptibles al estrés salino mediante la evaluación del crecimiento y desarrollo al utilizar pruebas cortas. En planta adulta, la salinidad redujo el crecimiento y rendimiento de plantas expuestas a largos periodos de estrés.

En las tres etapas fenológicas evaluadas, los genotipos mostraron diferente capacidad para tolerar el estrés y activar mecanismos de adaptación. Esto implica que la tolerancia a salinidad está regulada por la expresión de diferentes complejos genéticos.

En las evaluaciones fenotípicas de plántula y planta adulta, la raíz mostró incrementos en las condiciones salinas, lo que sugiere la utilidad de esta característica para ser considerada en la selección de genotipos tolerantes a sales.

El análisis GWAS identificó SNPs con anotaciones funcionales, en la pruebas de germinación y plántula, asociados a mecanismos de tolerancia a estrés abiótico; genes que participan en la actividad antioxidante, síntesis y regulación de hormonas, transportadores de membrana plasmática y mecanismos de reparación y detoxificación.

En la identificación y selección de genotipos tolerantes a sales, el uso de pruebas cortas en etapas tempranas puede reducir los costos y períodos de evaluación; mientras que los análisis GWAS pueden emplearse en la identificación de genes candidatos asociados a la tolerancia, para ser aprovechados como marcadores moleculares en programas de mejoramiento genético.