



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA**

**ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICA PARA TOLERANCIA A
Rhizoctonia solani EN TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)**

TESIS

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

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



APROBADA



PRESENTA:

ANA ELIZABETH PAREDES CERVANTES

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DR. JUAN ENRIQUE RODRÍGUEZ PÉREZ

CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, DICIEMBRE 2020



ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICA PARA TOLERANCIA A *Rhizoctonia solani* EN TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Tesis realizada por **Ana Elizabeth Paredes Cervantes** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

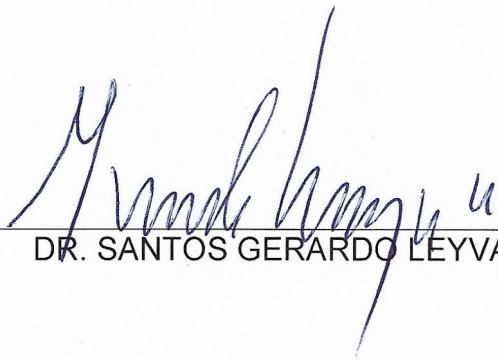
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR



DR. JUAN ENRIQUE RODRÍGUEZ PÉREZ

CODIRECTOR



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

ASESOR



DR. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS

Chapingo, México, diciembre de 2020.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), para su financiación. durante mi programa de estudios de doctorado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al personal académico de la maestría en Ciencias en Horticultura por la oportunidad y el invaluable aprendiendo que me otorgaron.

Al Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, por su correcta dirección, disponibilidad, colaboración, experiencia y sugerencias durante el desarrollo de este trabajo y especialmente por su amable apoyo y amistad en varias etapas de mi vida profesional.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir por su valioso apoyo para la mejora de este trabajo y disposición para compartir su conocimiento en el campo.

Al Dr. Jaime Sahagún Castellanos, con todo mi respeto y gratitud por acompañándome a lo largo del largo viaje para completar este proyecto, para su contribuciones y observaciones hechas a la presente investigación.

A mis compañeros de maestría que me acompañaron en este proyecto que emprendí especialmente a Alma Aurora, Jhusua David, Francisca, Juanita, Cesar y demás compañeros.

A todo el equipo de trabajo del programa de mejoramiento genético de Jitomate especialmente a Ariadna, Julio Cesar, Diego, Ismael, Placido, Dennise, y a los chicos de la carrera de Horticultura Protegida que siempre han estado apoyándonos en el programa.

A los trabajadores el Sr. Eusebio Moreno Silva, el Sr. Ángel Flores Estrada por su apoyo durante el establecimiento de los experimentos en invernadero.

Al C. Jorge Luis Sánchez Galicia por su apoyo en el registro de variables y conducción de los experimentos establecidos en la fase de invernadero.

Al Quim. Ricardo Gaspar Hernández por su apoyo en la extracción de ADN durante la fase de laboratorio.

Dra. Leticia Robles Yerena, por su tiempo destinado a la preparación, establecimiento y revisión de la presente investigación.

DEDICATORIA

A Dios, que me dio la fuerza para seguir adelante a pesar de dificultades, para ponerme en el mejor camino, iluminando cada paso de mi vida para ser una mejor persona.

A mis padres, Rosario y Verónica por sus bendiciones, apoyo y por ser personas ejemplares que me motivan en la vida. Por enseñarme a ser responsable de lo que sirvió de base para alcanzar esta meta. Estoy muy orgullosa de ser su hija, gracias.

A mis hermanos Kevin Uriel y Andrea, que me motivan cada día a no rendirme, gracias por su amor y compañía en esta familia que compartimos.

A mis abuelos José, Rosa y Eleuteria que siempre me dan sus bendiciones y me desean lo mejor en la vida.

A mis tíos Gilberto, Lupita, José y a mi prima Luna, que siempre estuvieron dispuestos a apoyarme en todas las cosas que necesitaba, por su cariño y motivación.

A Irouri por su apoyo y aliento que me da día tras día para alcanzar nuevos objetivos, tanto profesionales como personales.

A Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez por ser mi amigo y enseñarme miles de cosas tanto académicas como personales, nunca me imagine lograr todo esto, gracias por acogerme y apoyarme incondicionalmente.

Al Dr. Efraín Contreras por su sincera amistad y su amena compañía durante todos estos años.

A todas las personas que conviven en programa de mejoramiento de jitomate, alumnos, profesores y trabajadores que me brindan su amistad y su valiosa compañía.

DATOS BIOGRÁFICOS

Fecha de nacimiento: 29/05/1995

Lugar de nacimiento: El Sauz, Cardonal, estado de Hidalgo, México.

Correo electrónico: paredescerv29@gmail.com

CURP: PACA950529MHGRRN01

Cedula profesional: 11930785

Bachillerato: Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo, 2014.

Agronomía en Horticultura Protegida. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo, titulada con la tesis: Calidad poscosecha, tolerancia a enfermedades, rendimiento y caracterización molecular, de híbridos experimentales de tomate. Fecha de examen de grado 19 de octubre de 2018.

INDICE

DATOS BIOGRÁFICOS	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1.Objetivo general	3
2.1.1Objetivos específicos	3
3. HIPÓTESIS	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1. Resistencia a enfermedades	5
4.2. Resistencia Horizontal.....	6
4.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	6
4.4. Marcador genético.....	7
4.5. GBS (Genotyping by Sequencing).....	8
4.6. Análisis de asociación genómica (GWAS).....	9
5. MATERIALES Y MÉTODOS	11
5.1. Ubicación.....	11
5.2. Genotipos evaluados	11
5.3. Preparación del inóculo	11
5.4. Prueba de patogenicidad.....	12
5.5. Análisis de datos fenotípicos (fenotipificación)	13
5.6. Análisis de datos genómicos (genotipificación)	14
5.6.1. Extracción de ADN.....	14
5.6.2. Descubrimiento y procesamiento de datos de SNP	14
5.7. Localización de SNP en el genoma de <i>Solanum lycopersicum</i>	15
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
Resultados de la secuenciación del genoma y estructura de la población.....	19
CONCLUSIONES	24
LITERATURA CITADA.....	25
ANEXOS	30

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag
Cuadro 1 . Cuadrados medios de análisis de varianza de variables fenotípicas de 92 líneas (F ₁₀ a F ₁₂).	16
Cuadro 2. Comparación de variables fenotípicas del factor RH	17
Cuadro 3. Réplicas, la varianza genotípica y la heredabilidad de los datos fenotípicos se estimaron a partir del análisis de varianza utilizando un análisis de prueba en múltiples entornos con el software R (Alvarado <i>et al.</i> 2015).	18
Cuadro 4. El coeficiente de correlación de Pearson entre variables fenotípicas evaluadas.	18
Cuadro 5. Total de 12 genes de tomate con valores $p \leq 3.00$. localizados	23
Cuadro 1A. Comparación de medias de variables fenotípicas entre líneas	30
Cuadro 2A. SNPs no localizados en el genoma de referencia	33

INDICE DE FIGURAS

	Pag
Figura 1. Árbol de enlace vecino basado en el cálculo de distancias genéticas desde la identidad por estado (IBS) estimadas a partir de SNP de alta calidad. El árbol se construyó con 92 líneas de tomate élite (<i>Solanum lycopersicum</i> L.), con 14.328 marcadores SNP. El dendrograma muestra 3 grupos, el primer (I) color azul donde se encuentran líneas de crecimiento mayoritariamente indeterminadas, el segundo (II) color naranja que contiene líneas mayoritariamente heterogéneas, y finalmente el grupo (III) mayoritariamente con líneas donde el color rojo del fruto predomina.	19
Figura 2. Gráficos de Manhattan para 7 Rasgos fenotípicos construidos. Todos los valores de $-\text{Log}_{10}(\text{P-value}) > 3$ para todo el genoma obtenidos de TASSEL v5.2.67 basados en un modelo lineal general ponderado con 92 líneas élite de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L), con 14.328 marcadores SNP. ALF: altura final de planta; USPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; D: tasa de crecimiento de la planta . En los gráficos de Manhattan, la línea roja indica el umbral para una asociación SNP significativa.	20

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICA PARA TOLERANCIA A *Rhizoctonia solani* EN TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

GENOMIC ASSOCIATION ANALYSIS FOR TOLERANCE TO *Rhizoctonia solani* IN TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.)

Ana Elizabeth Paredes Cervantes y Juan Enrique Rodríguez Pérez

RESUMEN

El tomate es un cultivo altamente susceptible a *Rhizoctonia solani*, la cual ataca severamente a la raíz y actualmente no se cuenta con genes de resistencia identificados para esta enfermedad. El objetivo fue identificar regiones genómicas asociadas a caracteres fenotípicos de herencia cuantitativa para la tolerancia a *Rhizoctonia solani* en 95 líneas homocigóticas de tomate mediante el análisis de asociación de genoma completo GWAS. Las evaluaciones fenotípicas se realizaron en un sistema de balsa flotante mediante placas de poliestireno, con densidad de 166 plantas·m⁻². Se evaluó en plántulas la altura (AP), longitud de raíz, unidades SPAD, área foliar, peso seco de raíz (PSR) y de parte aérea (PSA). Se usó un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones y 5 plantas como unidad experimental. Los análisis de varianza mostraron significancia para líneas en todos los rasgos, sin detectarse significancia en la interacción genotipo x enfermedad. Los coeficientes de variación variaron entre 9.75 y 37.11 %, la varianza genotípica entre 0.002 y 0.021, y la heredabilidad entre 0.47 y 0.57. La genotipificación por secuenciación (GBS) de este panel de diversidad generó 22,127 marcadores de SNP, aunque solo 14,328 fueron útiles. El análisis de asociación del genoma completo (GWAS), mediante el modelo lineal general con el programa Tassel, aplicado para asociar los SNPs identificados por el GBS con los caracteres fenotípicos, localizó 47 SNPs significativos, de los cuales 12 se encuentran ubicados en los cromosomas 1, 3, 4, 5, 6, 9 y 11. La AP y SPAD se asociaron a 3 genes cada uno, PSA y PSR a dos cada uno y LR a uno solo. Estos resultados indican que el análisis GWAS puede ser herramienta efectiva en el mejoramiento genético asistido para ser utilizado en la selección de tolerancia a *Rhizoctonia solani*.

Palabras clave: GBS, SNP, GWAS, Genotipificación, Selección

ABSTRACT

Tomato is a crop highly susceptible to *Rhizoctonia solani*, which attacks the roots severely and currently there are no identified resistance genes for this disease. The objective was to identify genomic regions associated with phenotypic traits of quantitative inheritance for resistance to *Rhizoctonia solani* in 95 homozygous tomato lines by means of genome-wide association analysis (GWAS). The phenotypic evaluations were carried out in a floating raft system using polystyrene plates, with a density of 166 seedling m⁻². Height (PH), root length, SPAD units, foliar area, root dry weight (RW) and aerial part (AW) were evaluated in seedlings. A randomized complete block design with three replicates and 5 seedlings was used as the experimental unit. The analysis of variance showed significance for lines in all the traits, without detecting significance in the genotype x disease interaction. The coefficients of variation varied between 9.75 and 37.11%, the genotypic variance between 0.002 and 0.021, and the heritability between 0.47 and 0.57. Genotyping by sequencing (GBS) of this diversity panel generated 22,127 SNP markers, although only 14,328 were useful. The whole genome association analysis (GWAS), using the general linear model with the Tassel program, applied to associate the SNPs identified by the GBS with the phenotypic characters, located 47 significant SNPs, of which 12 are located on chromosomes 1, 3, 4, 5, 6, 9 and 11. AP and SPAD were associated with 3 genes each, AW and RW with two each and LR with only one. These results indicate that the GWAS analysis can be an effective tool in assisted genetic improvement to be used in the selection of tolerance to *Rhizoctonia solani*.

Key words: GBS, SNP, GWAS, Genotyping, Selection

1. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la segunda hortaliza más sembrada en el mundo después de la papa. China es el principal país productor, mientras que Estados Unidos es el principal importador, en tanto que México a nivel mundial es el décimo productor y el principal exportador de esta hortaliza con una participación mundial del 25.11% de las exportaciones totales.

Actualmente el tomate es el cuarto cultivo de importancia por su contribución en el valor de la producción agrícola primaria en México después del maíz, aguacate y la caña de azúcar (FIRA, 2019). Sin embargo, este cultivo es el primer generador de divisas del sector agropecuario por concepto de exportaciones con un PIB agrícola de 3.46 %, además tiene una superficie de 50 mil hectáreas tanto en campo abierto como en malla sombras e invernaderos (SADER, 2019).

En el mejoramiento genético de plantas, los objetivos perseguidos involucran diversas características que garantizan el éxito comercial de los cultivos, donde se encuentra el rendimiento, la calidad de fruto, morfología de la planta, resistencia a plagas, enfermedades y factores abióticos adversos. Debido a que las enfermedades destruyen aproximadamente 20 % de la producción de alimentos, actualmente es obligado el uso excesivo de agroquímicos, la gran mayoría contaminantes, justificado por la necesidad de garantizar alimentación mundial (Robinson, 2007).

En general la introducción de patógenos exóticos, la homogeneidad genética de los cultivares y el manejo intensivo de los cultivos contribuyen a la emergencia y reemergencia de enfermedades que amenazan la sanidad vegetal. El cultivo del tomate es afectado por más de 100 enfermedades de diversa índole; tal es el caso del hongo *Rhizoctonia solani* que causa la pudrición de raíz en una amplia gama de cultivos. Este hongo se puede encontrar en la mayoría de los suelos y sobrevive como esclerocios durante mucho tiempo hasta esperar un hospedero, lo que hace más difícil su control a

diferencia de otras enfermedades. Daña en su mayoría de veces las primeras etapas del desarrollo del cultivo tanto en la germinación y a nivel plántula.

El mejoramiento genético es una de las actividades más antiguas que se realizan en la agricultura, esto inició de manera empírica al seleccionar plantas con características que el hombre requería. Actualmente es una disciplina preponderante ya que las exigencias del mercado hacen necesario la mejora permanente de los cultivos (Lobato et al., 2012). Dentro de las herramientas de reciente desarrollo, gracias al avance de la biotecnología, se encuentran las técnicas de GBS (genotyping-by-sequencing) y GWAS (Genome-Wide Association-Study), los cuales en conjunto permiten la asociación de caracteres cuantitativos a marcadores moleculares de alta densidad (SNPs), con lo que la selección promete un avance substancial, al complementar el manejo convencional de genes mayores de resistencia a enfermedades (Ali y Yan, 2012).

La aplicación de estas técnicas requiere de la cuantificación de caracteres fenotípicos cuantitativos (fenotipificación), lo que exige evaluaciones precisas, que en el caso de enfermedades es más complicado, por lo que es escasa su aplicación en este campo. Dichas evaluaciones fenotípicas son analizadas simultáneamente con la información genotípica a partir de marcadores moleculares de alta densidad (genotipificación), con el propósito de identificar regiones genómicas asociadas a la resistencia de enfermedades u otras características de herencia cuantitativa.

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo general

- Identificar regiones genómicas asociadas a caracteres fenotípicos de herencia cuantitativa para la tolerancia de *Rhizoctonia solani* en 95 líneas avanzadas (F10 a F12) mediante el análisis de asociación de genoma completo GWAS (Genome Wide Association Study),

2.1.1Objetivos específicos

- Evaluar algunas características fenotípicas asociadas a la tolerancia a *Rhizoctonia solani*, y detectar aquellas que permitan la discriminación de genotipos con mayores posibilidades de subsistir ante esta enfermedad.
- Determinar las asociaciones entre características fenotípicas de resistencia o tolerancia a *Rhizoctonia solani* con características genotípicas mediante métodos bioinformáticos GBS (genome by sequencing) y GWAS (genome wide association study).
- Identificar marcadores moleculares SNPs eficientes para la selección de tolerancia a *Rhizoctonia solani* en tomate.
- Investigar el significado biológico de las asociaciones con mayor significancia, mediante el genoma de referencia y los SNPs significativos identificados en el presente estudio.

3. HIPÓTESIS.

La tolerancia de tomate a *Rhizoctonia solani* está regulada por genes de efectos aditivos; los cuales, al estar ubicados en regiones genómicas específicas, es posible identificarlas mediante la técnica de secuenciación GBS y de asociación GWAS, lo que da como resultado, seleccionar líneas tolerantes asociadas a la variación genética aditiva.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

El tomate tiene origen en Sur América y fue domesticado en México (Délices *et al.*, 2019). Se distribuyó a todo el mundo después del descubrimiento de este continente; y debido a la gran importancia que ha adquirido en la alimentación mundial, durante mucho tiempo, tal vez cientos de años se han realizado estudios relevantes sobre este cultivo. Actualmente tiene gran importancia en países con densidades de población muy grandes como China e India, países con la mayor producción a nivel mundial (FIRA, 2019).

El tomate es una planta que se ha empleado como modelo en la investigación, cuyo estudio y actual secuenciación del genoma, ha permitido la aportación de nuevos conocimientos útiles para el entendimiento de procesos fisiológicos y genéticos de las plantas (Fentik, 2017), en campos como el mapeo genético, caracterización genética (por ejemplo, genes de resistencia a patógenos vegetales), transferencia de genes (Seisuke & Neelima, 2011). A pesar de estas características distintivas, el tomate ha sufrido pérdida de diversidad genética, por lo que, al igual que muchos cultivos altamente domesticados, posee problemas inherentes a la producción como plagas, enfermedades y de adaptación.

El tomate es afectado por más de 100 enfermedades de importancia económica; por ello que ha tomado gran relevancia la atención del mejoramiento hacia la incorporación de resistencia a estas. Una herramienta que facilita los procesos de selección dentro del mejoramiento genético son los marcadores moleculares de ADN, los cuales al estar relacionados con rasgos fenotípicos de importancia, su uso ya es frecuente y obligado en el proceso de generación de variedades mejoradas para identificar diversos rasgos de la calidad de fruto, caracteres morfológicos y son especialmente empleados en la detección de resistencias a enfermedades, que son características difíciles de observar y costosas para su evaluación fenotípica.

La evaluación de resistencias a enfermedades en ensayos biológicos no siempre es confiables, ya que pueden ser afectadas fuertemente por el ambiente. Es por ello, que los marcadores moleculares ofrecen ventajas complementarias sobre las pruebas patológicas, especialmente en pruebas tempranas y en poblaciones grandes. En tomate,

los marcadores moleculares son de gran utilidad para lograr diversos propósitos dentro del mejoramiento; por ejemplo, caracterización conservación y manejo del germoplasma silvestre; identificación del grado de parentesco y diversidad genética entre poblaciones o líneas; diseño de estrategias de conservación de recursos genéticos (Marín *et al.*, 2016), predicción del rendimiento de cruas no generadas a partir de sus progenitores (Hernández *et al.*, 2016) y calidad fruto (Hernández *et al.*, 2014), identificación eficiente transgenes; incremento de la eficiencia de la selección en el mejoramiento genético, especialmente resistencias a enfermedades y, en la actualidad, en la asociación de caracteres de herencia cuantitativas a marcadores de alta densidad.

4.1. Resistencia a enfermedades

En los programas de mejoramiento uno de los puntos más importantes es mantener la resistencia a plagas y enfermedades de rápida evolución, ya que una de las características importantes que el productor exige, es que las variedades, además de un alto rendimiento y calidad, posean las resistencias genéticas para evitar aplicaciones de agroquímicos que incrementan los costos de producción (Botero & Arias, 2018). En este contexto, la resistencia genética de variedades es el método más económico y amigable con el ambiente para el control de enfermedades.

Una de las problemáticas que adolece la selección de genes específicos o mayores que confieren resistencia a enfermedades, es que esta puede ser superada por el patógeno en cualquier momento debido a la alta presión de selección ejercida en un monocultivo; por ello, uno de los enfoques en el mejoramiento es la búsqueda de genes múltiples de efectos cuantitativos para lograr tolerancias duraderas. Cuando los genes asociados a la resistencia son de efectos pequeños, pero de alta heredabilidad (genes aditivos), son difícilmente detectados a través de solo la evaluación directa del fenotipo; por ello, la detección de la variación genética aditiva a nivel de ADN se vuelve una técnica de selección muy importante (Robinson, 2007).

4.2. Resistencia Horizontal

La resistencia horizontal es codificada por varios genes de efectos menores y conduce a una resistencia parcial a la enfermedad, a diferencia de la resistencia vertical en donde hay genes únicos que confieren esta resistencia e incluso la inmunidad. La resistencia horizontal es también denominada resistencia cuantitativa; se expresa en el fenotipo y tiene la propiedad de conferir a la planta resistencia a varias enfermedades. En este caso, no existen interacciones específicas entre el patógeno y el hospedero, por lo que existen diferentes niveles de respuestas hacia el patógeno; es decir la interacción entre las razas del hospedero y el patógeno no es específica (Burbano, 2019)

En la carrera de adaptación entre las enfermedades y las plantas, en la mayoría de las veces, las enfermedades se adaptan más rápidamente debido a que los ciclos de reproducción son mucho más cortos y numerosos, además de realizarse en diversos entornos, logrado principalmente por mecanismos de mutación en genes efectores únicos de los patógenos, lo que les permite evitar el reconocimiento por parte de la planta huésped (Mehrabi *et al.*, 2011). Debido a que por muchos años el mejoramiento genético ha estado enfocado en la búsqueda de genes mayores que conferirían resistencia, muchos de los poli genes que daban resistencias de tipo horizontal se fueron perdiendo a pesar de sus ventajas, ya que, en general, brinda una resistencia permanente, (Robinson, 2007).

4.3. *Rhizoctonia solani*

Rhizoctonia solani Kühn es el género más importante dentro del género *Rhizoctonia*, además posee una amplia gama de huéspedes con más de 200 especies de plantas, en especial de la familia de las *solanaceae*, como el tomate, berenjena, papa y pimientos (Adams, 1988) que son especies de importancia para la alimentación mundial. *R. solani* es un hongo patógeno importante que se trasmite por el suelo. Ocasiona síntomas como marchitez en plántulas y pudrición en la base de la planta (Shahzad *et al.*, 2019), ocasionando la muerte de hasta 70 % de la producción, (Medeiros *et al*, 2015). Sobrevive

como un hongo saprofito en ausencia de huéspedes susceptibles durante mucho tiempo en la rizosfera (Raaijmakers *et al.*, 2009) lo que lo hace más difícil de controlar. Es un hongo basidiomiceto que no produce esporas asexuales, ocasionalmente produce basidiosporas, pero su característica principal es la reproducción asexual que se conoce como micelio vegetativo, presente como hifas de ángulo recto (Ajayi & Bradley, 2017).

Las temperaturas en que se desarrolla oscilan entre los 5 y 36 °C, en suelos con presencia de humedad y pH neutros (Blancard, 1990). La invasión de este hongo inicia con la propagación del micelio en las superficies de la raíz o partes de la planta que están en contacto con el suelo; después, el micelio penetra la cutícula para la infección de los tejidos, donde provoca la destrucción de estos rápidamente, debido a las reacciones enzimáticas que desencadena causando caída de plántulas y su posterior muerte (Agrios, 2010).

Actualmente no se reportan materiales genéticos de tomate con resistencia a dicho patógeno lo que justifica la importancia de la identificación de resistencias con la ayuda SNPs a *Rhizoctonia solani*, lo que ha ocasionado que su única forma de control sea químico (Ajayi & Bradley, 2017), la solarización del suelo y la rotación de cultivos (Baysal *et al.*, 2019).

4.4. Marcador genético

Los marcadores genéticos moleculares son de gran importancia en el mejoramiento de plantas. Sus ventajas radican en que no están sujetos a la influencia ambiental, están disponibles en grandes cantidades y en su mayoría, son más constantes y específicos que los marcadores fenotípicos. Actualmente existen ya múltiples técnicas que permiten identificar generar marcadores moleculares y que ofrecen aplicaciones diversas en el contexto del mejoramiento. Inicialmente fueron desarrollados los basados en bibliotecas genómicas como los fragmentos de restricción polimórficos (RFLP), posteriormente, los asociados a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), entre los que se pueden mencionar la amplificación aleatoria de ADN (RAPD), fragmentos polimórficos de ADN

amplificados (AFLP), minisatélites (VNTR) y microsatélites (ISSR). Los de desarrollo más reciente se basan en la secuenciación de bandas de ADN de tamaño reducido con una gran capacidad de detectar polimorfismos en forma masiva (SNIPs) (Becerra & Paredes, 2000).

Diversas investigaciones han demostrado la posibilidad de relacionar caracteres fenotípicos de interés antropocéntrico con marcadores genético-moleculares. Uno de estos propósitos es identificar grupos de individuos que generen respuestas heteróticas sobresalientes, tanto en el rendimiento (Hernández *et al.*, 2014), como en la calidad postcosecha y nutraceutica, formas, colores y sabor de fruto, así como en otros caracteres confieren ventajas agronómicas (Carrillo & Chávez, 2010; Crisanto *et al.*, 2010).

4.5. GBS (Genotyping by Sequencing)

El GBS produce gran cantidad de marcadores genéticos de alta calidad a través de todo el genoma que son adecuados para el análisis de diversidad y, además, para detectar asociaciones de rasgos fenotípicos a marcadores (Raman, 2012). Además, es altamente rentable debido a que permite el análisis de poblaciones enteras con gran cantidad de individuos.

Para desarrollar esta técnica es necesario el uso de enzimas de restricción conocidas sensibles a metilación para digerir el genoma, las cuales son componentes que ayudan a la digestión del ADN, fragmentándolo, generando sitios de restricción predecibles y reproducibles. La longitud de lectura, llamada así a la longitud de bandas de ADN a ser secuenciadas, es una de las principales variables y limitaciones que se deben tener en cuenta en el uso de estos análisis. Una longitud de lecturas corta implica necesariamente contar con el mapeo del genoma de referencia o el ensamblaje *de novo* de dichas lecturas, mientras que las lecturas largas implican mayor tasa de error en la identificación de los nucleótidos (Liu *et al.*, 2012). La identificación de los cada individuo se realiza mediante la adición de uno o dos “barcodes” (códigos de barra) a los adaptadores que

flanquean los sitios de restricción (Schweyen *et al.*, 2014), lo cual permite verificar la localización precisa cada individuo y su secuencia.

El GBS generalmente muestra resultados adecuados cuando se aplica a una especie diploide endogámica con un genoma de referencia bien establecido (Changsoo, *et al.*, 2016); además, su bajo costo facilita la obtención de variedades superiores en muchas especies de cultivos (Zargar *et al.*, 2020). Este método no requiere conocimiento genómico a priori de las especies estudiadas, debido a que es posible identificar en forma simultánea SNPs asociados a los genotipos, y omite toda la etapa de desarrollo del ensayo de marcadores gracias a la tecnología NGS (Next Generation Sequencing) que es una tecnología que consiste en la preparación inicial y segmentación de las muestras del genoma estudiado, secuenciación, visualización ensamblaje de los componentes secuenciados y el análisis de datos (Abbasi & Masoumi, 2020)

4.6. Análisis de asociación genómica (GWAS)

Entre las últimas técnicas desarrolladas para el manejo en la selección de caracteres cuantitativas, es la combinación de GBS y GWAS, que constituyen un modelo con mayores ventajas que las aportadas por los QTL. El desarrollo reciente de los estudios GWAS en plantas provee una oportunidad para detectar QTLs tanto en colecciones de germoplasma como en poblaciones estructuradas de los programas de mejoramiento (Wang *et al.*, 2012) y se ha demostrado que el uso de GWAS en cultivos es una estrategia robusta para complementar el mapeo clásico a partir de cruza biparentales, además de permitir mapear muchos caracteres en forma simultánea (Kichaev *et al.*, 2019).

El método prueba variantes genéticas en los genomas de muchos individuos para la identificación de asociaciones con el fenotipo (Tam *et al.*, 2019) lo cual se basa en los SNPs, están ampliamente distribuidos a lo largo de los genomas en las regiones codificantes y no codificantes de todos los organismo y que implican cambios de un solo par de bases en la secuencia de ADN, por lo que permiten diferenciar en forma muy precisa a los individuos estudiados (Scherer & Christensen, 2016)

La selección genómica basada en GWAS no requiere información previa sobre las asociaciones del fenotipo con el marcador y puede usarse para seleccionar múltiples loci de pequeños efectos genéticos. En este enfoque, las poblaciones deben estar genotipificadas en forma muy precisa y exacta para brindar la posibilidad de encontrar asociaciones entre el genotipo y el fenotipo (Tester & Langridge. 2010). Los datos permiten predecir la tolerancia a enfermedades de un individuo sobre la base de marcadores de genoma completo (Yang *et al.* 2015). Este método es particularmente valioso para detectar genes o alelos responsables de variación cuantitativa en caracteres de especies para las cuales no se tienen estudios genómicos previos, tales como progenitores silvestres de plantas cultivadas, cultivos de importancia económica menor, y otras especies poco caracterizadas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Ubicación

La presente investigación se llevó a cabo dentro del Proyecto de Mejoramiento Genético de Jitomate para Invernadero del Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH).

Se empleó un invernadero de nivel tecnológico medio, cubierta plástica calibre 600 con transmisión de luz de 60 %, y ventilación frontal, lateral y superior protegida con malla anti-áfidos, ubicado en el Campo Agrícola Experimental de la UACH (19°29'35" LN, 98°52'19" y 2,267 msnm).

El inóculo se preparó en el laboratorio de fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola.

Los estudios de GBS se realizaron vía servicios de LANGEBIO-CINVESTAV-IPN

5.2. Genotipos evaluados

Los genotipos evaluados fueron 92 líneas homocigóticas avanzadas de tomate (F10 a F12) del Proyecto de Mejoramiento genético de tomate en la "Universidad Autónoma Chapingo" (UACH), México, generado a partir de la segregación de las poblaciones seleccionadas que se originaron a partir de cruces entre híbridos comerciales.

5.3. Preparación del inóculo

El aislamiento de *Rhizoctonia solani* utilizado en este estudio, se obtuvo de la colección de la Universidad Autónoma de Chapingo, del departamento de Parasitología Agrícola. Para la inoculación de las plántulas, se utilizaron placas con *Rhizoctonia solani* crecida

en medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA, 200 gr papa, 15 gr dextrosa, 20 gr agar-agar en 1 L de agua destilada), 1000 placas preparadas con medio de cultivo, fueron sembradas con un bocado de 5 mm del patógeno y posteriormente fueron incubadas por 7 días a 25 °C. Al concluir el tiempo de incubación, se preparó una solución de hifas y esclerocios del patógeno en agua estéril, obtenida de licuar el contenido de 5 placas de Petri, por litro de agua, de esta manera para todas las placas para 200 litros de solución, además se agregó Tween 20 como emulsionante. La concentración de la suspensión empleada fue 322×10^3 a 35×10^4 esporas ml^{-1} de *Rhizoctonia solani*, medida con un hemocitómetro.

5.4. Prueba de patogenicidad

Las líneas se sembraron en esponja agrícola de 2x2x2 cm y se trasplantaron a los 18 días después de la siembra (DDS) en tinas con dimensiones de 120x240 cm. con capacidad de 400 litros, bajo un sistema de balsa flotante mediante placas de poliestireno, con densidad de 166 plantas por metro cuadrado, La solución nutritiva utilizada fue la propuesta por Adaia (2000) para tomate.

A los 23 DDS se retiró la solución nutritiva de las plantas durante tres horas, se recortó la raíz dejando una longitud de 2 cm fuera de la esponja, y posteriormente fueron sumergidas en el inóculo durante tres horas. Finalmente, las plantas fueron ubicadas en las tinas con solución nutritiva para su desarrollo

La unidad experimental (UE) consistió en 5 plantas. El diseño experimental fue bloques completos al azar desbalanceado con dos repeticiones.

Los caracteres evaluados fueron:

Altura de planta promedio (en cm), determinada en tres oportunidades, a los 23 (inicio de la prueba), 30 y 38 DDS (final de la prueba), a partir de 3 plantas de la UE.

Clorofila (Unidades SPAD-502), determinada a partir del promedio de tres plantas por UE a los 37 DDS. Que mide la transmisión de luz a 650nm y 940nm.

Al finalizar la prueba, 38 DDS, se registró:

Longitud de raíz (LR, en cm). Se obtuvieron fotografías digitales de las raíces con presencia de una escala lineal conocida. Con el paquete Image J se determinó el promedio de la longitud de raíces.

Las plantas se desecaron en raíz, tallo y hojas y se registró:

Área foliar (en cm^2). Las hojas se colocaron en superficie plana de color blanco y se obtuvieron imágenes digitalizadas con la presencia de una escala de medición lineal conocida. Posteriormente, mediante el paquete ImageJ, se estimó el área foliar.

Las estructuras se secaron en secadora de aire forzado a 50 °C durante 5 días y se obtuvo mediante balanza analítica OHAUS 310g * 0.1mg calib inter. mod. discovery. :

Peso seco de parte aérea (PSA, en g), incluyendo tallos y hojas.

Peso seco de raíz (PSR, en g).

5.5. Análisis de datos fenotípicos (fenotipificación)

Se realizó un análisis de varianza para las variables evaluadas con el paquete estadístico SAS, versión 9.4. Comparaciones de media de Tukey y correlaciones de Pearson con las relaciones entre tratamientos y testigos.

Se obtuvieron las correlaciones fenotípicas y genéticas, la heredabilidad en sentido amplio, así como los mejores predictores lineales e insesgados (BLUP, por sus siglas en idioma inglés) mediante el programa Meta R versión 6.0 . 1 (Schwarzer, 2020) (CRAN.R-project.org/package=meta) considerar un diseño de bloques completos al azar y un modelo lineal mixto. Realiza un análisis multivariante utilizando el método de máxima verosimilitud.

5.6. Análisis de datos genómicos (genotipificación)

5.6.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN de los genotipos se realizó, a partir de tejido de plántula de hojas verdes, tiernas, sin daño aparente, de 35 días de edad, desarrolladas en bandejas de poliestireno con 200 cavidades con turba como sustrato.

El tejido vegetal se trituró y pulverizó con ayuda de nitrógeno líquido. La extracción de ADN se realizó con el método CTAB (bromuro de alquiltrimetilamonio). La pureza e integridad del ADN se realizó mediante el corrimiento de un gel de agarosa con concentración de 1.5 %. se cuantificó en una nanogota Thermo Scientific, 2000 / Espectrofotómetro 2000c en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Ciencias de los Cultivos de la Universidad Autónoma Chapingo.

La digestión de las muestras se realizó utilizando las enzimas BglII y DdeI, obteniendo fragmentos de 75 pb, la preparación de las bibliotecas etiquetadas, la cuantificación y secuenciación se realizó con el equipo Illumina NextSeq 2x75 en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio).

5.6.2. Descubrimiento y procesamiento de datos de SNP

Para el mapeo y genotificación de SNPs se empleó el genoma de referencia *Slycopersicum* 390. Dicha información se encuentra disponible a través de internet en la siguiente dirección: <https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>). Se utilizó el software NGSEP 4.0.1 y Bowtie 2.3.5.1 para alinear las lecturas con la referencia y descubrir SNPs. Se utilizó el software NGSEP para la anotación funcional de las variantes, el filtrado y la conversión de archivos a formato VCF y otros formatos para su posterior análisis. Además, se empleó el software Flapjack 1.19.09.04 para visualizar los SNPs presentes en cada genotipo.

Los datos genotípicos fueron evaluados con el paquete TASSEL, el cual evalúa asociaciones de rasgos complejos en diversas muestras, patrones evolutivos y desequilibrio de ligamiento (Bradbury, 2007). El archivo VFC proveniente del programa eclipse. Fue procesado en el paquete TASSEL v5.2.60, el mapeo de asociación se calculó siguiendo el PCA (análisis de componentes principales) y GLM (modelo lineal general). Se generaron las gráficas de manhattan y se determinó la altura de corte significativa para cada asociación.

5.7. Localización de SNP en el genoma de *Solanum lycopersicum*.

Se ubicaron cada uno de los SNP significativos de todas las variables en el genoma de tomate *Solanum lycopersicum* iTAG2.4. obtenido del portal Phytozome (Hornick *et al.*, 1997) (<https://phytozome.jgi.doe.gov>). Así mismo, se detectaron genes aledaños a los marcadores para verificar su función y verificar su posible asociación con la tolerancia a *Rhizoctonia solani*.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inoculación con *Rhizoctonia solani* garantizó la entrada del patógeno a la raíz. Durante los cinco días posteriores, las raíces inoculadas presentaron una coloración marrón, lo que se representó los síntomas ocasionados por la enfermedad; es decir, la pudrición de raíz (Shahzad *et al.*, 2019). Sin embargo, días después se observó una recuperación considerable y la infección no alcanzó la base de la planta, esto se explica debido a que las plantas poseen genes de diversos mecanismos de defensa cuya activación protege al ataque de agentes patógenos (Gómez & Reis, 2011).

De acuerdo con los análisis de varianza (Cuadro 1) se detectaron diferencias estadísticas ($p \leq 0.01$) para el factor líneas en todas las variables, excepto para LR. Con respecto a la inoculación de *Rhizoctonia solani* (RH) y su testigo sin inoculación, modificó las variables evaluadas a excepción de PSR. Los coeficientes de variación tuvieron valores aceptables a excepción de los caracteres asociados a AF y LR.

Cuadro 1 . Cuadrados medios de análisis de varianza de variables fenotípicas de 92 líneas (F10 a F12).

FV	GL	ALF		SPAD		PSR		PSA		AF		LR		C
L	95	2700.66	**	35.78	**	0.122	**	1.845	**	78209.53	**	27.17		0.0008
RH	1	578641.62	**	1166.44	**	0.079		109.502	**	7385744.88	**	279.24	**	0.3127
L*RH	95	667.91		6.93		0.030		0.323		17359.69		11.66		0.0004
BLO	1	620312.05	**	4.76		3.679	**	73.992	**	4977721.92	**	490.61		0.0304
Error	287	747.10		12.61		0.035		0.381		19941.63		41.79		0.0008
Total	479													
CV %		14.74		9.75		12.61		21.289		24.34		37.11		20.4837
Media		185.38		36.40		1.488		2.899		579.98		17.41		0.1418

*significancia con $p \leq 0.05$; ** significancia con $p \leq 0.01$: FV: fuentes de variación; GL: grados de libertad; CV: coeficiente de variación; AL: altura de planta; USPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; C: tasa de crecimiento de la planta.

De acuerdo con las comparaciones de medias del factor RH (Cuadro 2), la inoculación del patógeno disminuyó significativamente el desarrollo de la plántula, expresado en la

reducción de AP, PSA, AF y LR ($p \leq 0.05$); sin embargo, se incrementaron las unidades SPAD ($p \leq 0.05$), asociado a la concentración de clorofila. En el caso de PSR no hubo diferencia en los dos tratamientos.

Cuadro 2. Comparación de medias de caracteres fenotípicos para el factor RH

RH	ALF	SPAD	PSR	PSA	AF	LR	C
Sin	221.83 a	34.40 b	1.48 a	3.42 a	715.8 a	16.23 b	0.172
Con	161.08 b	37.7a a	1.49 a	2.55 b	489.4 b	18.20 a	0.121
DMS	5.12	0.66	0.035	0.115	26.45	1.21	0.0054

RH: *Rhizoctonia solani*; DMS: diferencia mínima significativa; ALF: altura final de planta; SPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; C: tasa de crecimiento de la planta.

La comparación de medias de las líneas (Cuadro 1A) no permitió identificar desde el punto de vista estadístico en forma clara aquellas con mayores ventajas en cuanto a la tolerancia a la enfermedad en términos de desarrollo, ya que los grupos de significancia agruparon numerosas líneas. Las líneas L64, L43, L60, L71 y L59 fueron las que destacaron en mayor número de caracteres con alta expresión.

Los valores de heredabilidad de los caracteres evaluados fueron relativamente bajos, entre 0.57 y 0.47; lo cual refleja también los bajos valores de varianza genotípica, entre 0.007 y 0.005. Así, el PSR mostró la mayor heredabilidad, situación atribuida a efectos aditivos, aunque los valores del resto de variables es similar, lo que indica que alrededor de 50 % de los efectos genéticos son atribuidos a varianza aditiva.

Cuadro 3. Réplicas, varianza genotípica y la heredabilidad de los datos fenotípicos se estimaron a partir del análisis de varianza utilizando un análisis de prueba en múltiples entornos con el software R (Alvarado et al. 2015).

FV	Replica	Varianza genotípica σ_g^2	Heredabilidad
ALF	3	0.004074655	0.5034228
SPAD	3	0.002828417	0.52877943
PSR	3	0.007095971	0.57707315
PSA	3	0.008120219	0.47063912
AF	3	0.00923561	0.5293612
LR	3	0.021905212	0.51315291
C	3	0.005167001	0.49124434

FV: fuentes de variación; ALF: altura final de planta; USPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; C: tasa de crecimiento de la planta.

Los coeficientes de correlación de Pearson entre pares de rasgos revelaron que AP se asoció en forma positiva con todos los caracteres, a excepción de SPAD. En contraste, las unidades SPAD se relacionaron en forma da negativa con todos los factores excepto con PSR.

El peso seco de la parte aérea de la planta junto con AF fueron los caracteres con mayor asociación ($p < 0.01$). Sin embargo, la falta de asociación significativa entre la tasa de crecimiento en altura de plántula C con el PSR indica cierta independencia entre estas dos estructuras, aunque la relación con LR fue significativa con 0.55.

Cuadro 4. El coeficiente de correlación de Pearson entre variables fenotípicas evaluadas.

	AP	SPAD	PSR	PSA	AF	LR
SPAD	-0.294 **					
PSR	0.3055 **	0.09542				
PSA	0.6133 **	-0.17929 **	0.6444 **			
AF	0.6804 **	-0.28273 **	0.5715 **	0.8994 **		
LR	0.5767 **	-0.4104 **	0.2392 **	0.5777 **	0.6342 **	
C	0.7683 **	-0.3928 **	0.074	0.3734 **	0.5154 **	0.5568 **

Los valores con ** y * indican correlaciones con $p < 0.01$ y $p < 0.05$, respectivamente; AP: altura de planta; USPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; C: tasa de crecimiento de la planta.

Resultados de la secuenciación del genoma y estructura de la población

Se obtuvo información genotípica de las líneas evaluadas al seguir el protocolo GBS (Genotype-By-Sequencing), de donde se identificaron 22,127 marcadores SNP polimórficos; de ellos, solo 14,328 fueron funcionales después de un estricto análisis de filtrado.

Se construyó un dendrograma (Figura 1) con 14,328 marcadores, lo que permitió distinguir tres grupos. El grupo I está conformado por 44 líneas, en el cual 93 % de plantas son de crecimiento indeterminado, el segundo grupo está conformado por 24 genotipos con dos tipos de crecimiento, determinado e indeterminado. En ambos grupos hubo diversidad en cuanto a forma y color de los frutos. Sin embargo, el grupo 3 predominó en 96 % el color rojo de los frutos que lo conforman.

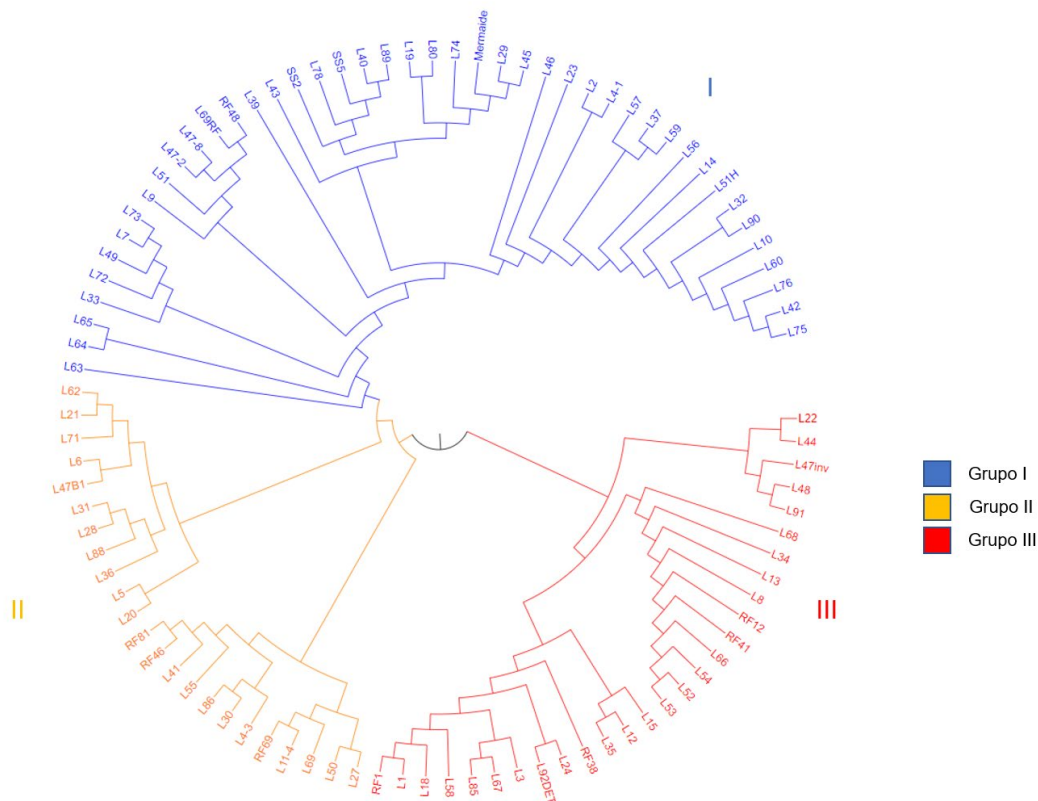
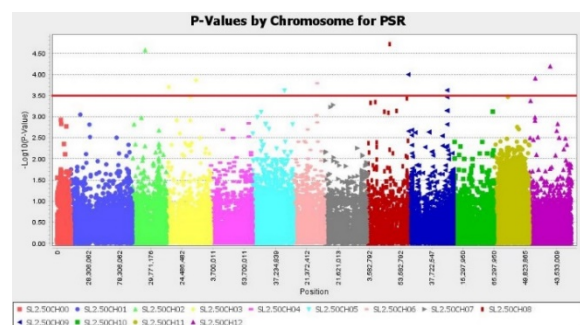
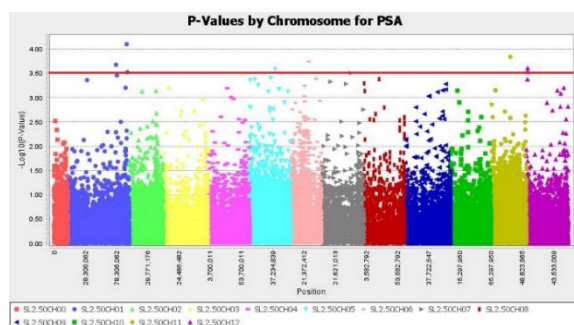


Figura 1. Dendrograma generado mediante distancias genéticas de identidad por estado (IBS) estimadas con 14.328 SNP de alta calidad y el algoritmo del vecino más cercano, estimadas a partir de SNP de alta calidad, de 92 líneas homocigóticas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

Inicialmente se obtuvieron estimadores BLUE (Best lineal unbiased estimators) a partir de los registros fenotípicos mediante el paquete Meta R. Posteriormente con los 14,328 SNPs útiles identificados por al análisis GBS y mediante el modelo lineal general aplicado con el programa Tassel, se realizó el análisis GWAS con el cual se valoraron la aportación de cada uno de los SNPs en la predicción de los valores fenotípicos estudiados. Los resultados se muestran gráficamente en la Figura 2 a partir de las gráficas de Manhattan (Figura 2) para cada uno de los caracteres evaluados, en las cuales cada punto represente el valor de probabilidad de la aportación de cada SNP al carácter fenotípico en cuestión. Así mismo, los SNPs se presentan ordenados por cromosoma, y desde el programa Tassel es posible determinar su ubicación precisa dentro del cromosoma.

A partir de estas gráficas y al basarse en las pruebas de razón verosimilitud (eje de ordenadas) se identificaron 47 SNPs significativos, los cuales se localizan por encima de la línea de color rojo. De éstos, doce se encuentran ubicados en los cromosomas 1, 3, 4, 5, 6, 9 y 11 (Cuadro 5) . La AP y SPAD se asociaron a 3 genes cada uno, PSA y PSR a dos cada uno y LR a uno solo.



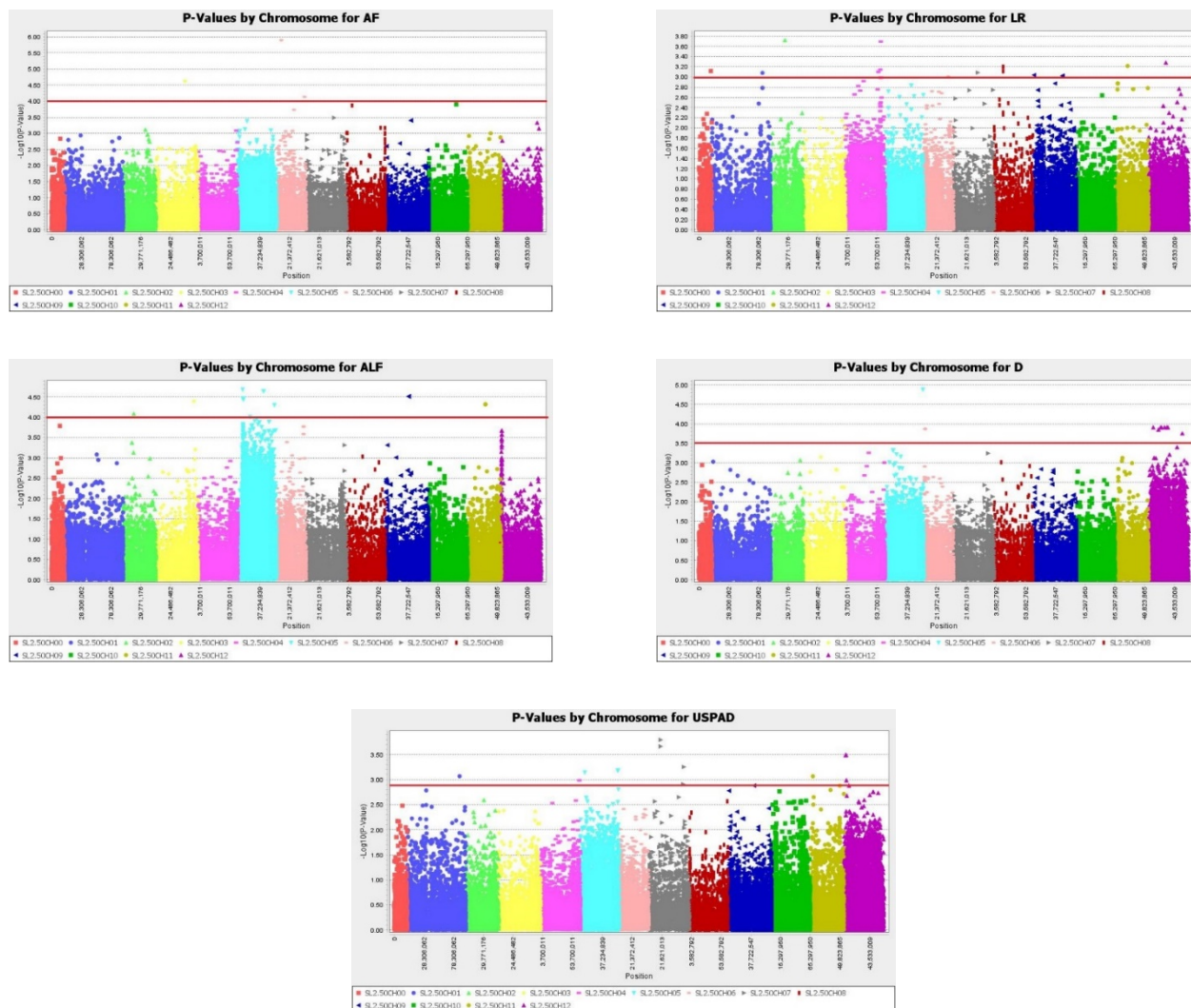


Figura 2. Gráficos de Manhattan para 7 rasgos fenotípicos. Todos los valores de $-\text{Log}_{10}(\text{P-value}) > 3$ para todo el genoma obtenidos de TASSEL v5.2.67 basados en un modelo lineal general ponderado con 92 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L), con 14,328 marcadores SNP. AP: altura de planta; USPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; C: tasa de crecimiento de la planta. En los gráficos de Manhattan, la línea roja indica el umbral elegido para asociación significativa del SNP.

Posteriormente, el genoma de referencia de la especie de *Solanum lycopersicum* iTAG2.4.obtenido fue obtenido en el portal Phytozome (Hornick *et al.*, 1997) (<https://phytozome.jgi.doe.gov>). A partir de éste, se buscaron asociaciones de los SNPs significativos identificados con el GWAS, ya que se conoce la ubicación exacta de los marcadores en el genoma.

El primer gen asociado a PSA recibió el nombre de Solyc01g068260.2.1 el cual se describe como proteína que contiene dominio BRCT, se ha estudiado que esta proteína se activa al haber daño en el ADN, esto debido a que se han encontrado innumerables interacciones entre proteínas para el mantenimiento del ADN, además tiene funciones en el metabolismo (Yun & Mark, 2011). Se ha encontrado que el BRCT no solo se involucra en daños ocasionados en el ADN, sino también por agentes físicos a nivel celular ya que puede adquirir diferentes estructuras y funciones (Wang et al., 2019).

Para el Solyc04g081000.2.1 asociado al factor SPAD, dio como resultado una cercanía con el factor de transcripción para la familia de genes MADS-box, asociados a diferentes respuestas de estrés a diversas condiciones como sequía, sal, frío calor y estrés oxidativo de diferentes especies de plantas (Castelán *et al.*, 2019), también responde a cambios ambientales que muchas veces influyen en el nivel de clorofila que tiene la planta, es por ello que se ubicó este marcador para este factor, ya que las unidades SPAD tienen alta asociación con la concentración de clorofila de las hojas. *Solanum lycopersicum* contiene 131 genes MADS, que participan en su mayoría en procesos de crecimiento vegetativo de las plantas y en algunas respuestas al estrés en diferentes plantas como Arabidopsis, col china, trigo y arroz (Wang *et al.*, 2019)

Para el caso de la AP, se asoció con la proteína repetida tetratricopeptide 15 ubicado en el cromosoma 5 Solyc05g051840.1.1, relacionada con efectos pleiotrópicos del etileno que provocan estatura reducida (Rosado *et al.*, 2016).

Solyc06g060080.2.1, asociada al PSR, localiza a la sintasa mitocondrial, que es un complejo enzimático altamente distribuido en las membranas transductoras de energía, su composición depende de la especie en la que se encuentre (Sanchez & González,). Solyc05g054240.2.1 es una proteína que provoca la metilación de la arginina, es decir interrumpe el crecimiento de la planta debido a que la arginina debido a que es la principal fuente nitrogenada de la planta.

Cuadro 5.Total de 12 genes de tomate con valores p ≤ 3.00. localizados

	SNP	Región Localizada	Log ₁₀ (p-value)	Descripción
PSA	CH01_77385766	Solyc01g068260.2.1	3.678	La proteína que contiene el dominio BRCT (AHRD V1 * --- D3BB36_POLPA)% 3B contiene dominio (s) Interpro IPR001357 BRCT.
SPAD	CH01_88168077	Solyc01g097250.2.1	3.069	ADN genómico cromosoma 5 clon P1 MJJ3 (AHRD V1 * --- Q9FFJ8_ARATH).
PSA	CH01_95555980	Solyc01g108200.2.1	3.525	Secuencia de inserción completa del clon de ADNc J013057C16 (AHRD V1 * - * - B7F5R8_ORYSJ)
ALF	CH03_64059284	Solyc03g114020.2.1	4.397	Cromosoma 5 de ADN genómico P1 clon MQB2 (AHRD V1 ** - Q9FM06_ARATH)
LA	CH04_59726166	Solyc04g072750.2.1	3.695	Proteína desconocida (AHRD V1)
SPAD	CH04_65060178	Solyc04g081000.2.1	2.988	Factor de transcripción de la caja MADS (AHRD V1 *** - Q8L5F5_DAUCA)% 3B contiene dominios Interpro IPR002100 Factor de transcripción% 2C Caja MADS IPR002487 Factor de transcripción% 2C Caja K
ALF	CH05_62239814	Solyc05g051840.1.1	4.299	La proteína repetida tetratricopeptide 15 (AHRD V1 ** - B6TY66_MAIZE)% 3B contiene dominio (s) Interpro IPR011990 helicoidal similar a tetratricopeptide.
D	CH05_64206556	Solyc05g054240.2.1	4.878	Proteína de la familia de la arginina N-metiltransferasa (AHRD V1 *** - D7L611_ARALY)% 3B contiene.
PSR	CH06_37991799	Solyc06g060080.2.1	3.789	Subunidad de ATP sintasa mitocondrial (AHRD V1 *** - D7RXX9_ORYSI)
PSR	CH09_177037	Solyc09g005230.2.1	3.997	ADN genómico cromosoma 3 clon P1 MDC11 (AHRD V1 ** - Q9LTT9_ARATH)
ALF	CH09_38969140	Solyc09g055300.1.1	4.514	ADN genómico cromosoma 3 clon P1 MDC11 (AHRD V1 ** - Q9LTT9_ARATH)
SPAD	CH11_4236484	Solyc11g011160.1.1	3.067	La proteína del grupo de alta movilidad (AHRD V1 * --- Q42461_CANGL)% 3B contiene dominio (s)

SNP polimorfismo de nucleótido único; ALF: altura final de planta; USPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; D: tasa de crecimiento de la planta.

CONCLUSIONES

Se identificaron un total de 14,328 loci SNP en 95 líneas de tomate, y el enfoque GWAS reveló 47 marcadores asociados a: asociados a la altura final (10 SNPs), a la tasa de crecimiento (11 SNPs), al peso seco de raíz (10), a unidades SPAD o concentración de clorofila (7 SNPs), al peso seco de parte aérea (5 SNPs), al área foliar (2 SNPs) y a la longitud de raíz (2 SNPs).

Existe alta frecuencia de marcadores SNPs en los cromosomas 5 y 12, especialmente asociados a la altura de planta, tasa de crecimiento y peso seco de raíz, caracteres que reflejan el crecimiento.

El mayor número de genes reconocidos ocurrió en el cromosoma 1 con 3 genes, el 4, 5 y nueve con dos y el 3, 6 y 11 únicamente con un gen reconocido.

El cromosoma 12 y 5 tiene una alta participación en los caracteres antes mencionados, sin embargo, los SNPs localizados no se ubican en ningún gen reconocido actualmente. Es necesario realizar estudios exhaustivos en estas regiones del genoma ya el presente estudio identificó SNPs asociados a la tolerancia a *Rhizoctonia solani*, pero aún no se

sabe que genes están involucrados así como su función en la tolerancia a esta y otras enfermedades.

LITERATURA CITADA

- Abbasi, S., & Masoumi, S. (2020). Next-generation sequencing (NGS). *International Journal of Advanced Science and Technology*, 29(3), 6364–6377. https://doi.org/10.1007/978-3-662-49054-9_3542-1
- Adams, G. C. *Thanatephorus cucumeris (Rhizoctonia solani)*, a species complex of wide host range. *Advances in Plant Pathology* 6, 535–552 (1988).
- Agrios, G.N. (2010). *Plant pathology*. Ed. Limusa 2a ed. México. 432-507 p.
- Ajayi, O. & Bradley, C. (2017). Identification and Characterization of *Rhizoctonia* Species Associated with Soybean Seedling Disease. *Plant disease* . 4(101)
- Ali, F., Yan. J.(2012). Disease Resistance in Maize and the Role of Molecular Breeding in Defending Against Global Threat. *Journal of Integrative plant Biology*. 54 (3) 134-151
- Baysal, F. (2019). Effect of Organic Inputs and Solarization for the Suppression of *Rhizoctonia solani* in Woody Ornamental Plant Production. *MDPI*
- Becerra, V., & Paredes, C. M. (2000). Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica*, 60(3), 270–281.

- Blancard, D. 1990. Enfermedades del tomate: observar, identificar, luchar. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa. 212 p
- Botero, K. & Arias, T. (2018). Uso de las ciencias ómicas para el mejoramiento genético de cultivos. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 35(2): 64-78
- Burbano, O. (2020). Resistencia de las plantas a patógenos: una revisión sobre los conceptos de resistencia vertical y horizontal. *Revista argentina de microbiología*.
- Cadahia C., (2000). Fertirrigación, cultivos hortícolas y ornamentales. 2da. Edición. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España. 475 p.
- Castelan, M. N., Herrera, J., Cajero, S. W., Arrizubieta M., Trejo C., García P B., Sánchez M., Álvarez E. & Garay, A. (2019). MADS-Box Genes Are Key Components of Genetic Regulatory Networks Involved in Abiotic Stress and Plastic Developmental Responses in Plants. *Front. Plant Sci*.
- Changsoo, K., Guo, H., Kong, W., Chandnani, R., Shuang, L., & Paterson, H. (2016). Application of genotyping by sequencing technology to a variety of crop breeding programs. Elsevier
- Curtis, T., Rueden, Schindelin, J., Hiner, B., Barry, E., Walter, A. & Arena. E. (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. Kevin W. Eliceiri [10.1186/s12859-017-1934-z](https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z) BMC Bioinformatics
- Délices, G., Otto, R., Ovalle, L., Mota, c., Núñez, R., Gámez, R., Meza, P., & Serna R. (2019). Biogeografía del tomate *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (Solanaceae) en su centro de origen (sur de América) y de domesticación (México). *Rev. Biol. Trop.* Vol. 67(4): 1023-1036.
- Fang, X., Finnegan, PM & Barbetti, MJ Amplia variación en la virulencia y la diversidad genética de los aislados de rizoctonia binucleados asociados con la pudrición de la raíz de la fresa en Australia Occidental. *PLOS One* 8 , 55877.
- Fentik, D. A. (2017). Review on Genetics and Breeding of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Crop Science and Technology* , Volume 5.

- FIRA. (2019). Panorama Agroalimentario. México. Retrieved from <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/06/Panorama-Agroalimentario-Tomate-rojo-2019.pdf>
- Gómez, D.E., Reis E. M. (2011). Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Química Viva*, vol.1 (10), núm. 1, pp. 6-17
- González, D. et al. Phylogenetic relationships of *Rhizoctonia* fungi within the Cantharellales. *Fungal Biology* 120(4), 603–619 (2016).
- Hernández I. L., Sahagún C. J., Rodríguez P. J. E., & Peña O. M. G. (2017). Prediction of fruit yield and firmness of tomato hybrids with BLUP and RR-BLUP using ISSR molecular markers. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 23(1), 21-33.
- Hernández-Ibáñez L, J Sahagún-Castellanos, JE Rodríguez-Pérez, MG Peña-Ortega, LM Rodríguez-Martínez. (2014). Prediction of tomato hybrid performance with genomic markers. *Phyton*, 83, 2.
- Lin Z., Arciga R. L., Zhong S., Alexander L. Hackett R., Grierson D., (2008). SITPR1, a tomato tetratricopeptide repeat protein, interacts with the ethylene receptors NR and LeETR1, modulating ethylene and auxin responses and development. *Journal Of Experimental Botany*. 56 (15) : 4271–4287.
- Liu D. (2019). Overexpression of the Melatonin Synthesis-Related Gene SICOMT1 Improves the Resistance of Tomato to Salt Stress. *MDPI*, 1, 1.
- Lobato O. R., Rodríguez E., Carrillo JC. Chávez J. L., Sánchez P., Aguilar A. (2012). Exploración, colecta y conservación de recursos genéticos de jitomate: avances en la Red de Jitomate. *Revista Fitotecnia Mexicana* 7(22).
- López I.. (2014). Estudio de la herencia poligénica. *Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de la Salud*, 2(4).

- Marín M., Rodríguez P. J., Sahagún C. J., Hernández L., Velasco G. A. (2016). Morphological and molecular variation in 55 native tomato collections from Mexico. *Revista Chapingo serie horticultura*, 22, 117-131.
- Medeiros, A. C., Melo D. R. M., Ambrósio, M. M. Q.; Nunes, G. H. S.; Costa J. M. (2015). Methods of inoculation of *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* in melon (*Cucumis melo*). *Summa Phytopathologica* 41(4) 281-286
- Mehrabi R., Bahkali A., Abad E. Moslem M., Ben s., Mirzadi A., Karimi M., Stergiopoulos I., Gert H.J. Pierre J.G.M. (2011) Horizontal gene and chromosome transfer in plant pathogenic fungi affecting host range. *Microbiology Reviews* 3(35).
- Nan Wang. (2012). Applications of genotyping by sequencing (GBS) in maize genetics and breeding. *nature scientific reports*, 16308
- Raaijmakers, J.M.; Paulitz, T.C.; Steinberg, C.; Alabouvette, C.; Moënné-Loccoz, Y. The rhizosphere: A playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil* 2009, 321, 341–361
- Robinson, Raoul A.. (2007). Return To Resistance. electronic resource
- Rosado A., Schapire L. A., Bressa A. R., Harfouche L. A., Hasegawa M. P., Valpuesta V., Botella A M. (2006) The Arabidopsis Tetratricopeptide Repeat-Containing Protein TTL1 Is Required for Osmotic Stress Responses and Abscissic Acid Sensitivity. *Plant Physiol.* 142(3). 10.1104/pp.106.085191
- SADER. (2019). Reporte del mercado de tomate rojo. <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/06/Panorama-Agroalimentario-Tomate-rojo-2019.pdf>.
- Scherer A. & Christensen G.. (2016). Concepts and relevance of genome-wide association studies. *Science Progress*, 99, 59.
- Schweyen H., Rozenberg A., Leese F. (2014). Detection and Removal of PCR Duplicates in Population Genomic ddRAD Studies by Addition of a Degenerate Base Region (DBR) in Sequencing Adapters. *The Biological Bulletin* 2 (227), Number 2

- Seisuke K.& Neelima S.. (Nobiembre, 2008). Tomato (*Solanum lycopersicum*): A Model Fruit-Bearing Crop. Cold Spring Harbor Protocols, 105, 1.
- Shazad A.. (2018). Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* associated with tomato foot rot in Pothohar Region of Pakistan. scientific reports, 3910, 12.
- Stodart, BJ, Harvey, PR, Neate, SM, Melanson, DL & Scott. (2017) ES Variación genética y patogenicidad de aislamientos del grupo 2 de anastomosis de *Rhizoctonia solani* en Australia. Mycological Research 111 , 891–900
- Tam V.. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. Nature reviews genetics, 20, 467-484
- Tester M. & Langridge P. (2010). Breeding Technologies to Increase Crop Production in a Changing World. Science 327(5967):818-22
- Wan, B., Wu, J., Meng, X., Lei, M. y Zhao, X. (2019). Base molecular para el control de diversos factores de estabilidad del genoma mediante el andamio Multi-BRCT Rtt107. Molecular Cell , 75 (2), 238-251.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.05.035>
- Wang Y., Zhang J., Hu Z., Guo X., Tian S., Chen G. (2109). Genome-Wide Analysis of the MADS-Box Transcription Factor Family in *Solanum lycopersicum*. Int J Mol Sci. 20(12). 10.3390/ijms20122961
- Yun L. C & Mark G. JN. (2011). Dominios BRCT. Cell Cycle 10 (15). 10.4161 / cc.10.15.16312
- Zargar S.. (2020). Avances recientes en las técnicas de marcadores moleculares: conocimiento del mapeo QTL, GWAS y selección genómica en plantas. Ciencia de Cultivos y Biotecnología

ANEXOS

Cuadro 1A. Comparación de medias de variables fenotípicas entre líneas

L	ALF	J	SPAD	J	PSR	J	PSA		AF		LR		D	
L1	0.83205	a-c	1.10517	ab	0.9547	a-d	0.6293	ab	0.5132	b	1.013	a	0.8786	ab
L10	0.845	a-c	1.05939	ab	0.9194	b-d	0.7596	ab	0.7696	ab	1.1898	a	0.9166	ab
L11-4	0.66047	a-c	1.1216	ab	1.0375	a-d	0.9334	ab	0.7974	ab	1.0527	a	0.6488	ab
L12	0.8748	a-c	0.9734	b	1.0472	a-d	1.0539	ab	1.0038	ab	1.6141	a	0.7281	ab
L13	0.92857	a-c	1.06571	ab	1.134	a-d	1.0038	ab	0.964	ab	1.2224	a	0.7743	ab
L14	0.73504	a-c	1.02865	ab	1.0428	a-d	0.8591	ab	0.8822	ab	1.0787	a	0.7005	ab
L15	0.72992	a-c	1.08682	ab	1.0856	a-d	0.8975	ab	0.8837	ab	1.1188	a	0.6721	ab
L18	0.79678	a-c	0.98578	ab	0.9928	a-d	1.0381	ab	0.8378	ab	1.5616	a	0.67	ab
L19	0.63366	a-c	1.09444	ab	0.9684	a-d	0.7265	ab	0.8189	ab	1.4999	a	0.7997	ab
L2	0.72813	a-c	1.07826	ab	1.2359	a-c	0.7951	ab	0.7519	ab	1.3551	a	0.6421	ab
L20	0.82407	a-c	1.02796	ab	1.1573	a-d	0.9565	ab	1.0727	a	1.3006	a	0.7212	ab
L22	0.74478	a-c	1.16038	ab	0.9805	a-d	0.7503	ab	0.6733	ab	1.0084	a	0.6783	ab
L23	0.73288	a-c	1.2254	ab	1.091	a-d	0.6694	ab	0.5894	ab	0.878	a	0.6478	ab
L24	0.7062	a-c	1.05098	ab	1.085	a-d	0.8713	ab	0.7759	ab	1.3636	a	0.6968	ab
L27	0.78704	a-c	1.00782	ab	0.7789	d	0.6301	ab	0.5234	ab	0.9912	a	0.9287	ab
L28	0.71239	a-c	1.11808	ab	1.1036	a-d	0.8428	ab	0.7752	ab	1.0606	a	0.6671	ab
L29	0.66526	a-c	1.05183	ab	1.0313	a-d	0.8081	ab	0.6178	ab	1.0516	a	0.6193	ab
L3	0.66542	a-c	1.05108	ab	0.9914	a-d	0.7158	ab	0.588	ab	1.1507	a	0.6833	ab
L30	0.84255	a-c	1.21059	ab	0.8983	b-d	0.6694	ab	0.5794	ab	1.3607	a	0.7357	ab
L31	0.66507	a-c	1.06725	ab	1.064	a-d	0.7835	ab	0.6484	ab	1.3023	a	0.5268	b
L33	0.7744	a-c	1.05192	ab	0.8929	b-d	0.6581	ab	0.6086	ab	0.9417	a	0.8649	ab
L34	0.83381	a-c	1.20801	ab	1.0386	a-d	0.8277	ab	0.7494	ab	1.2615	a	0.923	ab
L35	0.96095	ab	1.16389	ab	0.8344	cd	0.6865	ab	0.5195	ab	0.9827	a	0.8178	ab
L36	0.76375	a-c	1.23145	ab	0.9587	a-d	0.7633	ab	0.7899	ab	1.1395	a	0.936	ab
L37	0.61978	a-c	1.14183	ab	0.9484	a-d	0.6819	ab	0.6257	ab	0.9823	a	0.6186	ab
L39	0.66289	a-c	1.0005	ab	1.0315	a-d	0.7186	ab	0.7057	ab	1.1298	a	0.716	ab
L40	0.66384	a-c	1.00394	ab	0.9223	b-d	0.7295	ab	0.6455	ab	1.0631	a	0.6698	ab
L41	0.74539	a-c	1.1438	ab	0.8338	cd	0.5722	b	0.5115	b	0.8905	a	0.8071	ab
L4-1	0.68383	a-c	1.13918	ab	1.0177	a-d	0.6869	ab	0.5839	ab	1.1206	a	0.9225	ab
L42	0.71429	A-C	1.1189	AB	1.1258	A-D	0.9401	AB	0.8974	AB	1.2501	A	0.6683	AB

ALF: altura final de planta; SPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; D: tasa de crecimiento de la planta.

Cuadro 1A. Comparación de medias de variables fenotípicas entre líneas, continuación

L	ALF	J	SPAD	J	PSR	J	PSA	AF	LR	D
L43	0.76602	a-c	1.28485	a	1.0941	a-d	0.8364	ab	0.7397	ab
L4-3	0.88398	a-c	1.05405	ab	1.0592	a-d	0.6092	ab	0.6392	ab
L44	0.68174	a-c	1.13531	ab	0.949	a-d	0.7821	ab	0.6185	ab
L45	0.74074	a-c	1.01259	ab	1.069	a-d	0.8929	ab	0.7148	ab
L46	0.81244	a-c	1.09664	ab	1.0748	a-d	0.7205	ab	0.7078	ab
L47-2	0.82121	a-c	1.15082	ab	0.9114	b-d	0.5755	b	0.5053	b
L47-8	0.67816	a-c	1.09613	ab	0.9973	a-d	0.6873	ab	0.5835	ab
L47B1	0.71995	a-c	1.04235	ab	0.9286	b-d	0.6676	ab	0.6253	ab
L47inv	0.71816	a-c	1.09385	ab	0.8496	cd	0.5628	b	0.529	ab
L48	0.69226	a-c	1.12544	ab	0.9542	a-d	0.634	ab	0.5376	ab
L49	0.60156	a-c	1.16142	ab	1.1418	a-d	0.8262	ab	0.786	ab
L5	0.67511	a-c	1.09386	ab	1.1621	a-d	0.7239	ab	0.7126	ab
L50	0.72785	a-c	0.97372	b	0.9438	a-d	0.7478	ab	0.6961	ab
L51	0.74088	a-c	1.15584	ab	1.0251	a-d	0.789	ab	0.6726	ab
L51H	0.84253	a-c	1.16791	ab	1.0613	a-d	0.8828	ab	0.8284	ab
L52	0.92381	a-c	0.9464	b	0.9963	a-d	0.9908	ab	0.934	ab
L53	0.68027	a-c	1.0727	ab	1.1414	a-d	0.8401	ab	0.7833	ab
L54	0.68718	a-c	1.09593	ab	0.9755	a-d	0.771	ab	0.6664	ab
L55	0.77251	a-c	1.11145	ab	1.0438	a-d	1.0078	ab	0.9253	ab
L56	0.56423	c	1.07975	ab	1.1919	a-d	0.7538	ab	0.6952	ab
L57	0.63002	a-c	1.16843	ab	0.9572	a-d	0.6993	ab	0.6014	ab
L58	0.70667	a-c	1.14647	ab	0.9875	a-d	0.7518	ab	0.6578	ab
L59	0.80498	a-c	1.10896	ab	0.9168	b-d	0.7535	ab	0.6173	ab
L6	0.67917	a-c	1.07	ab	0.974	a-d	0.6347	ab	0.6408	ab
L60	0.82899	a-c	1.12164	ab	1.3866	a	0.77	ab	0.9083	ab
L61	0.5963	a-c	1.07996	ab	0.8752	b-d	0.6118	ab	0.5058	b
L62	0.73267	a-c	1.16219	ab	1.2447	a-c	0.7791	ab	0.7217	ab
L63	0.71631	a-c	1.07917	ab	0.9258	b-d	0.68	ab	0.6815	ab
L64	0.98403	a	1.24421	ab	1.0489	a-d	0.8684	ab	0.7623	ab
L65	0.69943	a-c	1.09442	ab	1.1116	a-d	0.9133	ab	0.7779	ab
L66	0.7221	a-c	1.12291	ab	1.1382	a-d	0.758	ab	0.7794	ab

ALF: altura final de planta; SPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; D: tasa de crecimiento de la planta.

Cuadro 1A. Comparación de medias de variables fenotípicas entre líneas, continuación

L	ALF	J	SPAD	J	PSR	J	PSA	AF	LR	D				
L67	0.6969	a-c	0.94049	b	0.8669	cd	0.6634	ab	0.6047	ab	1.2998	a	0.7395	ab
L68	0.94303	a-c	1.00309	ab	0.8935	b-d	0.576	b	0.5394	ab	1.0191	a	0.9654	ab
L69	0.62667	a-c	1.13537	ab	1.0652	a-d	0.7357	ab	0.6985	ab	1.0828	a	0.5684	ab
L7	0.72583	a-c	1.21973	ab	1.0451	a-d	0.9006	ab	0.6934	ab	1.0503	a	0.6283	ab
L71	0.75685	a-c	1.20076	ab	1.3178	ab	1.19	a	0.8244	ab	0.8856	a	0.5585	ab
L72	0.60483	a-c	1.0265	ab	1.1642	a-d	0.8458	ab	0.8405	ab	0.8676	a	0.6703	ab
L73	0.77364	a-c	1.05204	ab	1.0159	a-d	0.7409	ab	0.7501	ab	0.91	a	0.8437	ab
L74	0.57931	bc	1.16936	ab	0.8787	b-d	0.5581	b	0.5739	ab	0.9128	a	0.6804	ab
L75	0.71057	a-c	1.11988	ab	0.9631	a-d	0.7728	ab	0.8157	ab	1.3158	a	0.7741	ab
L76	0.65507	a-c	1.00769	ab	0.8842	b-d	0.578	b	0.6313	ab	0.9003	a	0.7768	ab
L78	0.64453	a-c	1.20952	ab	0.9491	a-d	0.649	ab	0.4878	b	1.1656	a	0.6496	ab
L8	0.84884	a-c	1.02437	ab	1.1843	a-d	0.8991	ab	0.8294	ab	1.17	a	0.6808	ab
L80	0.66217	a-c	1.22507	ab	1.1955	a-d	0.7399	ab	0.7269	ab	0.9346	a	0.7467	ab
L85	0.71111	a-c	1.13774	ab	1.0179	a-d	0.6637	ab	0.5819	ab	0.9115	a	0.7991	ab
L86	0.70405	a-c	1.10574	ab	0.9776	a-d	0.5939	b	0.6405	ab	0.9003	a	0.6856	ab
L88	0.61214	a-c	1.06869	ab	0.9824	a-d	0.8046	ab	0.7823	ab	1.342	a	0.6918	ab
L89	0.65891	a-c	1.10437	ab	0.858	cd	0.5511	b	0.4779	b	1.445	a	0.5375	b
L9	0.62222	a-c	1.05143	ab	0.9928	a-d	0.7852	ab	0.7054	ab	1.2545	a	0.6282	ab
L90	0.71818	a-c	1.05759	ab	0.9068	b-d	0.6568	ab	0.6589	ab	1.0145	a	0.7383	ab
L91	0.69257	a-c	1.24502	ab	1.0046	a-d	0.8489	ab	0.9193	ab	1.2873	a	0.6683	ab
L92DET	0.73554	a-c	1.07849	ab	1.0532	a-d	0.888	ab	0.8296	ab	1.4388	a	0.7555	ab
Mermaide	0.69728	a-c	1.14012	ab	0.8767	b-d	0.6171	ab	0.5227	ab	1.0676	a	0.6825	ab
RF1	0.66531	a-c	1.05795	ab	0.951	a-d	0.6092	ab	0.5446	ab	1.2383	a	0.7214	ab
RF12	0.73285	a-c	0.95659	b	0.8428	cd	0.5586	b	0.5405	ab	1.085	a	0.9637	ab
RF38	0.76349	a-c	1.19479	ab	0.9491	a-d	0.8468	ab	0.823	ab	1.049	a	0.7542	ab
RF41	0.80952	a-c	1.09862	ab	0.9122	b-d	0.5938	b	0.4981	b	1.1916	a	0.7957	ab
RF46	0.84848	a-c	1.02435	ab	0.9869	a-d	0.6252	ab	0.5807	ab	1.3061	a	0.6722	ab
RF48	0.8463	a-c	1.13524	ab	1.0212	a-d	0.8569	ab	0.677	ab	1.4768	a	0.7705	ab
RF81	0.62745	a-c	1.04801	ab	0.8821	b-d	0.5984	b	0.5565	ab	0.994	a	0.6182	ab
SS2	0.70321	a-c	1.07514	ab	0.981	a-d	0.6169	ab	0.6518	ab	1.2227	a	0.7892	ab
SS5	0.60044	a-c	1.20648	ab	0.9354	b-d	0.5844	b	0.5048	b	1.1404	a	0.6656	ab

ALF: altura final de planta; SPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; D: tasa de crecimiento de la planta.

Cuadro 2A. SNPs no localizados en el genoma de referencia

FV	SNP	posiciones	Log ₁₀ (p-value)	FV	SNP	posicions	Log ₁₀ (p-value)
PSA	CH01_94439247	94,439,247	4.101	D	CH06_2000624	2,000,624	3.869
ALF	CH02_18263926	18,263,926	4.085	PSA	CH06_29180870	29,180,870	3.747
PSR	CH02_20741490	20,741,490	4.572	AF	CH06_7931753	7,931,753	5.899
LR	CH02_24487760	24,487,760	3.721	SPAD	CH07_19871869	19,871,869	3.664
PSR	CH03_3515857	3,515,857	3.698	SPAD	CH07_19871912	19,871,912	3.794
PSR	CH03_47031938	47,031,938	3.86	PSR	CH08_36291080	36,291,080	4.713
AF	CH03_48949711	48,949,711	4.625	PSR	CH09_62562197	62,562,197	3.624
PSA	CH05_41434152	41,434,152	3.586	ALF	CH11_29957977	29,957,977	4.314
ALF	CH05_43894667	43,894,667	4.64	D	CH12_16664450	16,664,450	3.852
PSR	CH05_51585810	51,585,810	3.615	D	CH12_21846495	21,846,495	3.909
D	CH05_64206556	64,206,556	4.878	D	CH12_27331920	27,331,920	3.909
D	CH05_64206556	64,206,556	4.878	D	CH12_32759826	32,759,826	3.909
D	CH05_64206556	64,206,556	4.878	PSR	CH12_33393174	33,393,174	4.141
SPAD	CH05_7742809	7,742,809	3.145	SPAD	CH12_3480683	3,480,683	3.491
ALF	CH05_8785397	8,785,397	4.681	D	CH12_56922034	56,922,034	3.755
ALF	CH05_9515985	9,515,985	4.467	D	CH12_8054988	8,054,988	3.909
ALF	CH05_9950190	9,950,190	4.436	PSR	CH12_9562887	9,562,887	3.9

ALF: altura final de planta; SPAD: Unidades SPAD; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; D: tasa de crecimiento de la planta.