



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
DOCTORADO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE
***Solanum lycopersicum* L. PARA TOLERANCIA A**
Fusarium oxysporum* Y *Rhizoctonia solani

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ANA ELIZABETH PAREDES CERVANTES

BAJO LA SUPERVISIÓN DE:

DR. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS



Chapingo, México, junio 2025

**ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE *Solanum lycopersicum* L.
PARA TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* Y *Rhizoctonia solani***

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

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:



DR. JAIME SAHAGÚN CASTELLANOS

ASESOR:



DR. JUAN ENRIQUE RODRÍGUEZ PÉREZ

ASESOR:



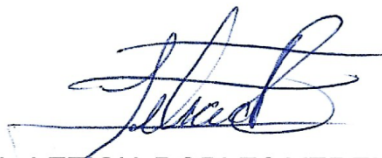
DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

ASESOR:



DRA. MARTHA HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

LECTOR EXTERNO:



DRA. LETICIA ROBLES YERENA

Chapingo, México, junio 2025

**ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE *Solanum lycopersicum* L.
PARA TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* Y *Rhizoctonia solani***

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	1
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	3
1.1 Objetivo general.....	5
1.2 Objetivos específicos	5
1.3 Metodología general	6
1.4 Literatura citada	6
2. RESPONSE OF <i>Solanum lycopersicum</i> L. TO <i>Fusarium oxysporum</i> DURING GERMINATION AND SEEDLING STAGES	8
Abstract	9
Introduction.....	10
Materials and methods	12
Results and discussion	15
Conclusions	26
References	26
3. TOLERANCIA DE LÍNEAS AVANZADAS DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. A <i>Rhizoctonia solani</i> DURANTE GERMINACIÓN Y PLÁNTULA	32
Resumen	33
Introducción	34
Materiales y métodos.....	36
Resultados y discusión	39
Conclusiones	49
Referencias	50
4. ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. PARA TOLERANCIA A <i>Fusarium oxysporum</i> Y <i>Rhizoctonia solani</i>	55
4.1 Resumen	55
4.2 Introducción	55
4.3 Materiales y métodos.....	59

4.4 Resultados y discusión	63
4.5 Conclusiones	84
4.6 Referencias	85
4.7 ANEXOS	94

ÍNDICE DE TABLAS Y CUADROS

2. RESPONSE OF <i>Solanum lycopersicum</i> L. TO <i>Fusarium oxysporum</i> DURING GERMINATION AND SEEDLING STAGES	8
Table 1. Eigenvectors of the discriminant variables (DV1 and DV2) generated from indices of 96 tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) genotypes inoculated during the germination stage.....	17
Table 2. Comparisons of means of phenotypic traits for the Group factor in germination tests against <i>Fusarium oxysporum</i>	19
Table 3. Eigenvectors of the first two discriminant functions (DV1) and (DV2), generated from indices of 96 tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) genotypes during the seedling stage, inoculated with <i>Fusarium oxysporum</i>	21
Table 4. Comparisons of means of genotype groups against <i>Fusarium oxysporum</i> at seedling stage.	23
Table 5. Composition of tomato genotypes within the groups resulting from the dendrogram and discriminant analysis in germination and seedling inoculated with <i>Fusarium oxysporum</i>	24
3. TOLERANCIA DE LÍNEAS AVANZADAS DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. A <i>Rhizoctonia solani</i> DURANTE GERMINACIÓN Y PLÁNTULA	32
Cuadro 1. Vectores propios de las variables discriminantes (VD1 y VD2) generadas a partir de índices de 90 genotipos de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) inoculados durante la etapa de germinación ante <i>Rhizoctonia solani</i>	40
Cuadro 2. Comparaciones de medias de índices de caracteres fenotípicos para Grupos en la prueba de germinación ante <i>Rhizoctonia solani</i>	43
Cuadro 3. Coeficientes de estructura canónica total de las dos primeras funciones canónicas VD1 y VD2 generadas a partir de índices de 90 genotipos experimentales de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) durante etapa de plántula inoculadas con <i>Rhizoctonia solani</i>	45
Cuadro 4. Comparaciones de medias de índices de caracteres fenotípicos para el factor Grupo en pruebas de germinación ante <i>Rhizoctonia solani</i>	47
Cuadro 5. Líneas avanzadas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) dentro de los grupos resultado del dendrograma y análisis discriminante en germinación y plántula inoculadas con <i>Rhizoctonia solani</i>	48

4. ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. PARA TOLERANCIA A <i>Fusarium oxysporum</i> Y <i>Rhizoctonia solani</i>	55
Cuadro 1. Estimación de varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio de 9 variables calculadas con los datos fenotípicos durante germinación de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) ante <i>Fusarium oxysporum</i>	63
Cuadro 2. Estimación de varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio de 7 variables calculadas con los datos fenotípicos durante plántula de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) ante <i>Fusarium oxysporum</i>	64
Cuadro 3. Estimación de varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio de 9 variables calculadas con los datos de los datos fenotípicos durante germinación de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) ante <i>Rhizoctonia solani</i>	65
Cuadro 4. Anotación funcional de genes candidatos ubicados en un intervalo de confianza de 3.7 Mb para SNP ($p \leq 0.001$) asociados con la tolerancia de líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) durante germinación ante la infección por <i>Fusarium oxysporum</i>	69
Cuadro 5. Anotación funcional de genes candidatos ubicados en un intervalo de confianza de 3.7 Mb para SNP ($p \leq 0.001$) asociados con la tolerancia de 95 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) durante etapa de plántula ante la infección por <i>Fusarium oxysporum</i>	71
Cuadro 6. Anotación funcional de genes candidatos ubicados en un intervalo de confianza de 3.7 Mb para SNP ($p \leq 0.001$) asociados con la tolerancia de 95 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) durante germinación ante la infección por <i>Rhizoctonia solani</i>	74

ÍNDICE DE FIGURAS

2. RESPONSE OF *Solanum lycopersicum* L. TO *Fusarium oxysporum* DURING GERMINATION AND SEEDLING STAGES 8

Figure 1. Colony morphology and asexual reproduction structures of *Fusarium oxysporum* (Schlechtendahl emend. Snyder and Hansen) of GenBank accession strain PQ187438. A) Seeds inoculated with *Fusarium oxysporum* at 9 DAI; B) Seedlings damaged by *Fusarium oxysporum* at 10 DAI; C) Microconidia, mycelium and phialides; D) Macroconidia and microconidia; E) Microconidia; F) Chlamydospores..... 16

Figure 2. Representation of discriminant variables for 96 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes inoculated at germination with *Fusarium oxysporum*. DV1: discriminant variable 1, inversely associated with disease progress. DV2, discriminant variable 2, directly associated with seed vigor. 18

Figure 3. Graphical representation of discriminant variables of 96 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes inoculated in seedlings with *Fusarium oxysporum*. DV1: discriminant variable 1; high values indicate greater plant vigor and less disease damage, and vice versa; DV2, discriminant variable 2; high values indicate genotypes with greater seedling height and aerial dry weight..... 23

3. TOLERANCIA DE LÍNEAS AVANZADAS DE *Solanum lycopersicum* L. A *Rhizoctonia solani* DURANTE GERMINACIÓN Y PLÁNTULA 32

Figura 1. Morfología de *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorfo = *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) A: crecimiento de *R. solani* en medio PDA; B: preparación de *R. solani*; C; daño en semillas y plántula durante prueba de tolerancia de líneas de tomate a *R. solani* durante germinación. 40

Figura 2. Representación de variables discriminantes de 90 genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculados en germinación con *Rhizoctonia solani*. VD1: variable discriminante 1, valores bajos representan genotipos tolerantes con menor daño de la enfermedad y mayor longitud, y viceversa; VD2: variable discriminante 2, valores altos identifican genotipos tolerantes con mayor porcentaje de germinación e índice de velocidad de germinación, y viceversa..... 42

Figura 3. Representación de variables discriminantes de 90 genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculados en plántula con *Rhizoctonia*

<i>solani</i> . VD1: variable discriminante 1, valores altos representan genotipos tolerantes con mayor biomasa y área foliar, y viceversa; VD2: variable discriminante 2, valores altos identifican genotipos tolerantes con mayor altura y tasa de crecimiento, y viceversa.	46
4. ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. PARA TOLERANCIA A <i>Fusarium oxysporum</i> Y <i>Rhizoctonia solani</i>	55
Figura 1. Distribución de 14,689 SNPs del panel de diversidad de 95 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>). Los diferentes colores representan diferentes niveles de densidad y "Chr" se refiere a los cromosomas.	66
Figura 2.(A) Mapa de calor de matriz de parentesco de 95 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>). (B) Gráfico de sedimentación (Scree plot) del análisis de componentes principales (PCA) de 95 líneas de tomate. (C) Decaimiento del desequilibrio de ligamiento (LD) en función de la distancia física entre SNPs.....	67
Figura 3. QQplot (derecha) y Gráficos de Manhattan (izquierda) generados a partir del MLM para cada una de las variables evaluadas en 95 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) durante germinación ante <i>Fusarium oxysporum</i> . El gráfico cuantil-cuantil (QQ) muestra los valores p observados frente a los esperados. El gráfico de Manhattan muestra la distribución de los valores de $-\log_{10}(p)$ a lo largo del genoma, donde valores de $-\log_{10}(p) \geq 3$ ($p \leq 0.001$) son significativos. Rasgos evaluados: GER: germinación; IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de la plúmula; LRA: longitud de la radícula; LTO: longitud total.....	68
Figura 4. QQplot (derecha) y Gráficos de Manhattan (izquierda) generados a partir del MLM para cada una de las variables evaluadas en 95 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) durante etapa de plántula ante <i>Fusarium oxysporum</i> . El gráfico cuantil-cuantil (QQ) muestra los valores p observados frente a los esperados. El gráfico de Manhattan muestra la distribución de los valores de $-\log_{10}(p)$ a lo largo del genoma, donde valores de $-\log_{10}(p) \geq 3$ ($p \leq 0.001$) son significativos. APF: altura de planta; C: tasa de crecimiento; AF: área foliar; LR: largo de raíz; PSA: peso seco aéreo; PSR: peso seco de raíz; SPAD; unidades SPAD.	71
Figura 5. QQplot (derecha) y Gráficos de Manhattan (izquierda) generados a partir del MLM para cada una de las variables evaluadas en 95 líneas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) durante germinación ante <i>Rhizoctonia solani</i> . El gráfico cuantil-cuantil (QQ) muestra los valores p observados frente a los esperados. El gráfico de Manhattan muestra la distribución de los valores de $-\log_{10}(p)$ a lo largo del genoma, donde valores de $-\log_{10}(p)$	

≥ 3 ($p \leq 0.001$) son significativos. Rasgos evaluados: GER: germinación;
 IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de
 daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la
 enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de la plúmula; LRA: longitud de
 la radícula; LTO: longitud total. 73

DEDICATORIA

A Dios por escuchar mis oraciones y darme fuerza en cada momento para que yo estuviera logrando mis sueños y convertirme en mejor persona cada día.

A mis padres, que rezan por mí, me apoyan y me animan, que están orgullosos de mí, y yo de ellos, sin su esfuerzo y educación yo no habría logrado nada. Gracias por su amor.

A mis hermanos, que son mi inspiración para seguir adelante, los amo, gracias por ser mis compañeros de vida y por amarme.

A mi novio Irouri, por su amor, apoyo, paciencia y dedicación, por crecer conmigo en cada etapa y por creer en mí.

A mis abuelos y bisabuelos, que a pesar de su historia de vida siguieron el camino del bien, gracias a su lucha yo estoy aquí, siendo muy afortunada. No dejaré de luchar.

A mis tíos y primos, quienes siempre han estado dispuestos a apoyarme desde niña, por su cariño y motivación.

¡A las chicas del coro, y a los chicos también! Por hacer de esta etapa de mi vida más feliz a pesar del trabajo y las frustraciones, cada uno de ustedes tiene mi admiración y estoy muy agradecida por su amistad.

A Edith Muñoz y David Cristóbal por estar al pendiente de mi trabajo, cuidarme y animarme.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero brindado durante mi programa de doctorado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al personal académico del posgrado de Horticultura, por la oportunidad de crecimiento académico y el invaluable aprendizaje recibido a lo largo de mi formación.

A mi director de tesis, Dr. Jaime Sahagún Castellanos, a quien expreso mi más sincero respeto, por su disponibilidad y colaboración.

Al Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, a quien agradezco por compartir su valioso tiempo enseñándome y guiándome. Por su amistad y apoyo en mi desarrollo profesional.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, un modelo a seguir tanto en lo profesional como en lo personal, siempre está dispuesto a apoyar a los estudiantes junto con su equipo de trabajo.

A la Dra. Martha Hernández Rodríguez, por ser una mujer de ciencia cuya pasión por el conocimiento ha sido una fuente de inspiración y aprendizaje para mí.

A la Dra. Leticia Robles Yerena, por ser un ejemplo de trabajo y esfuerzo y ser una persona que siempre está lista para trabajar

A mis compañeros y amigos del doctorado, quienes me acompañaron en este proyecto, compartiendo experiencias y aprendizajes significativos. En especial, a Alma Aurora, con quien he formado un equipo sólido a lo largo del doctorado, trabajando juntas con respeto, dedicación y cariño en cada etapa del proceso.

Al equipo del programa de mejoramiento genético de jitomate, cuyo respaldo fue fundamental en cada etapa del proyecto, amigos y alumnos de licenciatura de las prácticas de Diseños Experimentales, quienes siempre demostraron disposición y compromiso para colaborar en el programa.

A los trabajadores de la universidad: Mariana Romualda Calzada Millán, Jorge Luis Sánchez Galicia, Ricardo Gaspar Hernández, Marce, Anita, Yadira, Mateo y Juanito, quienes representan el pilar fundamental para que los estudiantes podamos desarrollar nuestros proyectos de manera eficiente. Su apoyo, disposición y atención hicieron posible que cada etapa de la investigación fluyera de manera efectiva, facilitando enormemente el proceso.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Ana Elizabeth Paredes Cervantes

Fecha de nacimiento: 29 de mayo de 1995

Lugar de nacimiento: Cardonal, Hidalgo

CURP: PACA950529MHGRRN01

Profesión: Maestra en Ciencias en Horticultura

Cédula profesional: 12886272



Desarrollo académico

Licenciatura en Agronomía en Horticultura Protegida (2014-2018).
Universidad Autónoma Chapingo.

Maestría en Ciencias en Horticultura (2019-2020). Universidad Autónoma
Chapingo.

Doctorado en Ciencias en Horticultura (2021-2025). Universidad Autónoma
Chapingo.

ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE *Solanum lycopersicum* L. PARA TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* Y *Rhizoctonia solani*

RESUMEN GENERAL

Las enfermedades del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) causadas por los hongos cosmopolitas *Fusarium oxysporum* (Fo) y *Rhizoctonia solani* (Rs), especialmente en etapas tempranas, inducen inicialmente daño radicular, lo que disminuye la absorción de agua y nutrientes y eventualmente la muerte de la planta. En Fo se han identificado genes mayores de resistencia; en tanto que en Rs aún no se han localizado; esto resalta la necesidad de desarrollar estrategias de selección basadas en la herencia cuantitativa. Los objetivos de la presente investigación fueron identificar genotipos tolerantes a Fo y a Rs durante germinación y plántula, establecer estrategias de evaluación fenotípica de corta duración, efectivas y aplicables a alto número de genotipos simultáneamente y realizar análisis de asociación genómica a fenotípicos de herencia cuantitativa para la tolerancia a ambas enfermedades mediante estudios GBS (Genotyping by sequencing) y GWAS (Genome-Wide Association Study) mediante un modelo lineal mixto. Las evaluaciones fenotípicas en germinación y plántula incluyeron inoculaciones de ambas enfermedades a 95 líneas. Respecto a Fo identificaron 14 genotipos tolerantes en germinación y 9 en plántula. El GBS detectó 14,689 SNPs y el GWAS asoció 88 SNPs a la tolerancia durante germinación y 38 SNPs a la tolerancia en plántula; a estos, corresponde 29 genes con anotaciones relativas a la defensa de la planta en ambas etapas. Ante Rs 24 genotipos fueron tolerantes en germinación y 17 en plántula. Tres genotipos fueron tolerantes en ambas etapas. El análisis GWAS identificó 36 SNPs en germinación asociados a la tolerancia de esta enfermedad; de los cuales 11 tienen anotaciones funcionales de genes involucrados en la tolerancia a estrés. Los resultados indican que las evaluaciones fenotípicas acompañadas de análisis genómicos son una herramienta efectiva para el mejoramiento genético asistido para la tolerancia a *F. oxysporum* y *R. solani*.

Palabras clave: Patogenicidad, marchitez, genotipificación por secuenciación, GWAS.

Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Ana Elizabeth Paredes Cervantes

Director de tesis: Dr. Jaime Sahagún castellanos

**ASSOCIATION OF GENOMIC REGIONS IN *Solanum lycopersicum* L.
WITH TOLERANCE TO *Fusarium oxysporum* AND *Rhizoctonia solani***

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) diseases caused by the cosmopolitan fungi *Fusarium oxysporum* (*Fo*) and *Rhizoctonia solani* (*Rs*), especially in the early stages, initially induce root damage, which decreases water and nutrient uptake and eventually leads to plant death. Major genes for resistance have been identified to *Fo*, while specific loci have not yet been located to *Rs*; this highlights the need to develop selection strategies based on quantitative inheritance. The objectives of this research were to identify genotypes tolerant to *Fo* and *Rs* during germination and seedling, establish short-term, effective phenotypic evaluation strategies applicable to a large number of genotypes simultaneously, and perform genome-wide association analyses of quantitatively inherited traits for tolerance to both diseases using GBS (Genotyping by Sequence) and GWAS (Genome-Wide Association Study) using the linear mixed model. Phenotypic evaluations in germination and seedling included inoculations of 95 lines with both diseases. Fourteen genotypes were identified as tolerant to *Fo* in germination and nine in seedling stage. GBS detected 14,689 SNPs, and GWAS associated 88 SNPs with tolerance to *Fo* during germination and 38 SNPs with tolerance in seedling stage. These included 29 genes with annotations related to plant defense at both stages. Against *Rs*, 24 genotypes were tolerant during germination and 17 at seedling stage. Three genotypes were tolerant at both stages. GWAS identified 36 SNPs in germination associated with tolerance to this disease; 11 of these had functional annotations of genes involved in stress tolerance. The results indicate that phenotypic evaluations accompanied by genomic analyses are an effective tool for molecular assisted selection for tolerance to *F. oxysporum* and *R. solani*.

Key words: Pathogenicity, wilt, genotyping by sequencing, GWAS.

PhD Thesis of Science in Horticulture, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Ana Elizabeth Paredes Cervantes

Advisor: Dr. Jaime Sahagún Castellanos

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una hortaliza de gran relevancia económica y de valor nutricional importante (Egea et al., 2022). Además, forma parte de la gastronomía global, consumido principalmente en fresco y también se consumen derivados de su procesamiento (Brookie et al, 2018; Gatahi, 2020). Consecuentemente existe una demanda global significativa; de ahí la producción de millones de toneladas de tomate cada año.

A pesar de su procedencia tropical, la forma del cultivo del tomate se ha caracterizado por ser altamente versátil (Lata et al., 2024); además, con la implementación de la agricultura protegida, su producción se ha extendido a todo el mundo. Su carácter cosmopolita; sin embargo, lo ha expuesto a más de 200 enfermedades causadas por patógenos y plagas, de las cuales más de 20 son provocadas por hongos fitopatógenos (Rezk et al., 2021).

Dentro de las relaciones parasíticas más importantes entre el tomate y hongos fitopatógenos, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* son considerados de alta importancia. Estas enfermedades son parte del complejo de hongos que provocan el “damping off”, cuyos síntomas incluyen la descomposición de semillas durante germinación y plántulas jóvenes; además, provocan marchitamiento fúngico (Lamichhane et al., 2017; Srinivas et al., 2019). Ambos hongos permanecen latentes en el suelo; en el caso de *Fusarium* en forma de clamidosporas y de *Rhizoctonia* como esclerocios, hasta infectar a un nuevo hospedante, razón por la cual es difícil su erradicación, por lo que los suelos permanecen infectados durante largos periodos de tiempo (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2017; Gordon, 2017). La infección provocada por ambas enfermedades inicia en la raíz; posteriormente, avanza hacia otras estructuras como la base del tallo, el floema y xilema, lo que resulta en síntomas de marchitez, que a la postre puede causar la muerte de la planta (Lamichhane et al., 2017).

La marchitez provocada por *Fusarium oxysporum* ha sido objeto de estudio por más de un siglo. Hasta ahora, se han identificado genes mayores que confieren resistencia a esta enfermedad en tomate (*I*, *I-2*, *I-3* e *I-7*) (Chitwood-

Brown et al., 2021). Utilizar genes mayores que confieren resistencia, provoca muy alta presión de selección sobre el patógeno, lo que a su vez promueve la generación de nuevas razas patogénicas; además, los sistemas actuales de producción que promueven la uniformidad de los cultivos los hacen más vulnerables.

En tomate, hasta ahora, no se han localizado genes mayores que confieran resistencia a *Rhizoctonia solani*. Se ha logrado identificar 14 grupos de anastomosis, que hacen que esta enfermedad sea altamente diversa en cuanto a su morfología, virulencia y especificidad de hospedantes (Lamichhane et al., 2017). Razón por la cual, la búsqueda de tolerancias de tomate ante esta enfermedad se ha visto limitada.

Las plantas no poseen genes mayores de resistencia para todas las enfermedades que enfrentan; sin embargo, existen respuestas fisiológicas y bioquímicas promovidas por múltiples genes que deben ser identificados por los mejoradores, para ser incluidos en los procesos de selección, sin limitarse exclusivamente a la búsqueda de genes mayores (Nafisa et al., 2020), como ocurre en la mayoría de programas de mejoramiento genético de variedades comerciales. Bajo este escenario, la identificación de genes cuantitativos que promuevan tolerancia ante el ataque de enfermedades se vuelve la mejor opción en el mejoramiento genético de plantas, debido a que es la opción más sustentable. La resistencia cuantitativa también denominada resistencia horizontal o poligenética, está controlada por múltiples genes, cada uno con un efecto menor que contribuye a la tolerancia de las plantas (Chitwood-Brown et al., 2021).

El mejoramiento genético asistido por marcadores es una herramienta con capacidad para acelerar los procesos de selección (Zenda et al., 2021). Las técnicas avanzadas de secuenciación de alto rendimiento, los genomas de referencia y la recopilación de datos fenotípicos de alta calidad permiten identificar genes y secuencias reguladoras, así como el mapeo de variaciones genómicas asociadas a la tolerancia de enfermedades en cultivos de interés (Mir et al., 2019; Tibbs et al., 2021; Zenda et al., 2021).

Las técnicas de GBS (genotyping-by-sequencing) y GWAS (Genome wide association study), permiten asociar marcadores de alta densidad (SNPs) (single nucleotid polymorphisms) a caracteres cuantitativos. Estas técnicas prometen avances en el mejoramiento genético al permitir la selección de variantes genéticas específicas o SNPs que en su conjunto complementan la resistencia a enfermedades (Zenda et al., 2021).

1.1 Objetivo general

Identificar regiones genómicas asociadas a caracteres fenotípicos de herencia cuantitativa para la tolerancia a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en 95 líneas avanzadas (F₁₀ a F₁₂) mediante el análisis de asociación de genoma completo GWAS etapas tempranas de desarrollo del cultivo.

1.2 Objetivos específicos

Identificar genotipos de tomate tolerantes a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* durante la germinación y el desarrollo inicial de plántulas, para utilizarlos como fuentes de resistencia en el mejoramiento.

Desarrollar estrategias de evaluación fenotípica de corta duración, efectiva y precisa para identificar tolerancia a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, con posibilidad de ser aplicadas a alto número de genotipos en forma simultánea.

Determinar asociaciones entre características fenotípicas de resistencia o tolerancia a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* con características genotípicas mediante métodos bioinformáticos GBS y GWAS.

Identificar SNP estadísticamente asociados con la tolerancia a *F. oxysporum* y *R. solani*, con potencial para su validación como marcadores moleculares en selección asistida 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

1.3 Metodología general

La presente Tesis se basó en la evaluación de 95 líneas homocigóticas del programa de mejoramiento genético de la UACH, en dos etapas fenológicas (Germinación y desarrollo de plántula) ante las enfermedades fúngicas de raíz; *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Posteriormente las líneas fueron sometidas a un análisis GBS y junto con la información derivada de las evaluaciones fenotípicas se aplicó un análisis GWAS. Finalmente se asociaron SNPs a regiones genómicas y se identificaron genes con anotaciones reportadas asociadas a la tolerancia a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*.

1.4 Literatura citada

- Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). *Rhizoctonia solani*: Taxonomy, population biology and management of *Rhizoctonia* seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, 67(1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>
- Brookie, K. L., Best, G. I., & Conner, T. S. (2018). Intake of raw fruits and vegetables is associated with better mental health than intake of processed fruits and vegetables. *Frontiers in Psychology*, 9, Article 487. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.00487>
- Chitwood-Brown, J., Vallad, G. E., Lee, T. G., & Hutton, S. F. (2021). Breeding for resistance to *Fusarium* wilt of tomato: A review. *Genes*, 12(11), Article 1673. <https://doi.org/10.3390/genes12111673>
- Egea, I., Estrada, Y., Flores, F. B., & Bolarín, M. C. (2022). Improving production and fruit quality of tomato under abiotic stress: Genes for the future of tomato breeding for a sustainable agriculture. *Environmental and Experimental Botany*, 204, Article 105086. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105086>
- 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>
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, 55(1), 23-39.
- Lamichhane, J. R., Dürr, C., Schwanck, A. A., Debaeke, P., Robin, M. H., & Sarthou, J. P. (2017). Integrated management of damping-off diseases: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37, Article 10. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0417-y>
- Lata, S., Hussain, Z., Yadav, R. K., Jat, G. S., Kumar, P., & Tomar, B. S. (2024). Insights into the genetic improvement of tomato. In S. Tiwari & B. Koul

- (Eds.), *Genetic engineering of crop plants for food and health security* (pp. 165–184). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-97-3119-0_7
- Mir, R. R., Reynolds, M., Pinto, F., Khan, M. A., & Bhat, M. A. (2019). High-throughput phenotyping for crop improvement in the genomics era. *Plant Science*, 282, 60–72. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.007>
- Nafisa, Shoaib, A., & Iqbal, J. (2020). Evaluation of phenotypic, physiological and biochemical attributes connected with resistance in tomato against *Alternaria solani*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, Article 88. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03076-2>
- Rezk, A., Abhary, M., & Akhkha, A. (2021). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) breeding strategies for biotic and abiotic stresses. In J. M. Al-Khayri, S. M. Jain, & D. V. Johnson (Eds.), *Advances in plant breeding strategies: Vegetable crops* (pp. 363–405). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66961-4_10
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B. P., Kalagatur, N. K., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Tabassum, B., Abd_Allah, E. F., Nayaka, S. C., & Srivastava, R. K. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity – A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1315–1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>
- Tibbs Cortes, L., Zhang, Z., & Yu, J. (2021). Status and prospects of genome-wide association studies in plants. *The Plant Genome*, 14(1), Article e20077. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20077>
- Zenda, T., Liu, S., Dong, A., Li, J., Wang, Y., Liu, X., Wang, N., & Duan, H. (2021). Omics-facilitated crop improvement for climate resilience and superior nutritive value. *Frontiers in Plant Science*, 12, Article 774994. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.774994>

2. RESPONSE OF *Solanum lycopersicum* L. TO *Fusarium oxysporum* DURING GERMINATION AND SEEDLING STAGES

RESPONSE OF *Solanum lycopersicum* L. TO *Fusarium oxysporum* DURING GERMINATION AND SEEDLING STAGES

Abstract

Due to the widespread distribution of *F. oxysporum*, the search for mechanisms of tolerance to this disease in *Solanum lycopersicum* L. is an ongoing endeavor. This research aimed to identify *F. oxysporum*-tolerant genotypes at the germination and seedling stages in order to use them as sources of resistance. Ninety-six tomato lines were inoculated with the *F. oxysporum* strain with NCBI accession key PQ187438. The germination test was carried out in a germination chamber at a constant temperature of 28 ± 2 °C with 70 ± 5 % relative humidity in darkness for the first 3 days and then 7 days with light. Clustering and discriminant analysis identified 14 genotypes with tolerance, showing great seed vigor and lower disease severity. Seedling evaluation was conducted in a floating raft system for 10 days after inoculation. Nine genotypes showed greater tolerance to the pathogen by developing a larger leaf area and accumulating more dry matter ($p \leq 0.05$). No genotypes with tolerance were identified at both phenological stages (germination and seedling), indicating that tolerance mechanisms are independent at both phenological stages, so genotype selection should be carried out independently.

Keywords: Resistance mechanisms; breeding; tolerance; pathogenicity; genetic diversity.

Artículo sometido a la Revista Chapingo Serie Horticultura

Estatus: Enviada

Autores: Ana Elizabeth Paredes-Cervantes, Jaime Sahagún-Castellanos, Juan Enrique Rodríguez-Pérez, Santos Gerardo Leyva-Mir, Martha Hernández-Rodríguez, Alma Aurora Deanda-Tovar

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is an important part of international culinary culture, consumed raw, cooked or processed, and is a significant source of nutrients, including lycopene, β -carotene, flavonoids and vitamin C (Gerszberg et al., 2015). Due to its widespread global distribution, this vegetable is frequently exposed to increasingly severe biotic and abiotic stressors that diminish its yield (Ramírez-Ojeda et al., 2022).

This species, native to South America, possesses great genetic diversity thanks to the presence of related species (Ramírez-Ojeda et al., 2022); however, domestication and selection have caused gene loss, which hampers crop resilience (Tamburino et al., 2020) and makes the task of breeding for tolerance to adverse factors arduous.

Tomatoes are attacked by more than 20 fungal diseases (Rezk et al., 2021), of which *Fusarium oxysporum* (Schlechtendahl emend. Snyder and Hansen) is one of the most devastating. Its presence can occur from germination (Lamichhane et al., 2017; Kamil et al., 2020) to fully developed crops, which can decrease yield to devastating levels (Bawa, 2016; Husaini et al., 2018).

F. oxysporum produces three types of asexual infectious spores: macroconidia, microconidia, and chlamydospores; a sexual stage for *F. oxysporum* has not been described (McGovern, 2015). Infection begins in exudates near the root by emission of spore germ tubes that invade and colonize the root xylem. By transporting macro- and microconidia through the vascular tissue, similarly to nutrients, it enables infection throughout the plant. The degree of damage depends on the biotrophic or necrotrophic state of the fungus (Gordon, 2017).

Symptoms start on lower leaves, which show wilting, vein discoloration and leaf blade yellowing, which later develop throughout the plant, resulting in a brown color (Srinivas et al., 2019; Bawa, 2016); this causes stunted growth and premature fruit ripening, and, ultimately, premature death of the plant (Kamil et al., 2020).

Plants have the innate ability to defend themselves. At the genetic-molecular level, this is due to the interaction between endogenous receptors and derived molecules that determine the patterns and speed of expression of proteins related to plant defense. The

difference between resistance and susceptibility depends on the activation rate and intensity of expression of the genes involved (Tabassum & Blilou, 2022).

In plants, three possible signaling pathways activated by the presence of a pathogen have been identified. The most common is the nuclear-targeted signal, which triggers gene reprogramming. The second is organelle-targeted, where regulation occurs at the level of a particular metabolic pathway. Finally, the third pathway is manifested by changes in the cytoplasm (Ghosh et al., 2019; López-Zapata et al., 2021).

In crop breeding, developing disease-tolerant varieties is a primary objective to minimize significant impacts on yield (Rezk et al., 2021). It is a more effective strategy for disease management (Chitwood-Brown et al., 2021) as it allows reducing the use of pesticides that can harm the environment and human health. To achieve this, it is essential to have broad genetic diversity and germplasm characterized morphologically, molecularly and agronomically (Ramírez-Ojeda et al., 2022; Marín-Montes et al., 2016).

There is a network of proteins related to innate systemic resistance to *Fusarium* infection, which is governed by numerous genes (Gallé et al., 2022) that can modify root proliferation, membrane permeability, and exudation of phenolic compounds such as caffeic acid, chlorogenic acid and antimicrobial proteins in the host (Driouich et al., 2013). Despite this, breeding for resistance to most tomato diseases has mainly focused on the use of major genes (Chitwood-Brown et al., 2021); this necessitates the search for more stable resistance based on quantitative genes in order to increase the duration of resistance (Gordon, 2017).

The sources of resistance to *Fusarium* are varied. In tomato, major genes (I-1, I-2, I-3 and I-7) confer resistance and protect the crop against different strains with widespread global distribution; however, the great genetic variability of the fungus requires a constant search for new genes and tolerance mechanisms given the genetic uniformity of the crop (Chitwood-Brown et al., 2021). Therefore, phenotypic evaluation is essential for identifying quantitative tolerance mechanisms in potential parents with genetic complexes that can be transferred to varieties or hybrid parents to provide the tolerance required for this crop.

This research aimed to identify tomato genotypes tolerant to *F. oxysporum* during germination and initial seedling development, with the purpose of using them as sources of resistance in breeding.

Materials and methods

Ninety-four homozygous lines (F₁₂ to F₁₅) from the Tomato Genetic Breeding Project operated by Chapingo Autonomous University (UACH), derived from crosses between commercial hybrids, were evaluated. Additionally, the Imperial® (Enza Zaden, USA) and Topanga® (Rogers Seeds, USA) hybrids were evaluated.

The *F. oxysporum* strain used was obtained from the Phytopathogenic Fungi Bank of UACH's Department of Agricultural Parasitology, isolated from tomato roots grown in the state of Sinaloa, Mexico. Its morphological characterization was performed according to Issac et al. (2018) and using the identification guides of Leslie and Summerell (2006). Molecular characterization, DNA extraction, PCR amplification and sequencing of the strain were performed using the methodology described by Robles-Yerena et al. (2016). Fragment sequencing was performed by the MacroGen® company (Korea), and this was compared and registered in the NCBI database using the BLASTn tool.

The strain was reactivated on PDA (200 g of potato, 15 g of dextrose, 20 g of agar-agar in 1 L of distilled water) at 25 °C for 10 days. A spore solution was then prepared with sterile water by liquefying the mycelium from 10 Petri dishes per liter of water and adding 5 drops of Tween 20® as an emulsifier. The inoculum concentration was 1.5x10⁶ to 3.2x10⁶ spores·ml⁻¹ of *F. oxysporum*, as measured using a hemacytometer.

Response of tomato genotypes to *F. oxysporum* during germination

The experiment was conducted in a germination chamber at 28±2 °C and 70±5 % relative humidity (Lab-Tech Inc.®, model D-7140), in darkness for the first 3 days and then under artificial light for 7 more days.

The experimental unit (EU) was a 5-cm diameter Petri dish with filter paper and 25 seeds. The dish was irrigated with 0.5 ml of sterile distilled water on days 3, 6 and 9 after sowing

(DAS). A randomized complete block experimental design with 4 replicates was used. Two ml of the inoculum solution was added to the inoculated EUs, while 2 ml of distilled water was added to the control EUs.

The number of germinated seeds (NGS_i) and the number of seeds damaged by *F. oxysporum* (NDS_i) were recorded daily for 10 days.

The McGuire (1962) germination rate index (GRI) was calculated:

$$GRI = \sum_{i=1}^n \frac{NGS_i}{T_i}$$

and the damage rate index (DRI):

$$DRI = \sum_{i=1}^n \frac{NDS_i}{T_i}$$

Where: NGS_i = Number of germinated seeds between count i and $i - 1$; NDS_i = Number of damaged seeds between count i and $i - 1$; T_i = Number of days after sowing at count i ; n = number of counts performed

The *Fusarium* incidence (INC) in the seed was obtained with the formula:

$$INC = \frac{\text{Final number of damaged seedlings or seeds}}{\text{Number of seeds in the experimental unit}} \times 100$$

The area under the disease progress curve (AUC) was calculated with:

$$AUC = \sum_{i=1}^{n-1} \left[\frac{X_{i+1} + X_i}{2} \right]$$

Where: X_i = number of damaged seeds in count i ; X_{i+1} = number of damaged seeds in count $i + 1$; n = number of counts performed.

At 10 DAS, a sample of 5 seedlings per EU was obtained, and the average radicle length (RAL, in cm), stem length (SL, in cm), and total length (TL, in cm) were recorded. Total dry weight (DW, in mg) was obtained by drying the EU-generated material in an oven at 55 °C to constant, then using an analytical balance (OHAUS 310 g±0.1 mg, Discovery model).

Response of tomato genotypes to *F. oxysporum* during seedling stage

The test was conducted in a medium-tech, full-vent greenhouse with a 600-gauge plastic cover and 80 % light transmission, with vents covered with anti-aphid mesh, located at the UACH Experimental Agricultural Field (19°29'23.5"N 98°52'26.6"W and 2,267 masl).

The genotypes were sown in 2x2x2 cm agricultural sponge (Oasis®, Floral México). Twenty DAS, the roots of the seedlings were cut to a length of two centimeters and immersed in the solution containing the *F. oxysporum* inoculum for 24 hours. They were subsequently transplanted onto a floating raft system, using polystyrene plates in containers measuring 120x240x20 cm and with a capacity of 450 liters. A density of 166 plants·m² was used. The nutrient solution used was Cadahia (2000) for tomato.

The experimental unit (EU) consisted of five seedlings. A randomized complete block experimental design was used. Four replicates were used for inoculated seedlings, and two for controls.

The traits evaluated were:

Final plant height (PH, in cm). Average of three EU plants, measured 9 days after inoculation (DAI).

At 10 DAI, digital photographs with known scales were obtained. They were subsequently processed using the ImageJ package (Schneider et al., 2012) to obtain root length (RL, in cm) and leaf area (LA in cm²).

The accumulated dry matter of roots (RDW, in g) and of the aerial part (ADW, in g) was determined. To do this, the structures were separated and placed in a forced-air dryer at 55°C for 5 days, and weights were obtained using an OHAUS analytical balance (310 g ± 0.1 mg, Discovery model).

The seedling height growth rate (GR, in cm·d⁻¹) was obtained from four measurements (0, 3, 6, and 9 DAI) and regressions using the exponential model in each EU.

Statistical analysis

The same analyses were performed at both the germination and seedling stages. To eliminate the effects of genotypes due to differences in their development, indices were obtained by dividing the response obtained for the variable recorded against *F. oxysporum* in each EU by the average response obtained in the absence of the disease (control) of the corresponding genotype.

With the indices, a cluster analysis was performed using Gower's distances (1967) and Ward's minimum variance algorithm. The cutoff height was determined using Hotelling's (1951) pseudo- t^2 and the pseudo-F (Johnson, 2000). To corroborate these groupings and verify the importance of the indices in forming groups, a discriminant analysis was applied along with resubstitution tests (Johnson, 2000).

Analyses of variance and Tukey's mean comparisons of the indices were performed, considering the identified groups and the genotypes nested within groups as sources of variance. Finally, Pearson correlations were calculated within each test and overall.

The analyses were performed using the SAS® Studio statistical package with the CLUSTER, DISCRIM, GLM and CORR procedures.

Results and discussion

Morphological and molecular characterization of *F. oxysporum*

The isolate showed white and purple-violet mycelial growth on PDA medium and in germination tests (Figures 1A and 1B). Macroconidia were falcate, of short to medium length (25.7 to 32.1 long by 2.3 to 4.2 μm wide), thin-walled, triceptate, and with a short, slightly hooked apical cell and a pointed foot (Figure 1D). Microconidia were abundant in false heads on short monophialides (Figure 1C), with dimensions between 3.3 and 12.2 μm and length between 3.3 and 4.2 μm wide, without septa, generally elliptical, although oval ones were present (Figure 1E). Chlamydospores were formed singly or in pairs, with a terminal or intercalary shape and either smooth or rough walls (Figure 1F). All characteristics matched those reported by Leslie and Summerell (2006) for *F. oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder and Hansen.

Molecular identification of the strain by sequencing the internal transcribed spacer (ITS) showed 100 % similarity with the *F. oxysporum* sequence deposited at NCBI, which was consistent with the results of the morphological characterization. The obtained sequence was registered in the NCBI database under accession key PQ187438.

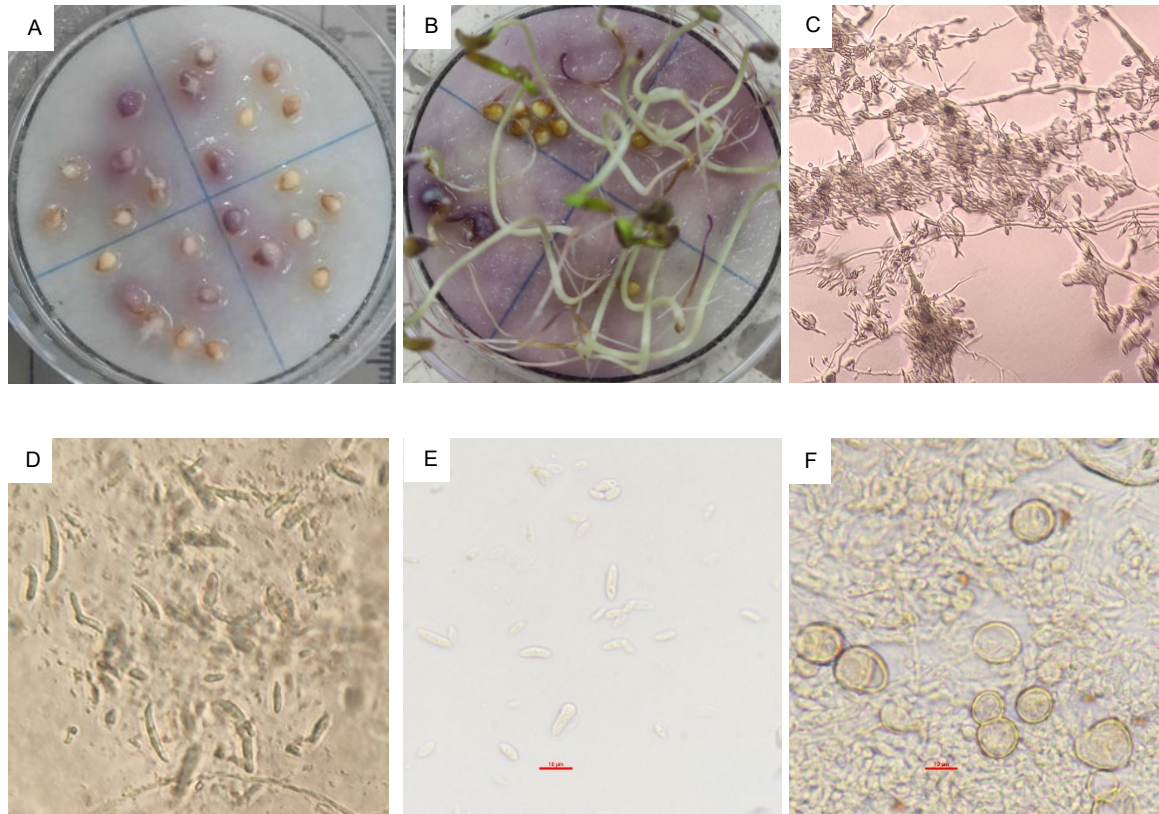


Figure 1. Colony morphology and asexual reproduction structures of *Fusarium oxysporum* (Schlechtendahl emend. Snyder and Hansen) of GenBank accession strain PQ187438. A) Seeds inoculated with *Fusarium oxysporum* at 9 DAI; B) Seedlings damaged by *Fusarium oxysporum* at 10 DAI; C) Microconidia, mycelium and phialides; D) Macroconidia and microconidia; E) Microconidia; F) Chlamydospores.

Response of tomato genotypes to *F. oxysporum* during germination

At germination, three days after inoculation, lesions caused by *F. oxysporum* appeared on the seed, root and stem, with white and purple mycelial growth. New *Fusarium* colonies were obtained from the inoculated specimens, which had the same morphological characteristics as those originally inoculated, thus corroborating Koch's postulates.

Cluster analysis using Gower's (1967) distances and Ward's minimum variance algorithm (dendrogram not shown) formed 4 groups at a semipartial R^2 cutoff height of 0.055,

determined using Hotelling's (1951) pseudo- t^2 and pseudo-F (Johnson, 2000). The groups consisted of 52, 14, 10 and 20 genotypes.

Linear discriminant analysis verified the classification obtained by cluster analysis using two discriminant variables, DV1 and DV2, with eigenvalues of 5.1 and 1.28, respectively, and explained variance of 77 % and 19 %, respectively, both significant ($p < 0.0001$). Together, DV1 and DV2 accounted for 96 % of the variance in the data.

The eigenvectors (Table 1) indicated that high DV1 values are associated with high expression of DRI, INC and AUC; that is, they identify susceptible genotypes, and vice versa. DV2 was positively associated with DW, RAL, SL and TL. Thus, high DV2 values identify genotypes with greater vigor, and vice versa. The resubstitution test showed that the assignments were correct for all genotypes.

Table 1. Eigenvectors of the discriminant variables (DV1 and DV2) generated from indices of 96 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes inoculated during the germination stage.

Variable	Eigenvectors		Classification functions	
	VD1	VD2	VD1	VD2
Germination (GER)	-0.547	0.245	-2.841	-4.683
Germination rate index (GRI)	-0.337	0.403	0.302	1.609
Damage Rate Index (DRI)	0.928	0.280	1.735	2.265
Incidence (INC)	0.815	0.120	0.005	-0.070
Area Under the Disease Progress Curve (AUC)	0.928	0.320	0.034	0.008
Dry weight (DW)	-0.587	0.641	-0.363	4.459
Stem length (SL)	-0.292	0.546	-0.098	-7.823
Radicle length (RAL)	-0.514	0.703	-0.383	-0.396
Total length (TL)	-0.532	0.675	-1.290	7.647

Figure 2 represents the genotypes based on DV1 and DV2. Group 2, with the greatest tolerance to *F. oxysporum*, is located in quadrant 2 with the lowest disease damage (lower INC, DRI and AUC) and greatest vigor (higher GRI, DW, RAL, SL and TL). Group 1 had intermediate tolerance, while groups 3 and 4 were susceptible to *F. oxysporum*.

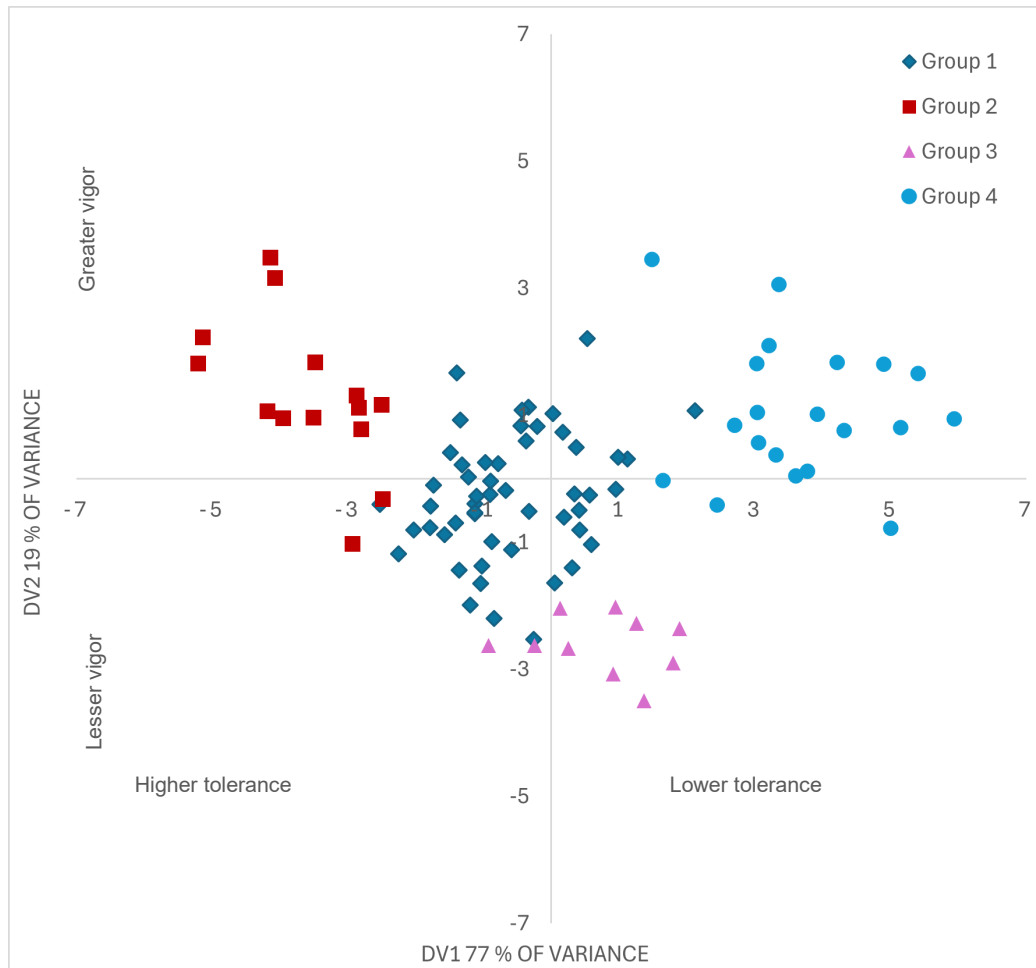


Figure 2. Representation of discriminant variables for 96 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes inoculated at germination with *Fusarium oxysporum*. DV1: discriminant variable 1, inversely associated with disease progress. DV2, discriminant variable 2, directly associated with seed vigor.

Once the groupings were determined, analyses of variance were performed on the tolerance indices, considering the identified groups and the genotypes nested within groups as factors of variation (data not shown). These analyses detected differences ($p \leq 0.01$) in the sources of variation of interest for all indices evaluated. The coefficients of variation were acceptable, with the exception of DW, RAL and TL, which were greater than 30 %, although it should be noted that this is a test in which the genotypes are subjected to high stress, which increases random variation.

The comparison of Group means (Table 2) was consistent with the results of the discriminant analysis, as they identified the same pattern of behavior as in Figure 2; that

is, Group 2 had the best performance against *F. oxysporum*, showing the greatest vigor, with higher expression of GER, GRI, DW, SL, RAL and TL ($p \leq 0.05$), and less impairment of DRI, INC and AUC ($p \leq 0.05$).

Table 2. Comparisons of means of phenotypic traits for the Group factor in germination tests against *Fusarium oxysporum*.

GRP	GER	GRI	DRI	INC	AUC	DW	SL	RAL	TL
1	0.939 b	0.795 b	2.23 b	60.8 b	44.7 b	0.731 b	0.740 ab	1.72 b	0.997 b
2	1.012 a	0.930 a	1.51 c	44.4 c	27.5 c	0.968 a	0.802 a	2.84 a	1.284 a
3	0.785 c	0.620 c	2.16 b	58.8 b	42.7 b	0.336 d	0.457 c	0.73 c	0.527 c
4	0.808 c	0.740 b	3.55 a	78.9 a	80.6 a	0.581 c	0.681 b	1.54 b	0.857 b
HSD	0.071	0.076	0.24	6.4	5.6	0.102	0.091	0.37	0.141

GRP: group; HSD: honestly significant difference (Tukey, $p \leq 0.05$); GER: germination; GRI: germination rate index; DRI: damage rate index; INC: incidence; AUC: area under the disease progress curve; DW: dry weight; SL: stem length; RAL: radicle length; TL: total length.

Groups 3 and 4 suffered the greatest effects of *F. oxysporum*, with decreased vigor (GER, GRI, SL, RAL and TL). Group 3 decreased, relative to the control, by 22 % in GER and 38 % in GRI ($p \leq 0.05$). In other crops, germination reductions ($P \leq 0.05$) have been observed in the presence of *Fusarium* sp.; for example, in onion (*Allium cepa* L.) they ranged from 31 to 60 % (Dabire et al., 2021) and in sesame (*Sesamum indicum* L.) from 16.5 to 40 % (Nayyar et al., 2018).

In the case of variables associated with vigor, the decreases observed in tomato in SL, RAL and DW ($p \leq 0.05$) coincide with those of oats (*Avena sativa*) against *F. sibiricum* (Chen et al., 2024) and in corn (*Zea mays* L.) against *F. verticillioides*, which decreased germination percentage, plant height and number of leaves (Yasir & Nasruddin, 2023). The attack of *F. oxysporum* in tomato seeds caused symptoms characteristic of phytopathogenic fungi and common to those observed in various crops, diminishing seed germination and vigor.

Since research such as that by Wang et al. (2022) and Ghosal & Datta (2024) indicates that germination damage caused by *Fusarium* is due to the alteration of protein, fiber and starch contents in the cotyledons, caused by toxic enzymes that degrade the extracellular wall (cellulase, polygalacturonase, and pectin lyase, among others), it is recommended

that the activity of these enzymes be verified in Group 2. In addition, it would be expected that the tolerance of genotypes in this group could be associated with the high production of enzymatic antioxidants such as phenylalanine ammonium lyase and lipoxygenase, which are involved in physiological, biochemical and defensive processes, as in the case of wheat (Khaledi et al., 2023).

Root growth of *F. oxysporum*-tolerant genotypes at germination (Table 2) was more than double that of the control ($P \leq 0.05$); this behavior was detected as a tolerance mechanism in rice (*Oryza sativa* L.) against several *Fusarium* spp. species (Chhabra et al., 2022) and in tomato against *Ralstonia* (Meline et al., 2023). This is why Meline et al. (2023) propose root length as a biomarker of fungal tolerance, which is consistent with the results obtained in this research.

This group reacted to *Fusarium* with high root growth and proliferation levels, generating new xylem vessels that are the primary components of coordinated multiple resistance (CMR) to pathogen attack (Gorshkov & Tsers, 2022). Other essential components of CMR include the production of phytoalexins, which are toxic to fungi (Liu et al., 2024), and the abundant production of tyloses, which clog xylem vessels and restrict the spread of the pathogen within the plant by trapping conidia and mycelium (Srinivas et al., 2019). This set of traits should also be assessed in the case of tomato to verify their functionality as tolerance mechanisms.

Comparisons of genotype means within each group (data not shown) exhibited small variations; that is, the degree of tolerance or susceptibility was similar within each group, because the clustering and discriminant analyses achieved their purpose of classifying individuals. Therefore, the genotypes in Group 2 can be considered to have the same degree of tolerance, although it is necessary to verify which of the tolerance mechanisms are at work in each of the genotypes according to what was previously discussed.

Response of tomato genotypes to *F. oxysporum* during seedling stage

A quick way to assess the resistance of genotypes to disease-causing microorganisms is by exposing seedlings to high inoculum concentrations (Arunakumar & Gnanesh, 2023). The floating raft system used allowed us to evaluate the behavior of a large number of

genotypes in the presence of *F. oxysporum* and assess root development without causing damage to this structure. In contrast, evaluations of *Fusarium* spp. tolerance in soils or solid substrates impede the study of roots with high precision due to the loss of plant matter during root washing in tomato (Gayosso-Barragán et al., 2021).

In our evaluation, no lesions caused by *F. oxysporum* were observed in any of the genotypes, although seedling vigor was reduced ($P \leq 0.05$), a situation similar to that observed in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) (López et al., 2024). This was due to the short 10 DAI test period compared to the symptom onset periods for *F. oxysporum* at 16 DAI in tomato (Gayosso-Barragán et al., 2021), 14 DAI in *Passiflora maliformis* L. (Forero et al., 2015), and for *Fusarium* spp. at 15 and 50 DAI in garlic (Delgado-Ortiz et al., 2016). It is important to consider that *F. oxysporum* is a hemibiotrophic fungus that invades the vascular system without killing the plant until its infection cycles or environmental conditions change (Husaini et al., 2018; Ma et al., 2013); therefore, if disease symptoms are to be observed, the test should be prolonged.

The cluster analysis performed with Gower's (1967) distances and Ward's minimum variance algorithm with a semipartial R^2 cutoff height of 0.0621, determined using Hotelling's (1951) pseudo- t^2 and pseudo-F (Johnson, 2000), defined 4 groups consisting of 9, 14, 28 and 45 genotypes. Using these tools, the definition of genotype groups based on tolerance to *F. oxysporum* has been possible in species such as passionflower (Patiño-Pacheco & Pérez-Cardona, 2021).

The classification of the cluster analysis was verified using linear discriminant analysis, where two discriminant variables (DV1 and DV2) had eigenvalues of 3.1 and 1.08, respectively, and explained variance of 68 % and 23 %, respectively; together, they explained 91 % of the variance ($p < 0.0001$). The eigenvectors (Table 3) indicated that DV1 was positively associated with ADW, RDW, RL and LA; on the other hand, DV2 was positively associated with PH; that is, high values in DV1 and DV2 identify genotypes with greater tolerance, and vice versa.

Table 3. Eigenvectors of the first two discriminant functions (DV1) and (DV2), generated from indices of 96 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes during the seedling stage, inoculated with *Fusarium oxysporum*.

Variable	Eigenvectors		Classification functions	
	DV1	DV2	DV1	DV2
Plant height (PH)	-0.071	0.907	-2.689	10.848
Aerial dry weight (ADW)	0.737	0.559	0.057	2.161
Root dry weight (RDW)	0.883	0.211	2.183	0.434
Root length (RL)	0.777	-0.147	7.096	-4.512
Leaf area (LA)	0.870	0.278	3.804	-1.556
Growth rate (GR)	-0.446	0.395	-0.965	-0.898

The resubstitution test (Johnson, 2000) reassigned only two genotypes to the groups. The representation of genotypes based on DV1 and DV2 (Figure 3) places the genotypes of Group 4 with the greatest tolerance to *F. oxysporum* in quadrant 1, obtaining greater PH, ADW, RDM, RL and LA; that is, greater seedling development in the presence of the disease. Group 1 had intermediate tolerance, while Groups 2 and 3 were considered susceptible.

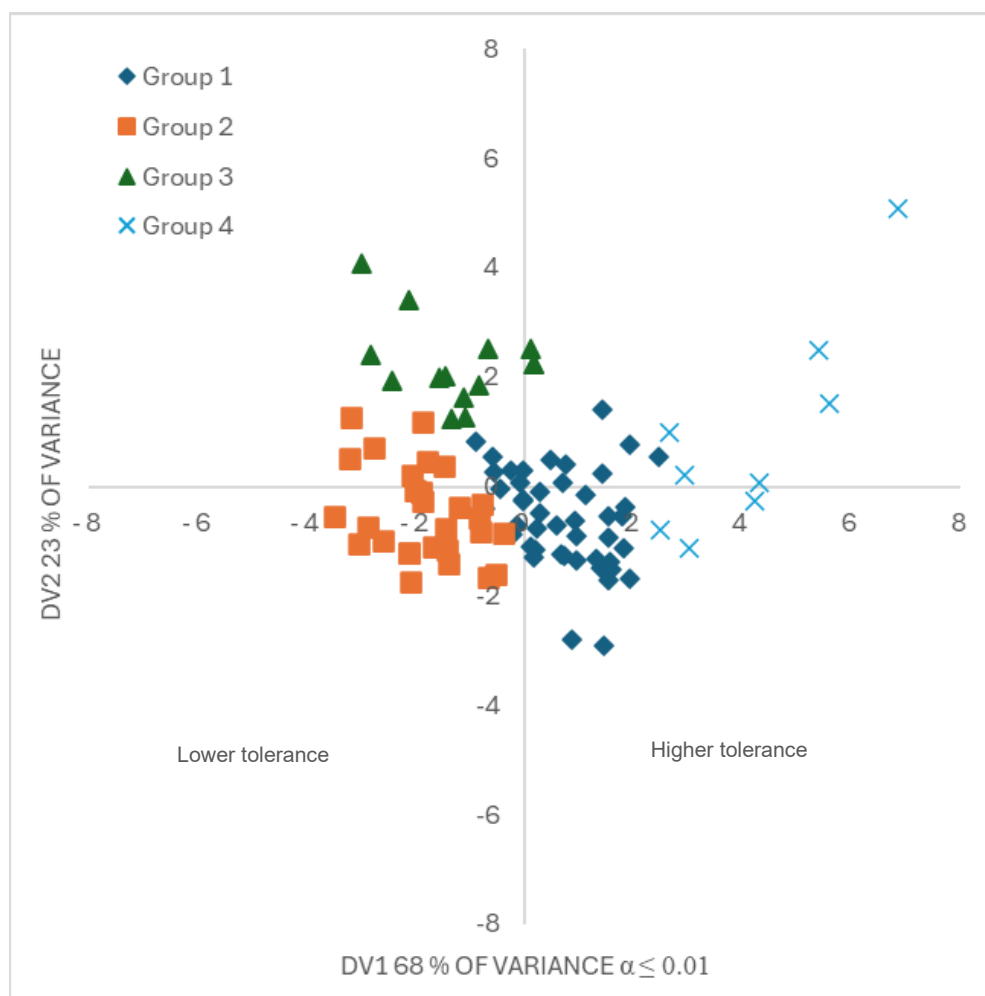


Figure 3. Graphical representation of discriminant variables of 96 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes inoculated in seedlings with *Fusarium oxysporum*. DV1: discriminant variable 1; high values indicate greater plant vigor and less disease damage, and vice versa; DV2, discriminant variable 2; high values indicate genotypes with greater seedling height and aerial dry weight.

Analyses of variance (ANOVAs), which considered groups and genotypes nested within groups as sources of variation (data not shown), detected differences ($p \leq 0.01$) in all sources of variation and traits evaluated; that is, the identified groups had different tolerances ($p \leq 0.01$). The coefficients of variation were acceptable, with values less than 20 %, except for RDW at 35 %.

Comparisons of group means (Table 4) indicate that Group 4 had the greatest tolerance to *F. oxysporum*, showing higher ADW, RDW, RL and LA. Group 2 was the most susceptible, with the lowest development of PH, ADW, RDW, RL and LA, while Groups 1 and 3 were moderately affected by *F. oxysporum*. Research on wheat exposed to four isolates of *F. graminearum* showed a 39 % decrease in seedling height (Semagn et al., 2023), whereas celery exposed to *F. oxysporum* resulted in a 58 % decrease in both seedling height and dry weight (Lori et al., 2016).

Table 4. Comparisons of means of genotype groups against *Fusarium oxysporum* at seedling stage.

GRP	PH	ADW	RDW	RL	LA	GR
1	0.834 c	1.222 c	1.000 b	0.996 b	0.912 b	0.917 c
2	0.817 c	0.978 d	0.668 d	0.848 c	0.710 c	0.971 b
3	1.031 a	1.343 b	0.823 c	0.887 c	0.853 b	1.022 a
4	0.878 b	1.873 a	1.825 a	1.045 a	1.271 a	0.901 c
HSD	0.042	0.106	0.149	0.048	0.074	0.039

GRP: group; HSD: honestly significant difference (Tukey, $p \leq 0.05$); PH: plant height; ADW: aerial dry weight; RDW: root dry weight; RL: root length; LA: leaf area; GR: growth rate.

Genotypes belonging to a specific group exhibited similar behavior ($p \leq 0.05$), as verified by comparisons of means (data not shown).

At the seedling stage, correlations between variables indicated that significant associations ($p \leq 0.01$) occurred with ADW, RDW and LA, with values ranging from 0.6 to 0.8. In the germination test, associations were found between GER and GRI, DRI and AUC, and between SL and RL with ADW and RDW, with values ranging from 0.7 to 0.9.

The rest of the values did not represent significant associations. Correlations between variables in the two tests did not detect significant associations.

The fact that no genotypes with tolerance to *F. oxysporum* were identified at both germination and seedling stages (Table 5) suggests the presence of different genetic tolerance mechanisms, whose expression process is dynamic and affected by various factors such as the phenological stage, the environment, and the pathogen. This situation is similar to that observed in onion (*Allium cepa*) seedlings and bulbs infected with *Fusarium*, where the expression of resistance genes, identified with quantitative PCR, is not the same in the two phenological stages (Le et al., 2022).

In the present study, *F. oxysporum* damage was more severe during germination than in the seedling stage, where no damage symptoms were observed, although RL, SL and TL were reduced. This situation is similar to that observed in cape gooseberry inoculated with *Fusarium* spp. during germination and seedling development (López et al., 2024). This implies that the fungus exhibits different levels of severity depending on the phenological stage of the host (Chang et al., 2020), since, for example, the thickness of root cell walls depends on the phenological stage, as lignification increases the capacity to act as a structural defense in plants with greater development (Husaini et al., 2018).

Table 5. Composition of tomato genotypes within the groups resulting from the dendrogram and discriminant analysis in germination and seedling inoculated with *Fusarium oxysporum*.

		Germination			
		Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Seedling	Group1	L13, L21, L23, L3, L34, L36, L37, L46, L47S2, L51-H, L54, L6, L68, L69, L7, L71, L78, L88, L91, L92D, RF41, RF46 RF81	L5, L29, L30, L63 and L65	L22, L41, L62, L72, RF38	L10, L19, L27, L43, L4-3, L51, L52, L59, L60, L75, L80, MERM
	Group 2	IMP, L11-4, L14, L31, L35, L40, L47SINV, L49, L56, L58, L86, L9, RF69	L32, L39, L48, L89, L90, SS5 TOP	L44, L47B1, RF1	L24, L28, L55, L57 and RF48
	Group 3	L12, L33, L4-1, L42, L47S8, L50, L66, L73, L8, RF12	L64, SS2	L18	L67

When identifying disease-tolerant genotypes, it is necessary to consider the plant-pathogen-environment interaction (Lamichhane et al., 2017). This is where the potential tolerances of the plant, the severity of the pathogen, the exposure time, and the amount of inoculum are all important, since the response of the pathogen corresponds to a specific environment, so it can modify its morphology, physiology, metabolism and spectrum of proteins and metabolites secreted to achieve infection (Michielse & Rep, 2009).

It is a fact that all the genotypes studied have the ability to defend themselves; however, there are differences in the ability to develop these defenses (Tabassum & Blilou, 2022). As a result, 12 tomato genotypes with underlying mechanisms of tolerance to *F. oxysporum* were identified during germination and 9 during seedling development. A challenge for the breeding of this species is to combine both complexes in a single variety in order to achieve long-term resistance to the disease; however, prolonged resistance has been repeatedly established as complex, demanding and challenging, because it involves traits governed by a high number of genes (Robinson, 2007). The traits studied in this research are quantitative, so they are associated with polygenic inheritance. The selection of this type of inheritance in breeding is a challenging and under-addressed problem in tomato (Robinson, 2007), which is why the introgression of major genes that confer resistance in already improved cultivars is preferred (Facundo-Angel et al., 2024). Despite this, the methodology used allows the identification of *Fusarium*-tolerant genotypes associated with extensive root development as a tolerance mechanism by providing new vascular vessels as an adaptation strategy that reduces the impact of the disease.

Accurate phenotypic evaluations of quantitative traits in the presence of diseases, such as those carried out in this study, are highly useful tools for associating genetic and phenotypic information, which is necessary for genomic selection (Tassone et al., 2022). Additionally, these evaluations are suitable for short periods and with a large number of genotypes.

Conclusions

Tolerance to *F. oxysporum* at the germination stage and during seedling development is controlled by different sets of genes, as no tolerant genotypes were identified at both phenological stages.

Tests conducted on 96 genotypes allowed for a thorough and short-term assessment of the variation in tolerance to *F. oxysporum*. Thus, 14 tolerant genotypes were identified during germination and 9 at the seedling stage, which will serve as germplasm for tomato breeding.

References

- Arunakumar, G. S., & Gnanesh, B. N. (2023). Evaluation of artificial inoculation methods to determine resistance reaction to dry root rot and black root rot disease in mulberry (*Morus* spp.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 56(1), 49-65. <https://doi.org/10.1080/03235408.2023.2170692>
- Bawa, I. (2016). Management strategies of *Fusarium* wilt disease of tomato incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) A Review. *Int. J. Adv. Acad. Res*, 2(5), 31-42. <https://www.ijaar.org/articles/volume2-number5/Sciences-Technology-Engineering/ijaar-ste-v2n5-may16-p5.pdf>
- Cadahia López, C. (2000). *Fertirrigacion: cultivos hortícolas y ornamentales*. Ediciones Mundi-prensa.
- Chang, X., Li, H., Naeem, M., Wu, X., Yong, T., Song, C., Liu, T., Chen, W., & Yang, W. (2020). Diversity of the Seedborne Fungi and Pathogenicity of *Fusarium* Species Associated with Intercropped Soybean. *Pathogens*, 9(7), Article 531. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070531>
- Chen, H., White, J. F., Malik, K., & Li, C. (2024). Molecular assessment of oat head blight fungus, including a new genus and species in a family of Nectriaceae. *International journal of food microbiology*, 417, Article 110715. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110715>
- Chhabra, R., Kaur, N., & Bala, A. (2022). Differential biochemical response of basmati and non-basmati rice seeds upon bakanae (*Fusarium fujikuroi*) infection. *Vegetos*, 36(2), 516-525 <https://doi.org/10.1007/s42535-022-00411-5>

- Chitwood-Brown, J., Vallad, G. E., Lee, T. G., & Hutton, S. F. (2021). Breeding for resistance to *Fusarium* wilt of tomato: A review. *Genes*, 12(11), Article 1673. <https://doi.org/10.3390/genes12111673>
- Dabire, T. G., Neya, B. F., Somda, I., & Legreve, A. (2021). Pathogenicity study of some seed-borne fungi of onion (*Allium cepa* L.) from Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(3), 1062-1072. 10.4314/ijbcs.v15i3.17
- Delgado-Ortiz, J. C., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna-Chávez, E., Beltrán-Beache, M., Rodríguez-Guerra, R., Aguirre-Uribe, L. A., & Vázquez-Martínez, O. (2016). Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. *Revista argentina de microbiología*, 48(3), 222-228. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.003>
- Driouich, A., Follet-Gueye, M. L., Vicré-Gibouin, M., & Hawes, M. (2013). Root border cells and secretions as critical elements in plant host defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 489-495. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.06.010>
- Facundo-Angel, P., Sahagún-Castellanos, J., Enrique Rodríguez-Pérez, J., & Gerardo Leyva-Mir, S. (2024). Molecular markers of pathogen resistance for assisted breeding of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 30(3), 21-33. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2024.02.003>
- Forero, R., Ortiz, E., De León, W., Gómez, J. C., & Hoyos-Carvajal, L. (2015). Análisis de la resistencia a *Fusarium oxysporum* plantas de *Passiflora maliformis* L. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 9(2), 197-208. <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2015v9i2.4174>
- Gallé, Á., Pelsöcz, A., Benyó, D., Podmaniczki, A., Szabó-Hevér, Á., Poór, P., Tóth, B., Horváth, E., Erdei, L., & Csiszár, J. (2022). Systemic response to *Fusarium graminearum* and culmorum inoculations: changes in detoxification of flag leaves in wheat. *Cereal Research Communications*, 50(4), 1055–1063. <https://doi.org/10.1007/s42976-022-00272-3>
- Gayosso-Barragán, O., López-Benítez, A., Marroquín-Morales, J. Á., López-Aguilar, K., Hidalgo-Ramos, D. M., & Chávez-Aguilar, G. (2021). Evaluación de la respuesta de diferentes genotipos de tomate a *Fusarium oxysporum* raza 3. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(3), 409-420. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i3.2284>
- Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., & Kononowicz, A. K. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120, 881-902. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0664-4>
- Ghosal, D., & Datta, B. (2024). Characterization, phylogenetic analysis and toxigenic potential of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolates associated with root rot disease in vegetables. *Journal of Phytopathology*, 172(4), Article e13362. <https://doi.org/10.1111/jph.13362>
- Ghosh, S., Malukani, K. K., Chandan, R. K., Sonti, R. V., & Jha, G. (2019). How plants respond to pathogen attack: Interaction and communication. *Sensory biology of plants*, 537-568. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8922-1_20

- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annual review of phytopathology*, 55(1), 23-39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
- Gorshkov, V., & Tsers, I. (2022). Plant susceptible responses: the underestimated side of plant–pathogen interactions. *Biological Reviews*, 97(1), 45-66. Doi: 10.1111/brv.12789
- Gower, J. C. (1967). A Comparison of Some Methods of Cluster Analysis. *Biometrics*, 23(4), Article 623. <https://doi.org/10.2307/2528417>
- Hotelling, H. (1951). A generalized T test and measure of multivariate dispersion. *Proceedings of the second Berkeley symposium on mathematical statistics and probability*, 1, 23-41. <https://doi.org/10.1525/9780520411586-004>
- Husaini, A. M., Sakina, A., & Cambay, S. R. (2018). Host–pathogen interaction in *Fusarium oxysporum* infections: where do we stand? *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(9), 889–898. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-17-0302-CR>
- Isaac, M. R., Leyva-Mir, S. G., Sahagun-Castellanos, J., Camara-Correia, K., Tovar-Pedraza, J. M., & Rodriguez-Perez, J. E. (2018). Occurrence, identification, and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with tomato wilt in Mexico. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(2), 484-493. <https://doi.org/10.15835/nbha46211095>
- Johnson, D. E. (2000). *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos*. Thompson Editores.
- Kalman, B., Abraham, D., Graph, S., Perl-Treves, R., Meller Harel, Y., & Degani, O. (2020). Isolation and identification of *Fusarium* spp., the causal agents of onion (*Allium cepa*) basal rot in northeastern Israel. *Biology*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/biology9040069>
- Kamil, D., Toppo, R. S., Devi, T. P., & Kumari, A. (2020). Diversity of seed-borne fungal Phytopathogens. *Seed-Borne Diseases of Agricultural Crops: Detection, Diagnosis & Management*, 293-306. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9046-4_12
- Khaledi, N., Zare, L., Hassani, F., & Moslemkhani, C. (2023). Current status of seed-borne *Fusarium* of wheat in Iran and its effect involved in seedling resistance and biochemical indicators. *Indian Phytopathology*, 76(3), 689–700. <https://doi.org/10.1007/s42360-023-00640-x>
- Knapp, S., & Peralta, I. E. (2016). The tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) and its botanical relatives. *The tomato genome*, 7-21. https://doi.org/10.1007/978-3-662-53389-5_2
- Lamichhane, J. R., Dürr, C., Schwanck, A. A., Robin, M.-H., Sarthou, J.-P., Cellier, V., Messéan, A., & Aubertot, J.-N. (2017). Integrated management of damping-off diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37, 1-25. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0417-y>

- Le, D., Ameye, M., Landschoot, S., Audenaert, K., & Haesaert, G. (2022). Phenology-regulated defence mechanisms as drivers for *Fusarium* basal rot in onion (*Allium cepa*). *Plant Pathology*, 71(6), 1440–1453. <https://doi.org/10.1111/ppa.13574>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2008). *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>
- Liu, Y., Esposto, D., Mahdi, L. K., Porzel, A., Stark, P., Hussain, H., Scherr-Henning, A., Isfort, S., Bathe, U., Acosta, I. F., Zuccaro, A., Balcke, G. U., & Tissier, A. (2024). Hordedane diterpenoid phytoalexins restrict *Fusarium graminearum* infection but enhance *Bipolaris sorokiniana* colonization of barley roots. *Molecular Plant*, 17(8), 1307–1327. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2024.07.006>
- López, M. M., Aristizabal, A. M. O., & Echeverri, V. M. O. (2024). Control biológico contra *Fusarium* sp. en plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.) a nivel de invernadero mediante aplicación combinada de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 15(2), 35-67. <https://doi.org/10.22490/21456453.6789>
- López-Zapata, S. P., García-Jaramillo, D. J., López, W. R., & Ceballos-Aguirre, N. (2021). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* interaction. A review. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 24(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n1.2021.1713>
- Lori, G. A., Malbran, I., Mourellos, C. A., & Wolcan, S. M. (2016). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* race 2 causing *Fusarium* yellows on celery in Argentina. *Plant Disease*, 100(5), 1020-1020. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-15-0977-PDN>
- Ma, L.-J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D. M., Manners, J. M., & Kazan, K. (2013). *Fusarium* pathogenomics. *Annual review of microbiology*, 67(1), 399-416. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650>
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2, 176–177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- Marín-Montes, I. M., Rodríguez-Pérez, J. E., Sahagún-Castellanos, J., Hernández-Ibáñez, L., & Velasco-García, Á. M. (2016). Morphological and molecular variation in 55 native tomato collections from Mexico. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 22(2), 117-132. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.03.008>
- McGovern, R. J. (2015). Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop protection*, 73, 78-92. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.021>
- Meline, V., Hendrich, C. G., Truchon, A. N., Caldwell, D., Hiles, R., Leuschen-Kohl, R., Tran, T., Mitra, R. M., Allen, C., & Iyer-Pascuzzi, A. S. (2023). Tomato deploys defence and growth simultaneously to resist bacterial wilt disease. *Plant, Cell & Environment*, 46(10), 3040–3058. <https://doi.org/10.1111/pce.14456>
- Michielse, C. B., & Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular plant pathology*, 10(3), Article 311. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00538.x>

- Nayyar, B. G., Woodward, S., Mur, L. A., Akram, A., Arshad, M., Naqvi, S. S., & Akhund, S. (2018). Identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds from the Punjab, Pakistan. *Physiological and molecular plant pathology*, 102, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.02.001>
- Patiño-Pacheco, M. J., & Pérez-Cardona, O. Y. (2021). Evaluación de la resistencia de genotipos de Passifloras a *Fusarium solani* f. sp. *passiflorae* en granadilla. *Entramado*, 17(2), 256-267. <https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.2.682>
- Ramírez-Ojeda, G., Rodríguez-Pérez, J. E., Rodríguez-Guzmán, E., Sahagún-Castellanos, J., Chávez-Servia, J. L., Peralta, I. E., & Barrera-Guzmán, L. Á. (2022). Distribution and climatic adaptation of wild tomato (*Solanum lycopersicum* L.) populations in Mexico. *Plants*, 11(15), Article 2007. <https://doi.org/10.3390/plants11152007>
- Rezk, A., Abhary, M., Akhkha, A. (2021). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Breeding Strategies for Biotic and Abiotic Stresses. In: Al-Khayri, J.M., Jain, S.M., Johnson, D.V. (eds) *Advances in Plant Breeding Strategies: Vegetable Crops*. Springer, *Fruits and Young Shoots* (363–405). https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-66961-4_10
- Robinson, R. A. (1996). *Return to resistance. Breeding Crops to Reduce Pesticide Dependence*. Agaches.
- Robles Yerena, L., Leyva Mir, S. G., Cruz Gómez, A., Camacho Tapia, M., Nieto Ángel, D., & Tovar Pedraza, J. M. (2016). *Fusarium oxysporum* Schldt. y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. causantes de la marchitez de plántulas de *Pinus* spp. en vivero. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 7(36), 25-36. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11322016000400025&script=sci_arttext
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Semagn, K., Henriquez, M. A., Iqbal, M., Brûlé-Babel, A. L., Strenzke, K., Ciechanowska, I., Navabi, A., N'Diaye, A., Pozniak, C., & Spaner, D. (2023). Identification of *Fusarium* head blight sources of resistance and associated QTLs in historical and modern Canadian spring wheat. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1190358. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1190358>
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., Kalagatur, N. K., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Tabassum, B., Abd_Allah, E. F., Chandra Nayaka, S., & Srivastava, R. K. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity—A review. *Saudi journal of biological sciences*, 26(7), 1315-1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>
- Tabassum, N., & Blilou, I. (2022). Cell-to-cell communication during plant-pathogen interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 35(2), 98-108. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-21-0221-CR>

- Tamburino, R., Sannino, L., Cafasso, D., Cantarella, C., Orrù, L., Cardi, T., Cozzolino, S., D'Agostino, N., & Scotti, N. (2020). Cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) suffered a severe cytoplasmic bottleneck during domestication: implications from chloroplast genomes. *Plants*, 9(11), Article 1443. <https://doi.org/10.3390/plants9111443>
- Tassone, M. R., Bagnaresi, P., Desiderio, F., Bassolino, L., Barchi, L., Florio, F. E., Sunseri, F., Sirangelo, T. M., Rotino, G. L., & Toppino, L. (2022). A genomic BSAsq approach for the characterization of QTLs underlying resistance to *Fusarium oxysporum* in Eggplant. *Cells*, 11(16), Article 2548. <https://doi.org/10.3390/cells11162548>
- Wang, J., Wei, X., Kamran, M., Chen, T., White, J. F., & Li, C. (2022). Quality and nutrition of oat seed as influenced by seed-borne fungal pathogens during storage. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129(2), 243-252. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00563-7>
- Yasir, A. M., & Nasruddin, A. (2023, June). The evaluation effect of *Fusarium verticillioides* on seed quality in new high-yielding maize varieties. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1192(1), Article 012028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1192/1/012028>

**3. TOLERANCIA DE LÍNEAS AVANZADAS DE *Solanum lycopersicum*
L. A *Rhizoctonia solani* DURANTE GERMINACIÓN Y PLÁNTULA**

TOLERANCIA DE LÍNEAS AVANZADAS DE *Solanum lycopersicum* L. A *Rhizoctonia solani* DURANTE GERMINACIÓN Y PLÁNTULA

Resumen

Los daños causados por *Rhizoctonia solani* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) reducen el rendimiento de fruto; una situación que se agrava debido a la ausencia de identificación de genes mayores de resistencia frente a este patógeno. El objetivo de esta investigación fue evaluar características fenotípicas asociadas a la tolerancia a *Rhizoctonia solani* durante las etapas de germinación y plántula de 90 líneas de tomate, y detectar aquellas con mayor posibilidad de subsistir ante esta enfermedad para emplearlas como fuentes de resistencia en el mejoramiento genético, así como, desarrollar una estrategia de valoración de la tolerancia mediante pruebas en ambas etapas. La prueba de germinación se realizó durante 10 días en cámara de germinación en oscuridad constante en los primeros 3 días y con luz artificial los siguientes 7 días, con temperatura de $28\pm^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $70\pm 5\%$. Veinticuatro genotipos tuvieron mayor tolerancia a *Rhizoctonia* en germinación al mostrar menor invasión del patógeno y mayor vigor ($\alpha\leq 0.05$). En estado de plántula, la evaluación se realizó durante 10 días en un sistema de balsa flotante, con densidad de $166\text{ plantas}\cdot\text{m}^{-2}$. En esta etapa, 17 genotipos tolerantes tuvieron mayor área foliar y acumulación de biomasa en parte aérea y raíz ($\alpha\leq 0.05$). Las líneas L12, L13 y RF38 fueron tolerantes a *Rhizoctonia* en ambas etapas fenológicas, por lo que podrían usarse para el mejoramiento genético en tomate; además, las pruebas desarrolladas permitieron evaluar alto número de genotipos e identificar los tolerantes en forma eficiente.

Palabras clave: Tolerancia a enfermedades, mejoramiento genético, marchitez, “damping-off”, tomate, jitomate.

Artículo sometido a la Revista Chapingo Serie Horticultura

Estatus: Enviada

Autores: Ana Elizabeth Paredes-Cervantes, Jaime Sahagún-Castellanos, Juan Enrique Rodríguez-Pérez, Santos Gerardo Leyva-Mir, Martha Hernández-Rodríguez, Alma Aurora Deanda-Tovar, Leticia Robles-Yerena

Introducción

Solanum lycopersicum es de gran relevancia dentro de los cultivos hortícolas, ya que en 2023 su superficie cultivada alcanzó los 5.4 millones de hectáreas a nivel mundial (FAOSTAT, 2024). Sin embargo, ante el cambio climático, se proyecta que en 2050 el rendimiento unitario de tomate disminuya 6 % debido al aumento de la temperatura del aire, lo que promoverá la presencia de microorganismos patógenos, especialmente hongos (Cammarano et al., 2022). Estas cifras destacan la necesidad de enfrentar los desafíos asociados a la producción de esta hortaliza, ya que ante su gran difusión está en constante exposición a agentes bióticos y abióticos adversos que ocasionan pérdidas significativas de la producción (Lata et al., 2024).

El uso de invernaderos en la producción de tomate es una tecnología eficaz para incrementar rendimientos y minimizar la presencia de plagas y enfermedades en el cultivo; sin embargo, ante el carácter microscópico de los hongos fitopatógenos es difícil impedir su entrada a invernaderos mediante barreras físicas, por lo que su control puede elevar significativamente los costos de producción (Gatahi, 2020).

Debido al mejoramiento genético intensivo en las variedades comerciales, la diversidad en el cultivo ha disminuido fuertemente; y con ello, la capacidad de identificar variantes con tolerancia a enfermedades inducidas por hongos, bacterias, fitoplasmas, virus y viroides (Panno et al., 2021). Entre las enfermedades provocadas por hongos, destaca aquellas que afectan el sistema radicular del tomate; entre las más frecuentes se encuentra *Fusarium*, *Pythium* y *Rhizoctonia* (Ma et al., 2023).

Rhizoctonia solani Kühn (teleomorfo = *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk), es un hongo de distribución mundial que reduce el rendimiento en cultivos de importancia económica como cereales, forrajes y hortalizas, dentro de las cuales está incluido el tomate (Abbas et al., 2024). Este patógeno tiene gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales y preexiste en el suelo durante largo tiempo sin necesidad de un hospedero en forma de esclerocios compuestos principalmente por masas compactas de células monilioides o hifas indiferenciadas (Nasimi et al.,

2024). Además, al completar su ciclo de vida tras la muerte de su hospedero, dificulta en gran medida su erradicación (Akber & Fang, 2024; Li et al., 2019).

R. solani causa daños severos en tomate en diferentes etapas fenológicas. En semilla y plántula provoca el "damping-off" (Raihan et al., 2024) y en planta adulta provoca el tizón foliar (Bartz et al., 2010). En semilla causa podredumbre y disminuye la germinación. En plántula y planta adulta pudre la base del tallo y raíz, genera lesiones necróticas en hojas, amarillamiento de hojas, crecimiento micelial en las superficies foliares abaxiales, retrasa el crecimiento y puede causar marchitez total (Bartz et al., 2010; Melzer et al., 2016; Pourmahdi & Taheri, 2015).

La gran diversidad genética de *R. solani* es representada por 14 grupos de anastomosis (AG), distinguibles por sus características bioquímicas, patogénicas, especificidad de hospedero, morfología y virulencia (Melzer et al., 2016; Li et al., 2019). Esta variabilidad complica el manejo de la enfermedad, ya que un solo grupo puede infectar a múltiples hospederos y adaptarse a diferentes condiciones ambientales (Melzer et al., 2016). Los grupos AG2, AG3 y AG4 atacan al tomate, siendo AG3 el más agresivo y ampliamente distribuido en las principales zonas productoras de tomate en el mundo (Bartz et al., 2010; Gondal et al., 2019; Ortega-Acosta et al., 2022; Pourmahdi & Taheri, 2015).

Las prácticas agronómicas, el uso de fungicidas, los agentes biológicos como hongos antagónicos o endófitos y bacterias promotoras del crecimiento e inductoras de resistencia, tienen eficacia parcial en el control de *R. solani* en tomate (Datta et al., 2021; Zhao et al., 2021); estas estrategias no siempre son sostenibles a largo plazo debido al desarrollo de resistencia del patógeno gracias a su alta variabilidad genética (Melzer et al., 2016). En este contexto, el mejoramiento genético se presenta como herramienta fundamental y sostenible (Nelson et al., 2018) y debido a que no se han identificado genes mayores que confieran resistencia completa en tomate a *R. solani*, se hace necesario la identificación de genotipos con resistencia parcial. Dentro de este enfoque se incluye la selección de portainjertos compatibles con cultivares comerciales que pueden conferir tolerancia a enfermedades de suelo y mejorar la productividad en condiciones adversas (Reeves et al., 2023)

El objetivo de la presente investigación fue asociar características fenotípicas de tomate a la tolerancia a *Rhizoctonia solani* durante germinación y plántula y detectar aquellas con mayor posibilidad de subsistir ante esta enfermedad para emplearlas como posibles fuentes de resistencia en mejoramiento genético; asimismo, desarrollar una estrategia de evaluación fenotípica de corta

duración, efectiva y precisa para la identificación de la tolerancia a *R. solani*, con posibilidad de aplicar a alto número de genotipos en forma simultánea.

Materiales y métodos

Genotipos evaluados

Se evaluaron 90 líneas homocigotas (F₁₂ a F₁₅) del proyecto de Mejoramiento Genético de Tomate de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), generadas a partir de poblaciones segregantes derivadas de cruas entre híbridos comerciales

Caracterización morfológica y molecular de *Rhizoctonia solani*

Se utilizó un aislamiento del Banco de Hongos Fitopatógenos del Departamento de Parasitología Agrícola de la UACH. La cepa fue reactivada en medio PDA (200 g de papa, 15 g dextrosa, 20 g agar-agar en 1 L de agua destilada) y agar-agar con el método punta de hifa durante 30 días hasta rectificar su pureza y se transfirió en placas de PDA por 7 días a 25±2 °C. Después, se preparó una solución de micelio con agua estéril, obtenida al licuar 10 placas de Petri por litro de agua y 5 gotas de Tween 20 hasta obtener 200 litros de inóculo para la prueba en plántula y un litro para la prueba en germinación. La concentración de la suspensión empleada fue 322 x10³ a 35 x10⁴ esporas·ml⁻¹ de *R. solani*, medida con hematocitómetro.

Prueba de tolerancia de líneas de tomate a *Rhizoctonia solani* durante germinación

El experimento se estableció en cámara germinadora (Lab-Tech Inc.®, modelo D-7140) con 70±5 % de humedad relativa y temperatura de 28±2 °C. Las semillas fueron mantenidas en obscuridad los primeros 3 días y 7 días posteriores con luz artificial.

La unidad experimental (UE) fue una caja de Petri de 5 cm de diámetro con papel filtro con 25 semillas. Se usó un diseño experimental de bloques completos al azar con 4 repeticiones. En el tratamiento con inoculación se agregó 2 ml de la solución de inóculo (322x10³ a 35x10⁴ esporas·ml⁻¹) en la UE; en tanto que a las UE del testigo se agregó 2 ml de agua destilada; la UE se regó con 0.5 ml de agua destilada estéril en los días 3, 6 y 9 DDS.

Durante 10 días se registró el número de semillas dañadas por *R. solani* (NSD_i) y el número de semillas germinadas (NSG_i) y se obtuvo el porcentaje de germinación (PG).

Se calculó el índice de velocidad de daño (*IVD*):

$$IVD = \sum_{i=1}^n \frac{NSD_i}{T_i}$$

Y el índice de velocidad de germinación (*IVG*) de Maguire (1962):

$$IVG = \sum_{i=1}^n \frac{NSG_i}{T_i}$$

Donde: NSD_i = Número de semillas dañadas entre el recuento i e $i-1$; NSG_i = Número de semillas germinadas entre el recuento i e $i-1$; T_i = Número de días después de la siembra en el recuento i ; n = número de conteos realizados.

El área bajo la curva del progreso de la enfermedad (*ABCPE*) se calculó con:

$$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} \left[\frac{X_{i+1} + X_i}{2} \right]$$

Donde: X_i = número de semillas dañadas en el conteo i ; X_{i+1} = número de semillas dañadas en el conteo $i-1$; n = número de conteos realizados.

La incidencia de *R. solani* (*IN*) en la semilla se obtuvo con la fórmula:

$$IN = \frac{\text{Número final de plántulas o semillas dañadas}}{\text{Número de semillas de la unidad experimental}} \times 100$$

A los 10 días después de la siembra (DDS) al considerar 5 plántulas de la UE se registraron los valores promedio de longitud de radícula (LRA, en cm), longitud de plúmula (LP, en cm) y longitud total (LTO, en cm). Además, se registró el peso seco total (PS, en mg) de la UE tras secar la biomasa generada en estufa a 55 °C durante tres días. Se usó una balanza analítica OHAUS (modelo Discovery, 310 g ± 0.1 mg).

Prueba de tolerancia de líneas de tomate a *R. solani* durante plántula

La prueba se realizó en invernadero tipo “full vent” de nivel tecnológico medio, con ventilaciones cubiertas con malla anti-áfidos, cubierta plástica calibre 600 y transmisión de luz de 80 %, ubicado en el Campo Experimental de la UACH (19°29'23.5"N 98°52'26.6"W y 2,267 msnm).

Las líneas fueron sembradas en esponja agrícola (Oasis®, Floral México) de 2×2×2 cm. Dieciocho días después de la siembra (DDS) se trasplantaron a un sistema de balsa flotante con placas de poliestireno en tinas con dimensiones de 120x240 cm, con capacidad de 450 litros de solución nutritiva y densidad de 166 plantas·m⁻². La solución nutritiva utilizada fue la propuesta por Cadahia (2005) para tomate.

La unidad experimental (UE) consistió en 5 plantas. El diseño experimental fue bloques completos al azar. En el testigo se realizaron dos repeticiones y ante la enfermedad se realizaron cuatro.

A los 23 DDS las plántulas se retiraron de la solución nutritiva durante tres horas, período en el cual la raíz se cortó dejando 2 cm de longitud debajo de la esponja. Posteriormente, fueron sumergidas en el inóculo durante tres horas. Finalmente, las plantas fueron reubicadas en las tinas con solución nutritiva. Diez días después de la inoculación (DDI), se finalizó la prueba y se evaluó:

Altura de planta final (APF, en cm) a partir del promedio de tres plantas de la UE.

Se obtuvieron fotografías digitales con presencia de escalas conocidas de la raíz y hojas. Posteriormente se obtuvo la longitud de raíz (LR, en cm) y el área foliar (AF en cm²) mediante el software ImageJ (Schneider et al., 2012).

Se determinó la materia seca acumulada de raíces (PSR, en g) y de la parte aérea (PSA, en g) mediante una secadora de aire forzado a 55 °C durante 5 días y balanza analítica marca OHAUS (310 g ± 0.1 mg, modelo Discovery).

La tasa de crecimiento de la altura de plántula (C, en cm·d⁻¹) se obtuvo a partir de 3 mediciones (0, 3 y 9 DDI) y regresiones con el modelo exponencial en cada UE.

Análisis estadístico

Debido a las diferencias en el desarrollo de las líneas, los efectos genotípicos se eliminaron mediante índices obtenidos al dividir la respuesta de la variable registrada ante *R. solani* de cada UE entre el promedio de la respuesta del testigo. Los índices se usaron para realizar análisis de agrupamiento con las distancias de Gower (1967) y el algoritmo de mínima varianza de Ward. Se determinó la altura de corte mediante la pseudo-t² de Hotelling (1951) y la pseudo-F (Johnson, 2000). Las agrupaciones fueron corroboradas mediante un análisis multivariado discriminante

lineal, junto con las pruebas de resustitución. La importancia de los índices en la conformación de grupos se verificó mediante los vectores propios de las variables discriminantes.

Se realizó análisis de varianza y comparaciones de medias de Tukey de índices al considerar como fuentes de variación a los grupos identificados y los genotipos anidados dentro de grupos. Por último, se realizaron correlaciones de Pearson entre las dos líneas de cada par de variables dentro de cada prueba y en conjunto. Los análisis se realizaron con el paquete SAS® Studio con los procedimientos CLUSTER, DISCRIM, GLM y CORR. Los mismos análisis se realizaron en las pruebas de germinación y plántula.

Resultados y discusión

Caracterización morfológica de *Rhizoctonia solani*

En el cultivo de PDA, el desarrollo micelial de *R. solani* mostró un color marrón (Figura 1A). Se observó: hifas con ramificaciones laterales en ángulo recto reducidas en la base, septos entre hifas principales y ramas laterales, células monilioides compuestas por células catenuladas desarrolladas acropetamente y esclerocios de color marrón con formas variadas (Figura 1B). Los resultados coinciden con Díaz-Nájera et al. (2014) y Lakshman et al. (2016) basado en la guía de identificación de Watanabe (2002) para *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk).

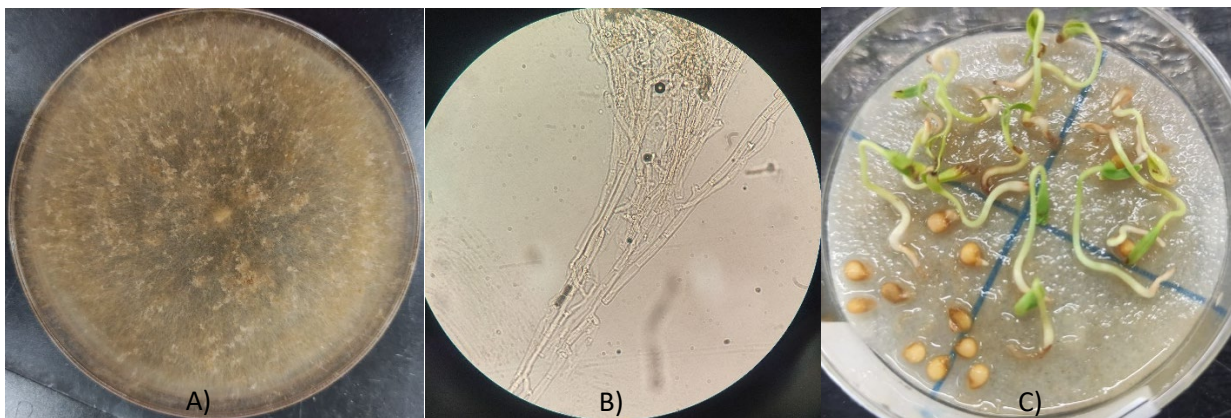


Figura 1. Morfología de *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorfo = *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) A: crecimiento de *R. solani* en medio PDA; B: preparación de *R. solani*; C; daño en semillas y plántula durante prueba de tolerancia de líneas de tomate a *R. solani* durante germinación.

Tolerancia de líneas de tomate a *Rhizoctonia solani* durante germinación

Los síntomas ocasionados durante germinación por *R. solani* ocurrieron desde los 4 días después de la inoculación (DDI): crecimiento de micelio sobre la semilla, ablandamiento de testa y necrosis pronunciada en la inserción de la plúmula y radícula y en los tejidos de estas estructuras (Figura C1), síntomas característicos de *R. solani* en tomate (Ajayi-Oyetunde et al., 2018).

El análisis de agrupamiento realizado con las distancias genéticas de Gower y el algoritmo de Ward indicó la conformación de 4 grupos con la altura de corte de 0.0486 de R^2 semiparcial determinada a partir de la pseudo- t^2 de Hotteling (1951) y la pseudo-F (Johnson, 2000). Los grupos se constituyeron por 42, 14, 24 y 10 genotipos, lo que indica la presencia de variabilidad en la tolerancia a *R. solani*.

La verificación de la clasificación se realizó mediante un análisis discriminante lineal; el cual, con dos variables discriminantes, VD1 y VD2, con valores propios de 6.58 y 1.06, y descripción de variación individual de 82 y 13% ($p < 0.0001$), respectivamente, describieron 95% de la variación total de los datos.

Los vectores propios (Cuadro 1) indican que VD1 se asoció en forma positiva con IVD, IN, ABCPE y en forma negativa con LP y LTO; así, valores bajos de VD1 identificaron genotipos más tolerantes a *R. solani*, y viceversa. La VD2 se asoció en forma positiva con IVG y PG; es decir, los valores altos de VD2 identificó genotipos con mayor vigor ante *R. solani*. La prueba de resustitución corroboró que las agrupaciones fueron correctas.

Cuadro 1. Vectores propios de las variables discriminantes (VD1 y VD2) generadas a partir de índices de 90 genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculados durante la etapa de germinación ante *Rhizoctonia solani*.

Variable	Vectores propios		Funciones de clasificación	
	VD1	VD2	VD1	VD2
Índice de velocidad de germinación (IVG)	0.293	0.735	3.111	-0.058

Porcentaje de germinación (PG)	0.133	0.846	-3.094	5.073
Índice de velocidad de daño (IVD)	0.920	0.349	-11.952	11.306
Incidencia (IN)	0.832	0.504	0.280	-0.184
Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)	0.961	0.072	0.323	-0.255
Peso seco (PS)	-0.497	0.286	0.115	-0.166
Longitud de plúmula (LP)	-0.789	0.398	-2.126	-2.814
Longitud de radícula (LRA)	-0.486	0.340	-0.834	-2.010
Longitud total (LTO)	-0.768	0.409	-1.365	7.441

La representación de VD1 y VD2 (Figura 2) ubicó a los genotipos con mayor tolerancia del grupo 3 en el cuadrante II, los cuales tuvieron menor daño (bajos valores de IVD, IN y ABCPE) y mayor vigor (altos valores de LP y LTO). El grupo 4 tuvo daños similares al Grupo 3, aunque con menor vigor. Los grupos 1 y 2 presentan mayor daño ocasionado por la enfermedad.

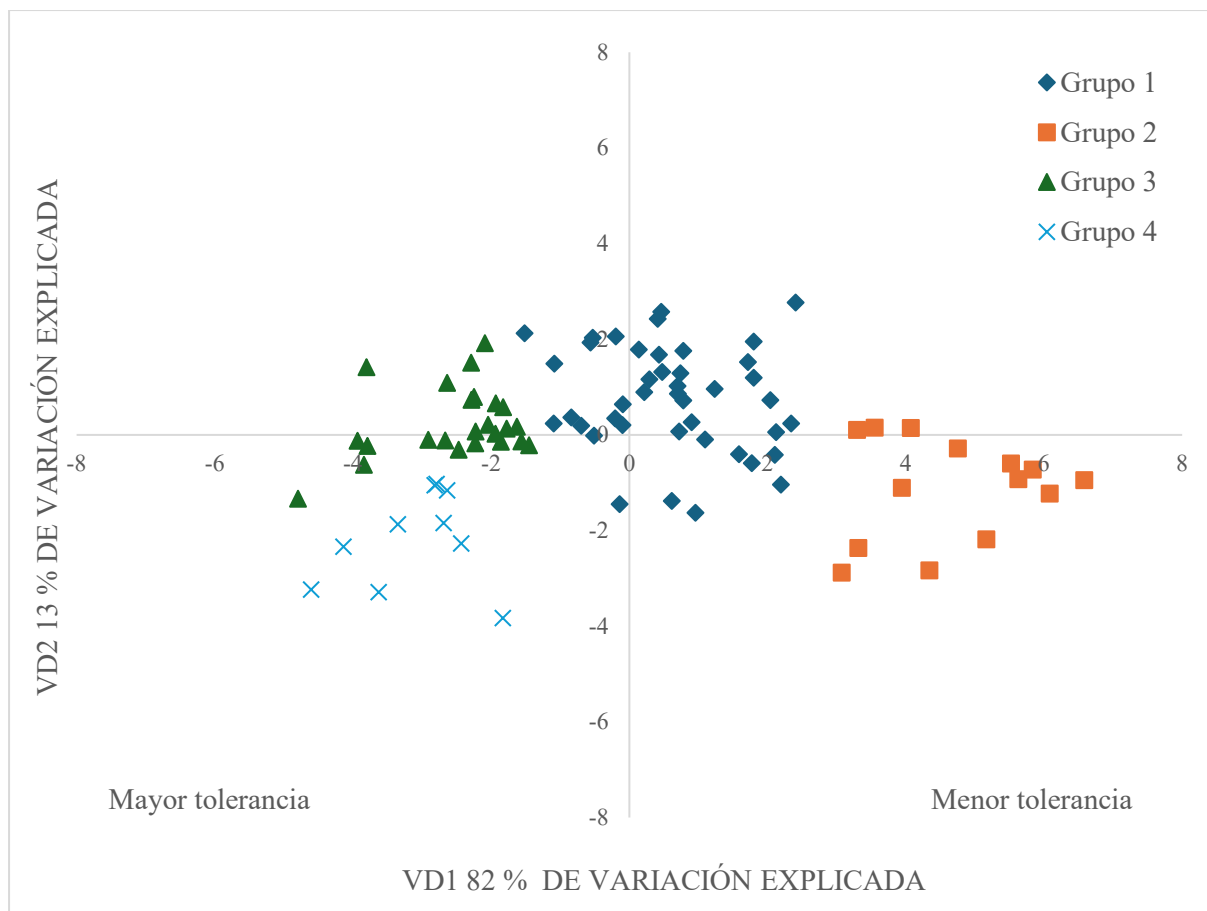


Figura 2. Representación de variables discriminantes de 90 genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculados en germinación con *Rhizoctonia solani*. VD1: variable discriminante 1, valores bajos representan genotipos tolerantes con menor daño de la enfermedad y mayor longitud, y viceversa; VD2: variable discriminante 2, valores altos identifican genotipos tolerantes con mayor porcentaje de germinación e índice de velocidad de germinación, y viceversa.

Los análisis de varianza de los índices de tolerancia, donde se consideraron como factores de variación los grupos y los genotipos anidados dentro de grupo (datos no mostrados), confirmaron diferencias ($\alpha \leq 0.01$) entre grupos. Los coeficientes de variación fueron aceptables en IVG, PG, IVD y INC, menores al 30 %; sin embargo, en ABCPE, PS, LP, LRA y LTO, la variación fue mayor debido al estrés provocado por la enfermedad.

La comparación de medias de Grupos (Cuadro 2) fueron consistentes con la caracterización realizada con el análisis discriminante, ya que el Grupo 3 tuvo la mayor tolerancia a *R. solani* al mostrar el mayor vigor durante la germinación (PG, PS, LP, LRA y LTO) ($\alpha \leq 0.05$), con menor

impacto de la enfermedad (promedios bajos en IVD, IN y ABCPE, $\alpha \leq 0.05$); y a pesar de no poseer la mayor tolerancia, desarrolló alto vigor en la germinación.

El Grupo 4 fue moderadamente tolerante al mostrar los menores IVD, IN y ABCPE ($\alpha \leq 0.05$) con mayor expresión de LP, LRA y LTO ($\alpha \leq 0.05$); aunque con el menor IVG y PG ($\alpha \leq 0.05$); es decir, tuvieron baja germinación, pero las plantas se desarrollaron bien ante *R. solani*. El Grupo 2 fue el más susceptible ($\alpha \leq 0.05$); en tanto que el Grupo 1 presentó daño intermedio.

El grupo 2 sufrió mayor patogenicidad de *R. solani* al incrementar con respecto al testigo 174 %, 78 % y 56 % el IVD, la INC y el ABCPE respectivamente, esto debido a que causó ablandamiento, pudrición, muerte de semillas y necrosis en radícula y plúmula (Lamichhane & Aubertot, 2021). Estos síntomas son consistentes con la respuesta de otros cultivos ante *R. solani*; por ejemplo, semillas de trigo con 96.1% de incidencia de la enfermedad (Lisiecki et al., 2022), 18 % más que lo obtenido en esta prueba. En soja (*Glycine max*) semillas inoculadas por *R. solani* redujeron 77 % la longitud de radícula (Lamichhane & Aubertot, 2021), similar al 84 % observado en esta investigación.

Cuadro 2. Comparaciones de medias de índices de caracteres fenotípicos para Grupos en la prueba de germinación ante *Rhizoctonia solani*.

Grupo	IVG		PG		IVD		IN		ABCPE		PS		LT		LRA		LTO	
1	0.808	a	0.888	a	2.119	b	68.476	b	34.161	b	0.449	b	0.500	b	0.367	a	0.461	b
2	0.739	b	0.795	b	2.742	a	78.857	a	56.714	a	0.305	c	0.181	c	0.161	b	0.174	c
3	0.732	b	0.874	a	1.191	c	42.042	c	14.807	c	0.597	a	0.624	a	0.376	a	0.547	a
4	0.519	c	0.590	c	0.674	d	22.700	d	9.338	d	0.443	b	0.549	ab	0.377	a	0.501	ab
DMSH	0.065		0.067		0.211		6.275		5.070		0.115		0.083		0.079		0.076	

DMSH: diferencia mínima significativa honesta (Tukey, $\alpha \leq 0.05$); IVG: índice de velocidad de germinación; PG: Porcentaje de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; IN: incidencia; ABCPE: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LT: longitud de tallo; LRA: longitud de radícula; LTO: longitud total.

La susceptibilidad o resistencia de los genotipos fueron homogéneas dentro de cada grupo (corroborado por las comparaciones de medias de genotipos dentro de grupos, datos no mostrados);

es decir, los genotipos que integran cada grupo poseen el mismo grado de tolerancia (o susceptibilidad) a *R. solani*; sin embargo, será necesario verificar si los mecanismos que confieren este comportamiento en etapa de germinación son los mismos.

Respuesta de líneas avanzadas de tomate durante etapa de plántula ante *Rhizoctonia solani*

Durante el desarrollo de plántulas inoculadas con *R. solani*, no se observaron síntomas visibles característicos de este patógeno como clorosis, necrosis en raíz y tallos (10 DDI). La disminución del vigor en plántulas inoculadas permitió la discriminación de genotipos tolerantes; ya que el vigor de las plántulas se considera un indicador clave para identificar genotipos tolerantes a *R. solani* en ausencia de síntomas visibles (Akber & Fang, 2024). En el sistema de balsa flotante, la alta densidad y por consecuencia la duración de la prueba impidió el desarrollo de síntomas visibles causados por *R. solani*, contrastado con otros estudios con duración de 20-21 DDI en donde se presentaron síntomas como pudrición basal de tallo y reducción de tamaño de plántulas de tomate a los 20-21 DDI (Gondal et al., 2019; Errifi et al., 2019). En este contexto, la metodología empleada permitió la selección de genotipos basándose en variables relacionadas con el vigor (APF, PSR, PSA, AF, LR y C). No obstante, para evaluar los síntomas característicos de la enfermedad y cuantificar de manera precisa la incidencia y severidad, será necesario realizar ajustes en la densidad empleada en el sistema de balsa flotante para incrementar la duración de la prueba.

El análisis de agrupamiento realizado mediante las distancias de Gower y el algoritmo de mínima varianza de Ward conformó 5 grupos con altura de corte de 0.0482 de R^2 semiparcial determinada a partir de la pseudo- t^2 de Hotteling (1951) y la pseudo-F (Johnson, 2000). Los grupos estuvieron constituidos por 19, 33, 9, 12 y 17 genotipos.

El análisis discriminante explicó 97 % de la variación total de datos mediante dos variables discriminantes, VD1 y VD2, con valores propios de 6.75 y 1.52 y variación explicada de 79 % y 18 %, respectivamente ($\alpha \leq 0.0001$).

El Cuadro 3 muestra los vectores propios de las variables discriminantes. VD1 se asoció en forma positiva con PSR, PSA y AF; en tanto que VD2 tuvo mayor asociación positiva con AP y C; así, valores altos en ambas variables discriminantes indican mayor vigor de la planta ante la presencia de *R. solani*.

Cuadro 3. Coeficientes de estructura canónica total de las dos primeras funciones canónicas VD1 y VD2 generadas a partir de índices de 90 genotipos experimentales de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) durante etapa de plántula inoculadas con *Rhizoctonia solani*.

Variable	Vectores propios		Funciones de clasificación	
	VD1	VD2	VD1	VD2
Altura de Planta (APF)	-0.053	0.910	-6.173	10.902
Peso seco de raíz (PSR)	0.770	-0.209	6.148	-4.710
Peso seco de parte aérea (PSA)	0.841	0.261	3.190	0.297
Área foliar (AF)	0.891	0.399	11.090	5.082
Largo de raíz (LR)	0.503	0.117	3.657	-0.494
Tasa de crecimiento (C)	-0.360	0.808	-3.876	6.372

La prueba de resustitución corroboró las asignaciones en los genotipos. La Figura 3 muestra a los genotipos en función de VD1 y VD2 que explican 97 % de la variación de los datos. El Grupo 5, ubicado principalmente en el cuadrante I, contiene a los genotipos con mayor tolerancia a *R. solani*; con mayor PSR, PSA y AF. Los grupos 1 y 3 tuvieron tolerancia intermedia; en tanto que los grupos 2 y 4 fueron susceptibles con fuertes reducciones del vigor.

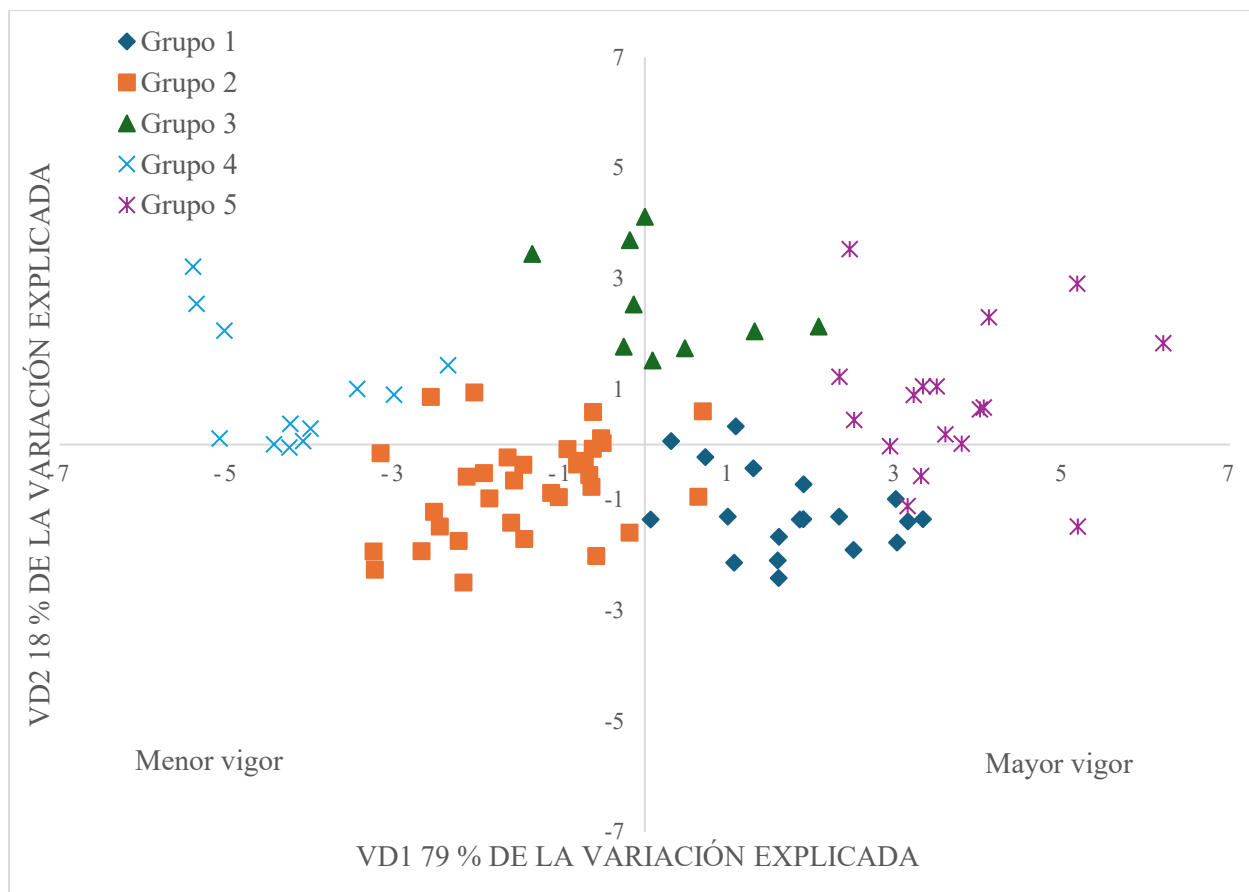


Figura 3. Representación de variables discriminantes de 90 genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculados en plántula con *Rhizoctonia solani*. VD1: variable discriminante 1, valores altos representan genotipos tolerantes con mayor biomasa y área foliar, y viceversa; VD2: variable discriminante 2, valores altos identifican genotipos tolerantes con mayor altura y tasa de crecimiento, y viceversa.

Después de determinar las agrupaciones, se realizaron análisis de varianza de índices de tolerancia, en el que se consideraron los grupos identificados como factores de variación y genotipos anidados dentro de grupos (datos no mostrados). Hubo diferencias ($\alpha \leq 0.05$) en la fuente de variación Grupos en todos los índices evaluados. Los coeficientes de variación fueron menores al 25 % en todos los índices.

La comparación de medias de Grupos (Cuadro 4) mostró que el Grupo 5 tuvo mayor tolerancia a *R. solani* al mostrar valores altos de PSR, PSA, AF y LR ($\alpha \leq 0.05$) y desarrollo intermedio de APF y C. Los grupos 2 y 4, considerados como susceptibles, mostraron desarrollo limitado de APF, PSA

y AF, y PSR, PSA y AF, respectivamente ($\alpha \leq 0.05$) mientras que los Grupos 1 y 3 tuvieron tolerancia intermedia.

El Grupo 4 disminuyó 22 % el PSR, 38 % el PSA y 48 % el AF y el Grupo 1 redujo 33% la APF con respecto al testigo. Este comportamiento se relaciona con los efectos negativos que causa *R. solani* en procesos fisiológicos como la absorción de agua y nutrientes a nivel de raíz, y la reducción significativa de concentraciones de carbohidratos solubles, clorofila y proteínas solubles; así como la disminución de actividades enzimáticas y tasa fotosintética, lo que repercute directamente en la disminución del crecimiento y desarrollo vegetal (Sharma et al., 2024; Abbas et al., 2024; Rafiq et al., 2024).

Cuadro 4. Comparaciones de medias de índices de caracteres fenotípicos para el factor Grupo en pruebas de germinación ante *Rhizoctonia solani*

Grupo	APF		PSR		PSA		AF		LR		C	
1	0.674	c	1.103	a	0.810	b	0.730	b	1.076	bc	0.637	b
2	0.693	c	0.953	b	0.662	c	0.594	c	1.080	b	0.685	b
3	0.822	a	0.996	b	0.805	b	0.806	ab	1.077	bc	0.840	a
4	0.779	ab	0.877	c	0.622	c	0.523	c	0.972	c	0.807	a
5	0.755	b	1.074	a	0.925	a	0.877	a	1.306	a	0.692	b
DMS	0.052		0.070		0.095		0.091		0.106		0.063	

DMS: diferencia mínima significativa honesta (Tukey, $\alpha \leq 0.05$); AP: altura de planta; PSR: peso seco de raíz; PSA: peso seco aéreo; AF: área foliar; LR: largo de raíz; C: tasa de crecimiento.

Las correlaciones lineales en germinación y plántula (datos no mostrados) no detectaron asociaciones significativas entre los caracteres de ambas pruebas. En germinación, las correlaciones mayores a 0.5 ($\alpha \leq 0.001$), ocurrieron entre IVG y PG; IVD con INC y ABCPE; LP; con PS y LTO. Y en el caso de la prueba en plántula fueron: APF y C; y PSA con AF y con PSR.

El Cuadro 5 muestra 25 líneas tolerantes en germinación y 17 en plántula. Las líneas L12, L13 y RF38 fueron tolerantes ante *R. solani* en ambas evaluaciones, lo que sugiere que podrían ser considerados materiales con potencial para ser utilizados como fuentes de resistencia. Debido a que no se ha identificado la acción de genes mayores a la resistencia a *R. solani* (Ajayi-Oyetunde et al., 2018), es muy probable que la tolerancia observada en las líneas en esta investigación sea de

tipo cuantitativo (poligénico), en donde los métodos de mejoramiento genético se tendrían que llevar a cabo bajo un esquema de selección masal o selección asistida por marcadores tipo GWAS que permitan identificar efectos cuantitativos, útiles bajo un esquema de resistencia horizontal.

Cuadro 5. Líneas avanzadas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) dentro de los grupos resultado del dendrograma y análisis discriminante en germinación y plántula inoculadas con *Rhizoctonia solani*.

	GER 1	GER 2	GER 3	GER 4
PLA 1	L11-4, L39, L45, L46, L56, L65, L69 y L9	L28, L43, L5 y L80	L29, L31, L49, L53, L7 y L72	L2
PLA 2	L22, L23, L40, L51, L58, L6, L63, L74, L76H, L78, MERM, RF46 y RF48	L4-1, L4-3, L50, L57, L85 y L86	L3, L37, L47S8, L48, L54, L61, RF1, RF81 y SS2	L44, L47B1, L89, L90 y SS5
PLA 3	L10, L14, L34, L51H, L60 y L64		L36, L73 y L75	
PLA 4	L30, L41, L59, L68, RF12, L27 y L35 y RF41		L1, L47S2 y L47SINV	L33
PLA 5	L15, L19, L24, L42, L52, L71, L8, L91 y L18	L55 y L92D	L12, L13 y RF38	L20, L66 y L88

PLA: plántula; GER: germinación

En la presente investigación se identificaron 24 líneas con tolerancia a *R. solani* durante germinación y 17 durante el estado de plántula; de estas, 3 de ellas tuvieron tolerancia en ambas etapas fenológicas. Además, al no haberse identificado genes mayores de tolerancia a esta enfermedad, sugiere la presencia de múltiples mecanismos fisiológicos y bioquímicos asociados a genes con efectos cuantitativos; por lo que, lograr identificar genotipos tolerantes garantizará una tolerancia más duradera (Nelson et al., 2018). Los mecanismos de defensa que podrían estar actuando en los genotipos tolerantes estarían relacionados con la producción de la fenilalanina, polifenol oxidasa, amonía-liasa, peroxidasa y catalasa, enzimas reportadas en estudios de tomate y maíz ante *A. solani* y *R. solani*, respectivamente (Kumar et al., 2023; Nafisa et al., 2020). De manera similar en lenteja (*Lens culinaris* Medik) infectada con *R. bataticola*, se encontraron grupos

de genes asociados con defensa incluyendo proteínas de resistencia, factores de transcripción, quinasas, receptores de señalización, proteínas PR y enzimas antioxidantes, lo que refleja que parte de la respuesta que tienen las plantas a *Rhizoctonia* es multifactorial y poligénica (Mishra et al., 2021). En este contexto, los genotipos tolerantes podrían poseer mecanismos similares.

Conclusiones

La variabilidad genética de las 90 líneas avanzadas de tomate frente a *Rhizoctonia solani* permitió clasificar a los genotipos en grupos. Las líneas L12, L13 y RF38 pueden servir como fuente de resistencia en programas de mejoramiento genético de tomate, ya que fueron tolerantes en ambas etapas de evaluación; aunque el resto de las líneas tolerantes en las dos etapas fenológicas también podrían ser objeto de selección.

La tolerancia a *R. solani* depende de la adaptabilidad del genotipo y de la etapa de desarrollo, lo que implica la posibilidad de la existencia de complejos genéticos específicos para cada etapa fenológica. Lo anterior implica la necesidad de realizar evaluaciones fenotípicas a través del desarrollo del cultivo, por lo que la metodología empleada en esta investigación es una herramienta útil y eficiente para evaluar un alto número de genotipos e identificar aquellos con tolerancia.

Al no haberse identificado genes mayores en la tolerancia a esta enfermedad, sería necesario implementar esquemas de selección que permitan contener genes de herencia cuantitativa con el objetivo de aprovechar las características de las líneas clasificadas como tolerantes.

Agradecimientos

Al C. Jorge Luis Sánchez Galicia, a la C. Mariana Romualda Calzada Millán y al Quim. Ricardo Gaspar Hernández por su apoyo en el desarrollo de la fase experimental en invernadero y laboratorio.

Declaración de conflicto 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.

Declaración del uso de inteligencia artificial (IA)

Los autores declaramos no haber utilizado IA generativa o tecnologías asistidas por IA para el desarrollo de la presente contribución.

Referencias

- Abbas, M. M., Ismael, W. H., Mahfouz, A. Y., Daigham, G. E., & Attia, M. S. (2024). Efficacy of endophytic bacteria as promising inducers for enhancing the immune responses in tomato plants and managing *Rhizoctonia* root-rot disease. *Scientific Reports*, 14, Article 1331. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-51000-8>
- Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant pathology*, 67(1), 3-17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>
- Akber, M. A., & Fang, X. (2024). Research Progress on Diseases Caused by the Soil-Borne Fungal Pathogen *Rhizoctonia solani* in Alfalfa. *Agronomy*, 14(7), Article 1483. <https://doi.org/10.3390/agronomy14071483>.
- Bartz, F. E., Cubeta, M. A., Toda, T., Naito, S., & Ivors, K. L. (2010). An *in planta* method for assessing the role of basidiospores in *Rhizoctonia* foliar disease of tomato. *Plant Disease*, 94(5), 515-520. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-5-0515>
- Cadahia López, C. (2005). Fertirrigación: cultivos hortícolas, frutales y ornamentales. Ediciones Mundi-Prensa.
- Cammarano, D., Jamshidi, S., Hoogenboom, G., Ruane, A. C., Niyogi, D., & Ronga, D. (2022). Processing tomato production is expected to decrease by 2050 due to the projected increase in temperature. *Nature Food*, 3(6), 437-444. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00521-y>
- Datta, S., Sarkar, M., Chowdhury, A., Rakwal, R., Agrawal, G. K., & Sarkar, A. (2021). A comprehensive insight into the biology of *Rhizoctonia solani* AG1-IA Kühn, the causal organism of the sheath blight disease of rice. *Journal of Plant Pathology*, 1-20. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00974-3>

- Díaz-Nájera, J. F., Vargas-Hernández, M., Castellanos, J. Z., & Hernández, M. (2014). Identificación morfológica y por PCR de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de frutos de calabaza pipiana y su manejo en invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(1), 1–10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971121003>
- Errifi, A., Touhami, A. O., Mouden, N., Chliyah, M., Al Batnan, A., Selmaoui, K., Benkirane, R. & Douira, A. (2019). Comparative pathogenicity of *Rhizoctonia solani* against different plant species widely cultivated in Morocco. *Plant Archives*, 19(2), 2379-2399. [https://www.plantarchives.org/19-2/2379-2399%20\(5072\).pdf](https://www.plantarchives.org/19-2/2379-2399%20(5072).pdf)
- FAOSTAT Statistical Database. (diciembre, 2024). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. <https://www.fao.org/faostat/es/>
- Gondal, A.S., Rauf, A. & Naz, F. (2019). Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* associated with tomato foot rot in Pothohar Region of Pakistan. *Scientific reports*, 9(1), Article 3910. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40043-5>
- Gower, J. C. (1967). A Comparison of Some Methods of Cluster Analysis. *Biometrics*, 23(4), Article 623. <https://doi.org/10.2307/2528417>
- Hotelling, H. (1951). A generalized T test and measure of multivariate dispersion. *Proceedings of the second Berkeley symposium on mathematical statistics and probability*, 1, 23-41. <https://doi.org/10.1525/9780520411586-004>
- Johnson, D. E. (2000). *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos*. Thompson Editores.
- Kumar, S., Kaur, H., Hunjan, M. S., & Kaur, K. (2023). Biochemical changes induced in the maize leaf sheath upon inoculation with *Rhizoctonia solani* incitant of banded leaf and sheath blight. *Cereal Research Communications*, 51(2), 413-423. <https://doi.org/10.1007/s42976-022-00310-0>
- Lakshman, D. K., Jambhulkar, P. P., Singh, V., Sharma, P., & Mitra, A. (2016). Molecular identification, genetic diversity, population genetics and genomics of *Rhizoctonia solani*. *Perspectives of Plant Pathology in genomic era*, 55-89. <https://www.researchgate.net/publication/299487816>

- Lamichhane, J. R., & Aubertot, J. N. (2021). Effect of Early and Conventional Sowings on Soybean Establishment Quality, Nodulation, and Early Biomass Development Under Inoculation with *Rhizoctonia solani*. *PhytoFrontiers*, 1(3), 205-218. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-12-20-0046-R>
- Lata, S., Hussain, Z., Yadav, R. K., Jat, G. S., Kumar, P., & Tomar, B. S. (2024). Insights into the Genetic Improvement of Tomato. In *Genetic Engineering of Crop Plants for Food and Health Security*: 2, 165-184. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-97-3119-0_7
- Li, Y., Peng, Y., Zhang, X., Wang, Y., & Wang, Y. (2019). Strategies to manage rice sheath blight: Lessons from interactions between rice and *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00001>
- Lisiecki, K., Lemańczyk, G., Piesik, D., & Mayhew, C. A. (2022). Screening winter wheat genotypes for resistance traits against *Rhizoctonia cerealis* and *Rhizoctonia solani* infection. *Agriculture*, 12(12), Article 1981. <https://doi.org/10.3390/agriculture12121981>
- Ma, M., Taylor, P. W., Chen, D., Vaghefi, N., & He, J. Z. (2023). Major soilborne pathogens of field processing tomatoes and management strategies. *Microorganisms*, 11(2), Article 263. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020263>
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2, 176–177. DOI: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x
- Melzer, M. S., Yu, H., Labun, T., Dickson, A., & Boland, G. J. (2016). Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia spp.* from field crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38(3), 367-374.
- Mishra, G. P., Aski, M. S., Bosamia, T., Chaurasia, S., Mishra, D. C., Bhati, J., Kumar, A., Javeria, S., Tripathi, K., & Kohli, M. (2021). Insights into the host-pathogen interaction pathways through RNA-Seq analysis of *Lens culinaris* Medik. in response to *Rhizoctonia bataticola* infection. *Genes*, 13(1), Article 90. <https://doi.org/10.3390/genes13010090>

- Nafisa, Shoaib, A., Iqbal, J., & Khan, K. A. (2020). Evaluation of phenotypic, physiological and biochemical attributes connected with resistance in tomato against *Alternaria solani*. *Acta physiologiae plantarum*, 42, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03076-2>
- Nasimi, Z., Barriuso, J., Keshavarz, T., & Zheng, A. (2024). Molecular, physiological, and biochemical properties of *sclerotia metamorphosis* in *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biology Reviews*, 48, Article 100351. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2023.100351>
- Nelson, R., Wiesner-Hanks, T., Wissner, R., & Balint-Kurti, P. (2018). Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nature Reviews Genetics*, 19(1), 21-33. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.82>
- Panno, S., Davino, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A., Noris, E. & Matic, S. (2021). A review of the most common and economically important diseases that undermine the cultivation of tomato crop in the mediterranean basin. *Agronomy*, 11(11), Article 2188. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112188>
- Pourmahdi, A., & Taheri, P. (2015). Genetic Diversity of *T. hananaphorus cucumeris* Infecting Tomato in Iran. *Journal of Phytopathology*, 163(1), 19-32. <https://doi.org/10.1111/jph.12276>
- Rafiq, M., Shoaib, A., Javaid, A., Perveen, S., Umer, M., Arif, M., & Cheng, C. (2024). Exploration of resistance level against Black Scurf caused by *Rhizoctonia solani* in different cultivars of potato. *Plant Stress*, 12, Article 100476. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100476>
- Raihan T., Animesh S., Harun R. & Motaher H. (2024). Biocontrol of Damping off Disease in Brinjal (*Solanum melongena*) and Tomato (*Solanum lycopersicum*) by Arbuscular Mycorrhiza. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 24(4), 633-642. <https://thescipub.com/pdf/ojbsci.2024.633.642.pdf>
- Reeves, E. R., Washburn, D., & Meadows, I. M. (2023). Economic Analysis of Pruning Grafted Fresh-market Tomato Plants under Field Conditions in North Carolina. *HortScience*, 58(9), 1104-1111. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI117156-23>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>

- Sharma, A., Ghasolia, R. P., Sharma, P., Sharma, R. L., Godika, S. Goyal, S. K., Mittal, G. K., Gaur, K., Jain, S. k., Yadav, P., Yadav, S. & Chopra, S. Status of Root Rot of Pea Caused by *Rhizoctonia solani* in Zone-III A of Rajasthan, India. *Biological Furum-An International Journal*, 16(7), 274-276. https://www.researchgate.net/profile/Pooja-Yadav-93/publication/384968189_Status_of_Root_Rot_of_Pea_Caused_by_Rhizoctonia_solani_in_Zone-III_A_of_Rajasthan_India/links/670fd3e5069cb92a81182720/Status-of-Root-Rot-of-Pea-Caused-by-Rhizoctonia-solani-in-Zone-III-A-of-Rajasthan-India.pdf
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC press.
- Zhao, H., Wang, X., & Wang, W. (2021). *Bacillus amyloliquefaciens* SN16-1-induced resistance system of the tomato against *Rhizoctonia solani*. *Pathogens*, 11(1), Article 35. <https://doi.org/10.3390/pathogens11010035>

4. ASOCIACIÓN DE REGIONES GENÓMICAS DE *Solanum lycopersicum* L. PARA TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* Y *Rhizoctonia solani*

4.1 Resumen

El tomate es altamente susceptible a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, enfermedades de gran importancia, ya que afectan el sistema vascular, que provocan la marchitez y muerte de la planta. El objetivo fue identificar regiones genómicas asociadas a caracteres de herencia cuantitativa para la tolerancia a *F. oxysporum* y *R. solani* en 95 líneas de tomate mediante el análisis de asociación de genoma completo (GWAS). Se hicieron evaluaciones en germinación y plántula inoculadas con cepa de *F. oxysporum* (clave NCBI: PQ187438); en otra evaluación en germinación se inoculó con *R. solani*. Las pruebas de germinación se realizaron en cámara germinadora con temperatura constante de 28 ± 2 °C con 70 ± 5 % de HR y la evaluación en plántula en un sistema de balsa flotante. Se obtuvieron índices de tolerancia para cada genotipo a partir de las evaluaciones fenotípicas; de estos se obtuvieron los mejores estimadores lineales insesgados (BLUEs) y se estimaron las heredabilidades en sentido amplio. Estas últimas fueron mayores que 0.5 en los índices obtenidos. La genotipificación por secuenciación (GBS) filtrada generó 14,689 SNPs (Single nucleotid polimorfisms). El GWAS, con el modelo lineal mixto, analizado en GAPIT (Genome Association and Prediction Integrated Tool) fue un método efectivo que permitió identificar 88 SNPs asociados a los índices de germinación y 38 SNPs a los de plántula ante *F. oxysporum*, y 36 SNPs de germinación ante *R. solani*. Al considerar ambas enfermedades, se identificó un total de 39 genes cercanos a los SNPs (± 3700 pb; $p \leq 0.001$), los cuales estuvieron asociados a mecanismos de defensa ante estrés.

4.2 Introducción

La alta capacidad de adaptación del tomate le ha permitido tener amplia expansión territorial, lo que incrementa su exposición a múltiples patógenos como bacterias, hongos y virus (Lata et al., 2024) que demeritan el rendimiento y calidad de fruto y la supervivencia del cultivo. Por tal razón, dentro del mejoramiento genético, el arquetipo de los cultivos no solo debe contemplar al rendimiento y calidad de fruto, sino también incluir la resistencia a diversos estreses tanto bióticos como abióticos (Rothan et al., 2019).

La variabilidad genética de los cultivos es base fundamental para cualquier programa de mejoramiento genético, ya que permite identificar alelos

beneficiosos para desarrollar cultivares resilientes (Ajie, 2025). Sin embargo, el mejoramiento genético y los sistemas de producción han reducido la diversidad e incrementado la vulnerabilidad de los cultivos ante enfermedades, por lo que es necesario la búsqueda de variantes genéticas para enfrentar estos problemas (Egea et al., 2022).

Existe más de una docena de hongos transmitidos por el suelo que causan marchitez y forman parte del complejo de hongos que provocan el “damping-off”, los de mayor importancia son *Fusarium oxysporum* (Schlechtendahl enmienda. Snyder y Hansen) y *Rhizoctonia solani* Kühn (Lamichhane et al., 2017; Gondal et al., 2018). La marchitez en tomate puede afectar del 5 al 80 % el desarrollo de plántulas con consecuencias económicas importantes (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2017; Lamichhane et al., 2017).

F. oxysporum provoca pérdidas severas en la producción de tomate. Se considera una de las veinte enfermedades fúngicas más importantes en este cultivo a nivel mundial (Rezk et al., 2021). Se transmite principalmente por el suelo, invade el sistema radicular, coloniza el xilema y provoca oclusión de vasos que causa marchitez y posteriormente, muerte de la planta (Chitwood-Brown et al., 2021). Las clamidosporas le permiten a este hongo persistir durante muchos años bajo el suelo. Estas, condiciones favorables pueden germinar y dar origen a hifas que infectan las raíces de las plantas (Gordon, 2017).

En la mayoría de los esfuerzos dirigidos a contrarrestar el daño por *F. oxysporum* en tomate se buscan resistencias conferidas por genes mayores (I, I-2, I-3 e I-7); sin embargo, la resistencia de interacción gen-gen puede ser superada por la aparición de nuevas razas fisiológicas del patógeno (Chitwood-Brown et al., 2021) como resultado de la presión de selección ejercida sobre el cultivo en los sistemas de producción.

Rhizoctonia solani es la especie más importante del género *Rhizoctonia*, con alta diversidad en su morfología, rango de hospedantes y agresividad (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2017). Causa podredumbre en semillas, raíces y tallos, y marchitamiento pre y post-emergente (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2017).

Además, tiene alta capacidad de sobrevivir a largos periodos bajo el suelo sin presencia de hospedero, factor que dificulta su control (Nikraftar et al., 2013).

La diversidad de *R. solani* está representada por 14 grupos de anastomosis en donde AG2, AG3 y AG4 se han identificado como los más presentes en la infección por *Rhizoctonia* en tomate (Gondal 2019; Melzer et al., 2016). La coexistencia de los múltiples grupos de anastomosis de *R. solani* hace que la búsqueda de tolerancias a esta enfermedad sea un desafío, ya que cada grupo presenta distinta virulencia y rango de hospedantes (Gondal et al., 2019). Lo anterior sugiere considerar en el mejoramiento genético de tomate enfocado a la defensa ante *R. solani* estrategias que involucren la resistencia cuantitativa, ya que hasta ahora no se han encontrado genes mayores que participen en la interacción planta-patógeno de tomate- *Rhizoctonia solani* (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2017).

Así, la identificación de nuevas fuentes de resistencia a ambas enfermedades controlada por múltiples genes de efectos pequeños favorecerá la obtención de tolerancias duraderas; a pesar de ello, los estudios sobre genes de efectos menores son escasos.

En la patogénesis de *F. oxysporum* y *R. solani* se desencadenan mecanismos de toxicidad para atacar a las plantas. Estos pueden inhibir la síntesis de proteínas y dañar el ADN, generar especies reactivas de oxígeno (ROS), causar muerte celular, activar apoptosis, alterar el metabolismo, etc. (Zhuo et al., 2024). Como consecuencia de la toxicidad, aparecen síntomas como clorosis, marchitez, necrosis del tejido vascular y finalmente muerte (Chitwood-Brown et al., 2021). Las plantas de tomate han desarrollado mecanismos de defensa estructurales y moleculares frente a esta amenaza, tales como cambios en la pared celular y la epidermis que restringen la entrada de patógenos (Su et al., 2024). A nivel molecular, la activación de fitohormonas como ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y ácido abscísico (ABA) coordinan la respuesta inmune al modular la expresión de genes de defensa y la producción de antioxidantes (Bittner et al., 2022; Hernandez-Aparicio et al., 2021).

La genómica, junto con ciencias ómicas complementarias como la transcriptómica, proteómica, metabolómica y fenómica, han evolucionado hasta comprender la base molecular de los rasgos que facilitan la identificación de genes clave de importancia agronómica (Zenda et al., 2021). En este contexto, los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) se han consolidado como una metodología poderosa para examinar variantes genéticas de todo el genoma en diversas especies (Tibbs et al., 2021).

La combinación de la evaluación genotípica de alto rendimiento mediante SNPs, las evaluaciones fenotípicas de alta precisión y los análisis estadísticos robustos como el GWAS han permitido identificar regiones genómicas asociadas a la resistencia a enfermedades, calidad de fruto y tolerancia a estrés (Tibbs et al., 2021). En tomate, estos estudios han permitido la asociación de SNPs con caracteres de calidad de fruto, resistencia a enfermedades (Bauchet et al., 2017), contenido de carotenoides (Rodriguez et al., 2020), niveles de sacarosa, ascorbato, malato y citrato en fruto (Sauvage et al., 2014) y con compuestos orgánicos volátiles involucrados en la determinación del sabor del fruto (Bineau et al., 2021). También han ayudado a caracterizar la diversidad geográfica y la adaptación del tomate en los centros de diversificación (Razifard et al., 2020) y se han asociado a rasgos de calidad del fruto bajo estrés abiótico como la sequía (Albert et al., 2016).

La caracterización genotípica por secuenciación (GBS) ha facilitado la identificación masiva de SNPs de manera eficiente y económica (D'Agostino & Tripodi, 2017), al proporcionar bases de datos genómicas esenciales para los estudios de asociación. La utilización de estas tecnologías ofrece una estrategia integral para el desarrollo de cultivares más resistentes, productivos y nutritivos, capaces de enfrentar factores adversos como enfermedades, cambio climático para solventar la demanda actual de alimentos (Zenda et al., 2021; Shikha et al., 2017).

El objetivo del presente estudio fue identificar en 95 líneas de tomate regiones genómicas asociadas a caracteres fenotípicos de herencia cuantitativa que involucran la tolerancia a *Fusarium oxysporum* en las etapas de germinación y

de plántula, y a *Rhizoctonia solani* durante la germinación, mediante evaluaciones fenotípicas y estudios GBS y GWAS.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Genotipos evaluados

Los genotipos evaluados fueron 95 líneas homocigóticas avanzadas de tomate (F₁₀ a F₁₂) del Proyecto de Mejoramiento Genético de Tomate de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México, generadas a partir de la selección de poblaciones segregantes derivadas de cruas entre híbridos comerciales.

4.3.2 Inóculo

Se utilizaron las cepas de *F. oxysporum* clave NCBI: PQ187438 con concentración de inóculo de 1.5×10^6 a 3.2×10^6 esporas·ml⁻¹ en pruebas en germinación y plántula y la cepa de *Rhizoctonia solani* con concentración de 322×10^3 a 35×10^4 esporas·ml durante germinación; ambas cepas se obtuvieron de la colección de hongos fitopatógenos del Departamento de Parasitología Agrícola de la UACH (consultar capítulos 2 y 3).

4.3.3 Evaluación fenotípica durante germinación ante *Fusarium oxysporum*

La prueba de germinación se llevó a cabo en una cámara germinadora (Lab-Tech Inc.®, modelo D-7140) a 28 ± 2 °C y 70 ± 5 % de humedad relativa, manteniéndose en oscuridad durante los primeros tres días y bajo luz artificial los siete días restantes. La unidad experimental (UE) consistió en una caja de Petri de 5 cm de diámetro con papel filtro y 25 semillas. Las unidades experimentales inoculadas recibieron 2 ml de la suspensión de inóculo (1.5×10^6 a 3.2×10^6 esporas·ml⁻¹), mientras que a las unidades testigo se les agregó 2 ml de agua; posteriormente la UE fue regada con 0.5 ml de agua destilada estéril a los 3, 6 y 9 días después de la inoculación (DDI). Se empleó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones.

Se registró diariamente durante diez días el número de semillas germinadas y de semillas dañadas por *F. oxysporum*. Se calculó el índice de velocidad de germinación (IVG) y el índice de velocidad de daño (IVD) conforme a Maguire (1962). Se determinó la incidencia (INC) y el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABC). A los 10 días DDI se registró la longitud de radícula (LRA, en cm), la longitud de plúmula (LP, en cm) y la longitud total (LTO, en cm) y peso seco total (PS, en mg) (consultar capítulo 2).

4.3.4 Evaluación fenotípica durante etapa de plántula ante *Fusarium oxysporum*

Se realizó la prueba en invernadero. La siembra se realizó en sustrato de esponja agrícola. A los 20 días después de la siembra se cortó la raíz de las plántulas dejando una longitud de dos centímetros; las plántulas se sumergieron en la solución del inóculo de *F. oxysporum* durante 24 horas. Posteriormente, se trasplantaron en un sistema de balsa flotante, con placas de poliestireno y con densidad de 166 plantas·m². La solución nutritiva utilizada fue la de Cadahia (2005) para tomate.

La UE consistió en 5 plántulas. El diseño experimental fue bloques completos al azar, con cuatro repeticiones en el tratamiento de inoculación y dos en el testigo.

Se evaluó altura de planta final (APF, en cm), tasa de crecimiento (C, en cm·d⁻¹), concentración de clorofila en unidades SPAD-502, longitud de raíz (LR, en cm), área foliar (AF en cm²), materia seca de raíces (PSR, en g) y de la parte aérea (PSA, en g) (consultar capítulo 2)

4.3.5 Evaluación fenotípica durante germinación ante *Rhizoctonia solani*

El experimento se realizó de la misma forma que en la prueba de germinación para *Fusarium*; aunque en este caso a los tratamientos con inoculación de *Rhizoctonia*, se aplicaron 2 ml de una solución de inóculo (322x10³ a 35x10⁴ esporas·ml⁻¹) mientras que en los tratamientos testigo se emplearon 2 ml de agua destilada. Cada UE se regó con 0.5 ml de agua destilada estéril en los días 3, 6 y 9 después de la siembra (DDS).

Durante diez días, se registró el número de semillas dañadas por *R. solani* y germinadas, con lo que se obtuvo el número de semillas germinadas (GER), índice de velocidad de daño (IVD) e índice de velocidad de germinación (IVG), área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABC), incidencia de *R. solani* (INC); además se obtuvo longitud de radícula (LRA), longitud de plúmula (LP) y longitud total (LTO) y peso seco total (PS) (consultar capítulo 3).

4.3.6 Análisis fenotípicos

En las evaluaciones fenotípicas se realizaron los mismos análisis en los tres experimentos. Se obtuvieron índices al dividir la respuesta obtenida ante el patógeno en cada UE entre el promedio de la respuesta del testigo. Se calcularon los mejores estimadores lineales e insesgados (BLUEs) de los índices con el programa META-R versión 6.0 (Alvarado et al., 2020) al considerar un diseño de bloques completos al azar; además se estimó la varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio (H^2).

4.3.7 Extracción de ADN, análisis genotípico y filtrado

A partir de tejido de hojas verdes de plántulas sin daño aparente de aproximadamente 35 días de edad, desarrolladas en bandejas de poliestireno de 200 cavidades y turba como sustrato, se hizo la extracción de ADN. Se trituró y pulverizó el tejido vegetal con ayuda de nitrógeno líquido. Se utilizó el método CTAB (bromuro de alquiltrimetilamonio) para la extracción de ADN. Se midió la integridad del ADN mediante el corrimiento de un gel de agarosa con concentración de 1.5 %; y la concentración y pureza se cuantificó mediante una nanogota Thermo Scientific, 2000 / Espectrofotómetro 2000c en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia.

La digestión del ADN de las muestras se llevó a cabo con enzimas de restricción *Bgl*II y *Dde*I que produjo fragmentos de 75 pb. La cuantificación y secuenciación se efectuaron en un equipo Illumina NextSeq 2x75 en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio), alcanzando una profundidad de 50X y generando aproximadamente tres millones de lecturas por muestra, con una calidad de mapeo superior al 84% en Q30.

Se realizó una evaluación de control de calidad de las lecturas con formato fastq. Se interpretaron los reportes y se identificaron problemas comunes de calidad (bases de calidad inferior, presencia de adaptadores, lecturas duplicadas etc.). Con el paquete Bowtie version 2.2.5 (Langmead & Salzberg, 2012) se realizó la alineación por pares de los genotipos y el genoma de referencia *Slycopersicum_796_SL5.0* obtenido del portal Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>). Con el paquete Samtools versión 1.13-4 (Li et al., 2009) se generaron archivos SAM para cada genotipo; los cuales se convirtieron al formato BAM y se verificó su calidad con el comando `samtools stats`. Con el paquete bcftools versión 1.13-1 (Danecek et al., 2021) se indexaron los archivos con el comando `samtools index` para posteriormente generar un archivo resumen de las lecturas alineadas mediante el comando `mpileup -f` a con el genoma de referencia. Finalmente se realizó el llamado de variantes con el paquete bcftools con el comando `bcftools call`, lo que generó un archivo en formato BCF, que fue convertido al formato VCF.

Para realizar el control de calidad de los datos genotípicos, se aplicó un filtrado de variantes utilizando el paquete bcftools con el comando `bcftools filter -i 'QUAL > 30 && DP > 5 && TYPE="snp" && MAF > 0.05 && F_MISSING < 0.10'`; con ello, se filtraron SNPs que tuvieron calidad de variante (QUAL) mayor que 30, profundidad de cobertura (DP) mayor que 5X; se eliminaron los indels y SNPs con frecuencia del alelo menor (MAF) inferior a 0.05 y proporción de datos faltantes (F_MISSING) inferior a 0.10.

Con el módulo +prune de bcftools y el comando `bcftools +prune -m 0.8`, se redujo la redundancia de marcadores asociada al desequilibrio de ligamiento (LD), se eliminaron SNPs con una correlación de genotipos (r) tal que $r^2 \geq 0.8$. Los archivos resultantes se exportaron al formato VCF.

Con el paquete vcftools versión 0.1.16-3 (Danecek et al., 2021) mediante el comando `-O12`. Los datos genotípicos se convirtieron a formato matricial codificado como: 0 (homocigoto recesivo), 1 (heterocigoto) y 2 (homocigoto dominante).

Con el paquete Rstudio, versión 4.4.3 se procesó la matriz de datos genotípicos; para ello, se realizó la imputación de datos faltantes al

reemplazar los valores ausentes con las frecuencias observadas de los marcadores presentes. Se eliminaron marcadores monomórficos y se generaron gráficos de diagnóstico. También se generó la matriz imputada de genotipos, la matriz de relaciones genómicas y el mapa físico de SNPs.

4.3.8 Análisis de asociación genómica

Se realizó análisis de asociación genómica (GWAS) usando con el modelo lineal mixto (MLM) sin ajuste por componentes principales en el paquete GAPIT (Genomic Association and Prediction Integrated Tool) (Wang et al., 2021) en Rstudio. Se utilizaron los datos BLUEs como datos fenotípicos y la matriz genotípica estandarizada.

4.3.9 Localización de SNPs en el genoma de *Solanum lycopersicum*

Los SNPs asociados significativamente a las variables fenotípicas evaluadas ($p \leq 0.001$) fueron localizados en el genoma de tomate (*Slycopersicum_796_SL5.0*) disponible en el portal Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>). Se detectaron SNPs dentro de genes, así como SNPs localizados en regiones cercanas (hasta 3,700 pb upstream y downstream). La función de los genes localizados se determinó con base en las anotaciones genómicas del gen.

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Evaluación fenotípica de variables de germinación ante *Fusarium oxysporum*

Las heredabilidades (Cuadro 1) de los caracteres evaluados fueron altas, entre 0.64 a 0.89; lo que indica que hay una fuerte influencia genética sobre la expresión de los caracteres evaluados en las líneas bajo condiciones de infección por *F. oxysporum*, observado en IVD y ABC, los cuales mostraron la mayor heredabilidad.

Cuadro 1. Estimación de varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio de 9 variables calculadas con datos fenotípicos durante germinación de tomate (*Solanum lycopersicum*) ante *Fusarium oxysporum*.

Variable	Repeticiones	Varianza genotípica σ_g^2	Heredabilidad
GER	4	0.0122	0.6629
IVG	4	0.0271	0.7925
IVD	4	0.4686	0.8684
INC	4	131.6170	0.7194
ABC	4	336.1321	0.8954
PS	4	0.0383	0.7460
LP	4	0.0182	0.6400
LRA	4	0.4195	0.7121
LTO	4	0.0495	0.6657

GER: germinación; IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de plúmula; LRA: longitud de la radícula; LTO: longitud total.

4.4.2 Evaluación fenotípica en etapa de plántula ante *F. oxysporum*

Las heredabilidades estimadas (Cuadro 2) de los caracteres evaluados fueron altas, entre 0.64 a 0.89, lo que indica una fuerte influencia genética ($H^2 \geq 0.60$) en la expresión de los caracteres evaluados en estado de plántula bajo condiciones de infección por *F. oxysporum*. SPAD presentó la menor proporción de variación atribuible a efectos genéticos.

Cuadro 2. Estimación de varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio de 7 variables calculadas con datos fenotípicos durante plántula de tomate (*Solanum lycopersicum*) ante *Fusarium oxysporum*.

Variable	Repetición	Varianza genotípica σ_g^2	Heredabilidad
APF	4	0.0092	0.8068
C	4	0.0056	0.7518
AF	4	0.0305	0.8191
LR	4	0.0068	0.7047
PSA	4	0.0861	0.8613
PSR	4	0.1260	0.8200
SPAD	4	0.0017	0.6462

APF: altura de planta final; C: tasa de crecimiento; AF: área foliar; LR: largo de raíz; PSA: peso seco aéreo; PSR: peso seco de raíz; SPAD: unidades SPAD.

4.4.3 Evaluación fenotípica durante germinación ante *Rhizoctonia solani*

Los valores de heredabilidad estimados de líneas de tomate germinadas ante el inóculo de *R. solani* mostraron (Cuadro 3) heredabilidad de 0.54 a 0.89, en donde IVD, INC, y ABC muestran la mayor variabilidad fenotípica atribuible a diferencias genéticas, por otro lado, PS presentó la menor heredabilidad con 0.5442.

Cuadro 3. Estimación de varianza genotípica y la heredabilidad en sentido amplio de 9 variables calculadas con datos fenotípicos durante germinación de tomate (*Solanum lycopersicum*) ante *Rhizoctonia solani*.

Variable	Repetición	Varianza genotípica σ_g^2	Heredabilidad
GER	4	0.0226	0.8010
IVG	4	0.0225	0.8054
IVD	4	0.4860	0.8992
INC	4	408.1	0.8939
ABC	4	248.5	0.8859
PS	4	0.0192	0.5442
LP	4	0.0298	0.7799
LRA	4	0.0134	0.6335
LTO	4	0.0233	0.7640

GER: germinación; IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de plúmula; LRA: longitud de la radícula; LTO: longitud total.

4.4.4 Genotipificación

La calidad de los archivos BAM evaluada en samtools stats para cada genotipo indicó que todos los genotipos (datos no mostrados) presentaron más del 95 % de lecturas correctamente mapeadas, coberturas promedio de aproximadamente 50X y tasa de error de secuenciación menor al 1.5 % en todos los genotipos analizados, por lo que se considera que los datos alineados tienen alta calidad.

La genotipificación basada en el GBS (Genotype By Sequencing) identificó 419,252 marcadores SNP polimórficos; de ellos, solo 14,689 fueron funcionales después del filtrado de calidad. En la Figura 1 se muestra la densidad de los SNPs distribuidos en bins de 1Mb a lo largo de los 12 cromosomas del tomate,

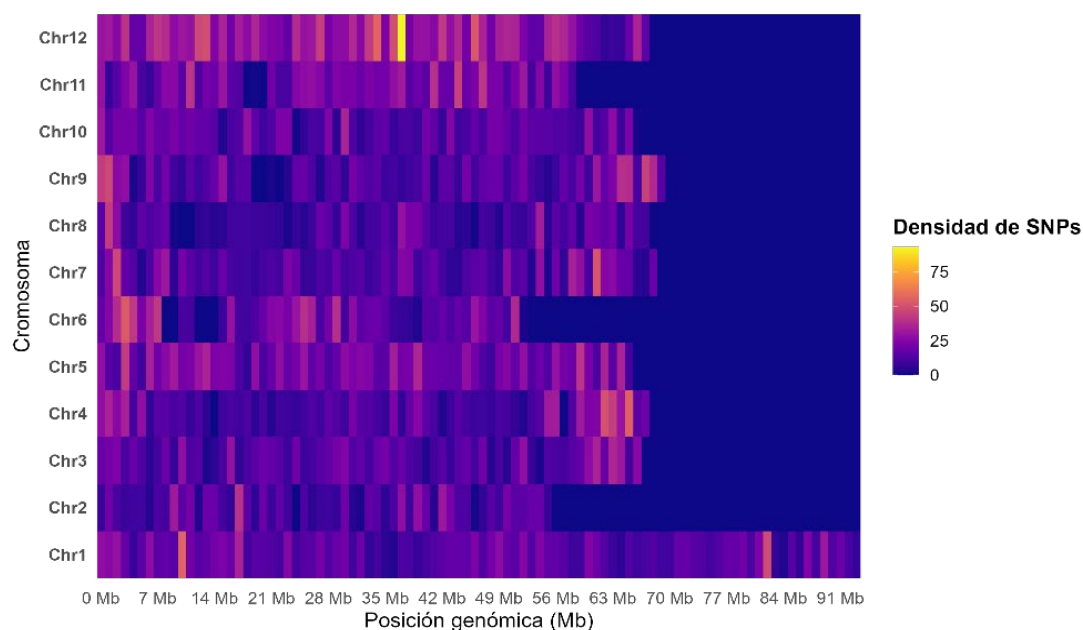


Figura 1. Distribución de 14,689 SNPs del panel de diversidad de 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Los diferentes colores representan diferentes niveles de densidad y "Chr" se refiere a los cromosomas.

La matriz de parentesco (Figura 2A) entre pares de genotipos calculada a partir de 14,689 SNPs no mostró asociaciones de importancia, debido a que los genotipos son diversos; y por lo tanto, no se detectó con claridad una estructura poblacional. El análisis de componentes principales de la matriz genotípica no detectó relaciones genéticas las líneas estudiadas, por lo que las variaciones individuales de los componentes fueron demasiado bajas (Figura 2B); es decir, no se logró describir una estructura genética de la población confiable debido a que el parentesco de estos genotipos es muy bajo.

Con base en la disminución del desequilibrio de ligamiento (LD) de la población estudiada en función de la distancia física entre SNPs (Figura 2C), se observó que el valor de r^2 se estabiliza en el umbral de 0.2 con una distancia aproximada de 3.7 kb; por esta razón, la selección de genes candidatos asociados a las variables evaluadas ocurrió dentro del intervalo de ± 3.7 kb a partir de cada SNP.

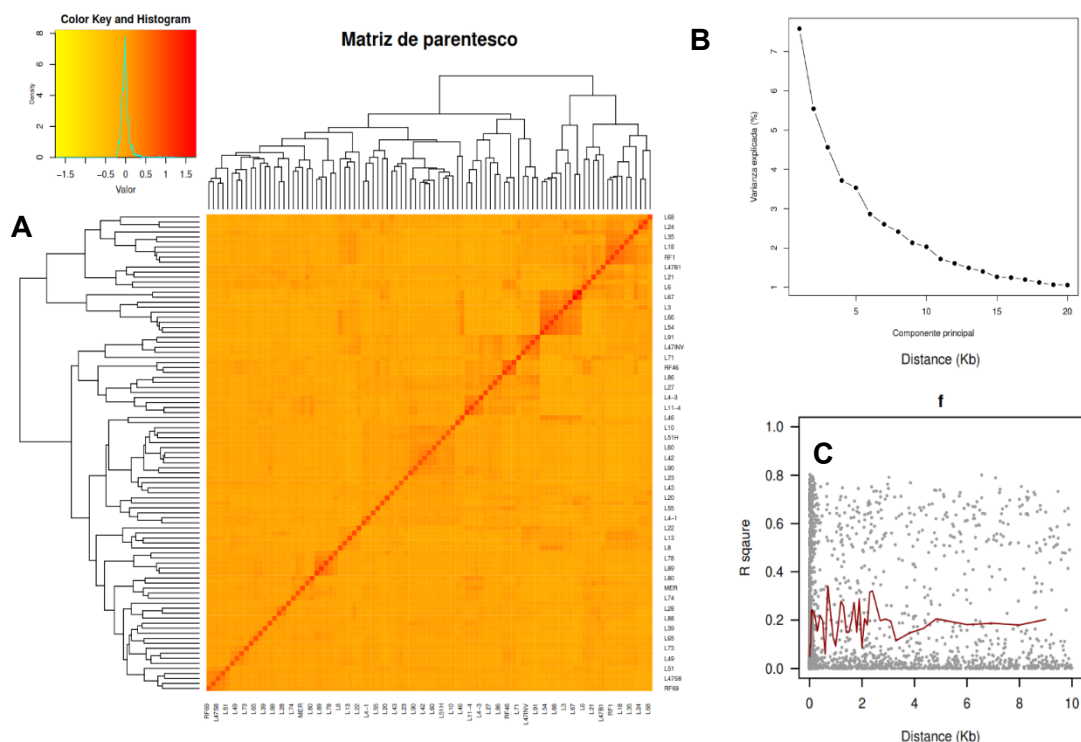


Figura 2. (A) Mapa de calor de matriz de parentesco de 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*). (B) Gráfico de sedimentación (Scree plot) del análisis de componentes principales (PCA) de 95 líneas de tomate. (C) Decaimiento del desequilibrio de ligamiento (LD) en función de la distancia física entre SNPs.

4.4.5 Análisis de asociación genómica durante germinación ante *Fusarium oxysporum*

Para la etapa de germinación, el GWAS identificó 88 SNPs asociados ($p \leq 0.001$) a los caracteres evaluados de tomate ante *F. oxysporum* con el MLM (Figura 3, Cuadro A1). Los SNPs localizados corresponden principalmente a las variables IVG, INC y LRA ubicados principalmente en los cromosomas 3, 4, 9 y 11. En particular, en el cromosoma 3 se detectaron 44 SNPs, la mayoría asociados a INC y LRA. Los efectos estimados en las variables que evalúan el daño causado por *F. oxysporum* INC, IVD y ABC, fueron en su mayoría negativos; es decir, los SNPs contribuyeron a la reducción de los efectos causados por *F. oxysporum*. Por otra parte, los efectos de LRA son positivos, lo que significa que los SNPs localizados se asocian en forma positiva a esta variable.

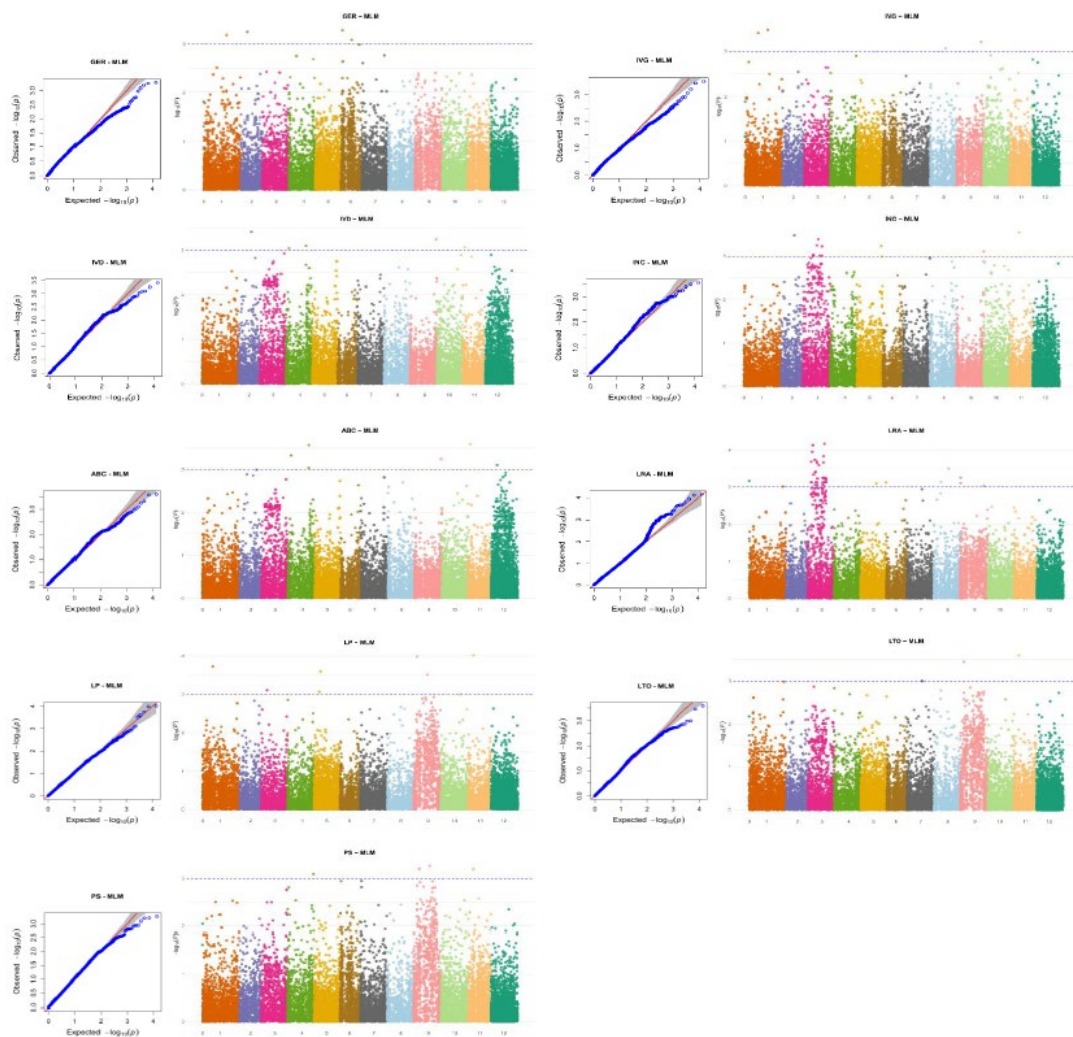


Figura 3. QQplot (izquierda) y Gráficos de Manhattan (derecha) generados a partir del MLM para cada una de las variables evaluadas en 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante germinación ante *Fusarium oxysporum*. El gráfico cuantil-cuantil (QQ) muestra los valores p observados frente a los esperados. El gráfico de Manhattan muestra la distribución de los valores de $-\log_{10}(p)$ a lo largo del genoma, donde valores de $-\log_{10}(p) \geq 3$ ($p \leq 0.001$) son significativos. Rasgos evaluados: GER: germinación; IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de la plúmula; LRA: longitud de la radícula; LTO: longitud total.

Se localizaron 36 regiones anotadas en el genoma *Slycopersicum_796_SL5.0* ubicados cerca de SNP $\pm 3700\text{pb}$ ($p \leq 0.001$) en donde solamente 23 genes tienen anotación funcional.

De los 23 genes con anotaciones funcionales, solo 18 tienen evidencia de participar en mecanismos de defensa ante estrés biótico o abiótico (Cuadro 4). De estos 18, LRA se asoció a 9 genes; IVG a 3; INC a 2; LT a 2; PS a 1; y en el caso de ABC e IVD se asociaron al mismo gen (Solyc09G002633). Estos

genes han sido asociados con mecanismos de defensa a diferentes tipos de estrés, tanto bióticos como abióticos.

Cuadro 4. Anotación funcional de genes candidatos ubicados en un intervalo de confianza de 3.7 Mb para SNP ($p \leq 0.001$) asociados con la tolerancia de líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante germinación ante la infección por *Fusarium oxysporum*.

Variable	Gen	Nombre funcional
IVG	Solyc01G001107	Proteína con dominios WD40/YVTN (WDR21A)
IVG	Solyc01G001456	Sin descripción funcional
IVG	Solyc01G001457	Sin descripción funcional
LRA	Solyc01G003477	Transferasa GSTZ1 / isomerasa maleylacetoacetato
LRA	Solyc01G003478	Glicosilasa de ADN tipo II
INC	Solyc03G001342	Sin descripción funcional
INC y LRA	Solyc03G001544	Proteína con repeticiones ricas en leucina (LRR)
INC y LRA	Solyc03G001545	Sin descripción funcional
INC y LRA	Solyc03G001546	Sin descripción funcional
LRA	Solyc03G000817	Fosfatasa tipo PPM (PP2C)
LRA	Solyc03G000944	Proteína O-fucosiltransferasa GDP-fucosa
LRA	Solyc03G001026	Sin descripción funcional
LRA	Solyc03G001027	Reductasa de aldehídos / deshidrogenasa de alcohol
LRA	Solyc03G001407	Sin descripción funcional
LRA	Solyc03G001425	Enzima oxidorreductasa-subunidad 6 de la NAD(P)H: quinona oxidoreductasa
LRA	Solyc03G001574	Sin descripción funcional
LRA	Solyc03G001575	Sin descripción funcional
PS	Solyc04G002817	Pectina metilesterasa (PME)
PS	Solyc04G002818	Sin descripción funcional
INC	Solyc05G002362	Urushiol oxidasa / Lacasa multicobre
LRA	Solyc05G002739	2,3-dimetilmalato liasa (EC 4.1.3.32)
LRA	Solyc05G002740	Acetil-CoA carboxilasa (ACC)
GER	Solyc06G000310	Proteína con repeticiones PPR
ABC e IVD	Solyc09G002632	Esterasa de hidroxycinamato
ABC e IVD	Solyc09G002633	MAPKKK-like kinase (MLTK)
INC	Solyc09G002882	transportador de nucleótidos-azúcar tipo SLC35A4
INC	Solyc09G002883	Sin descripción funcional
IVG	Solyc09G002158	Ligasa E3 de ubiquitina con dominio RING-finger tipo C3HC4
IVG	Solyc09G002159	Ligasa E3 de ubiquitina con dominio RING-finger tipo C3HC4
LRA	Solyc09G000079	Sin descripción funcional

LRA	Solyc09G001987	3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC)
LT	Solyc09G001240	Ligasa E3 de ubiquitina con dominio RING-CH y motivos tipo armadillo (ARM-like)
LT	Solyc10G001476	Fosfatasa de tipo 2C (PP2C)
ABC e IVD	Solyc11G000674	Pheophorbide a oxygenase / proteína tipo filamento vegetal
INC	Solyc11G001321	Sin descripción funcional
IVD	Solyc11G000673	Adaptador CUL3 tipo SPOP con dominio BTB/POZ

GER: germinación; IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de la plúmula; LRA: longitud de la radícula; LTO: longitud total.

4.4.6 Análisis de asociación genómica durante plántula ante *Fusarium oxysporum*

Se identificaron 38 SNPs (Figura 4 y Cuadro 2A) asociados ($p \leq 0.001$) a diferentes caracteres evaluados en plántulas ante la inoculación por *F. oxysporum*. Los efectos de los SNPs fueron en su mayoría positivos y los más frecuentes se asociaron con SPAD (9), PSR (7) y LR (6).

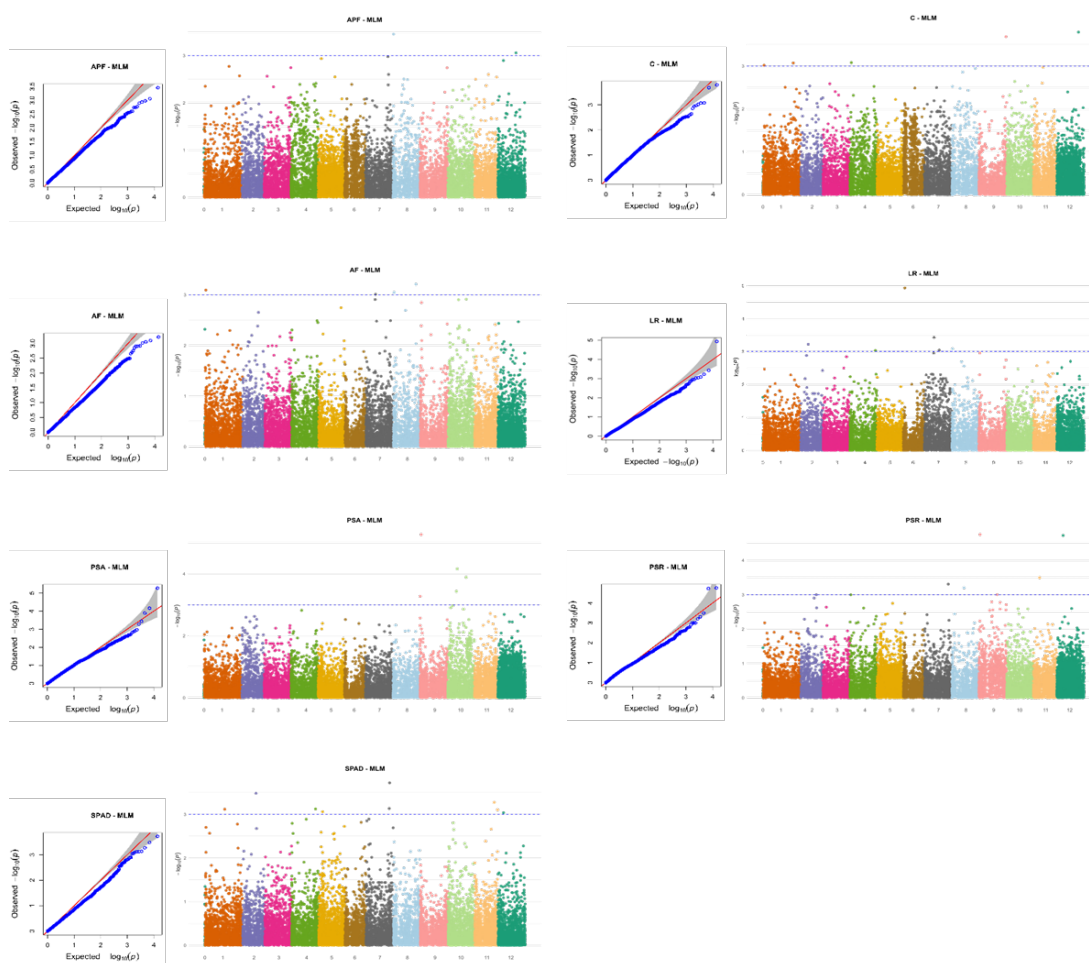


Figura 4. QQplot (izquierda) y Gráficos de Manhattan (derecha) generados a partir del MLM para cada una de las variables evaluadas en 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante etapa de plántula ante *Fusarium oxysporum*. El gráfico cuantil-cuantil (QQ) muestra los valores p observados frente a los esperados. El gráfico de Manhattan muestra la distribución de los valores de $-\log_{10}(p)$ a lo largo del genoma, donde valores de $-\log_{10}(p) \geq 3$ ($p \leq 0.001$) son significativos. APF: altura de planta; C: tasa de crecimiento; AF: área foliar; LR: largo de raíz; PSA: peso seco aéreo; PSR: peso seco de raíz; SPAD; unidades SPAD.

Se localizaron 26 genes cercanos a los 38 SNPs (± 3700 pb), de los cuales 20 tienen anotaciones funcionales.

Entre los genes anotados con funciones relacionadas con la defensa frente a estreses bióticos y abióticos, uno de ellos se asoció a AF; tres a C; dos a SPAD; dos a LR; y uno a PSA. Adicionalmente, dos genes (*Solyc08G000227* y *Solyc08G000228*) se asociaron simultáneamente a AF y LR (Cuadro 5).

Cuadro 5. Anotación funcional de genes candidatos ubicados en un intervalo de confianza de 3.7 Mb para SNP ($p \leq 0.001$) asociados con la tolerancia de 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante etapa de plántula ante la infección por *Fusarium oxysporum*.

Variable	Gen	Nombre funcional
AF	Solyc01G000201	Sin descripción funcional
AF	Solyc01G000202	Proteína relacionada con HVA22, tipo REEP
C	Solyc01G000233	Citocromo P450 tipo CYP51 / Obtusifoliol 14-desmetilasa.
C	Solyc01G000234	histona acetiltransferasa (HAT) EC 2.3.1.48 / CBP/p300,
SPAD	Solyc02G000683	proteína transformadora-2 (TRA2)
SPAD	Solyc04G002160	peroxidasa (EC 1.11.1.7)
LR	Solyc04G002558	peptidil-prolil cis-trans isomerasa (EC 5.2.1.8)
LR	Solyc04G002559	Serina carboxipeptidasa (EC 3.4.16.6)
SPAD	Solyc05G000987	Sin descripción funcional
SPAD	Solyc07G001716	PTHR31133:SF2
SPAD	Solyc07G001783	Dominio DUF632 y DUF630
SPAD	Solyc07G001784	Sin descripción funcional
APF	Solyc08G000180	Proteína ribosomal S15, tipo mitocondrial
APF	Solyc08G000181	Sin descripción funcional
AF y LR	Solyc08G000227	Hidrolasa NUDIX
AF y LR	Solyc08G000228	dominios NB-ARC y repeticiones ricas en leucina (LRR)
AF y LR	Solyc08G000229	Sin descripción funcional
AF	Solyc08G001446	Proteína no caracterizada regulada por HAH1

PSA		Solyc09G000037	Peptide-transporting ATPase (EC 3.6.3.43)
PSA		Solyc09G000038	Proteína tipo Major Latex Protein (MLP) / Bet v 1
PSA PSR	y	Solyc09G000334	Sin descripción funcional
PSA PSR	y	Solyc09G000335	Proteína quinasa de tipo serina/treonina/tirosina
C		Solyc09G002632	Proteína relacionada con cgi-141/lipasa // lipasa relacionada con triglicéridos
C		Solyc09G002633	MAP quinasa quinasa quinasa (MAPKKK)
SPAD		Solyc11G002444	Proteína con dominio IQ
APF		Solyc12G001464	proteína fosfotransferasa que contiene histidina (AHP)

APF: altura de planta; C: tasa de crecimiento; AF: área foliar; LR: largo de raíz; PSA: peso seco aéreo; PSR: peso seco de raíz; SPAD unidades SPAD.

4.4.7 Análisis de asociación genómica durante germinación ante *Rhizoctonia solani*

Se identificaron 36 SNPs ($p \leq 0.001$) asociados con los caracteres evaluados en 95 líneas ante la inoculación por *R. solani* con el MLM (Figura 5, Cuadro 3A). Los SNPs se asociaron principalmente al vigor de la semilla (IVG, GER y LTO). La distribución de estos SNPs ocurrió principalmente en los cromosomas 9, 7, 4 y 2.

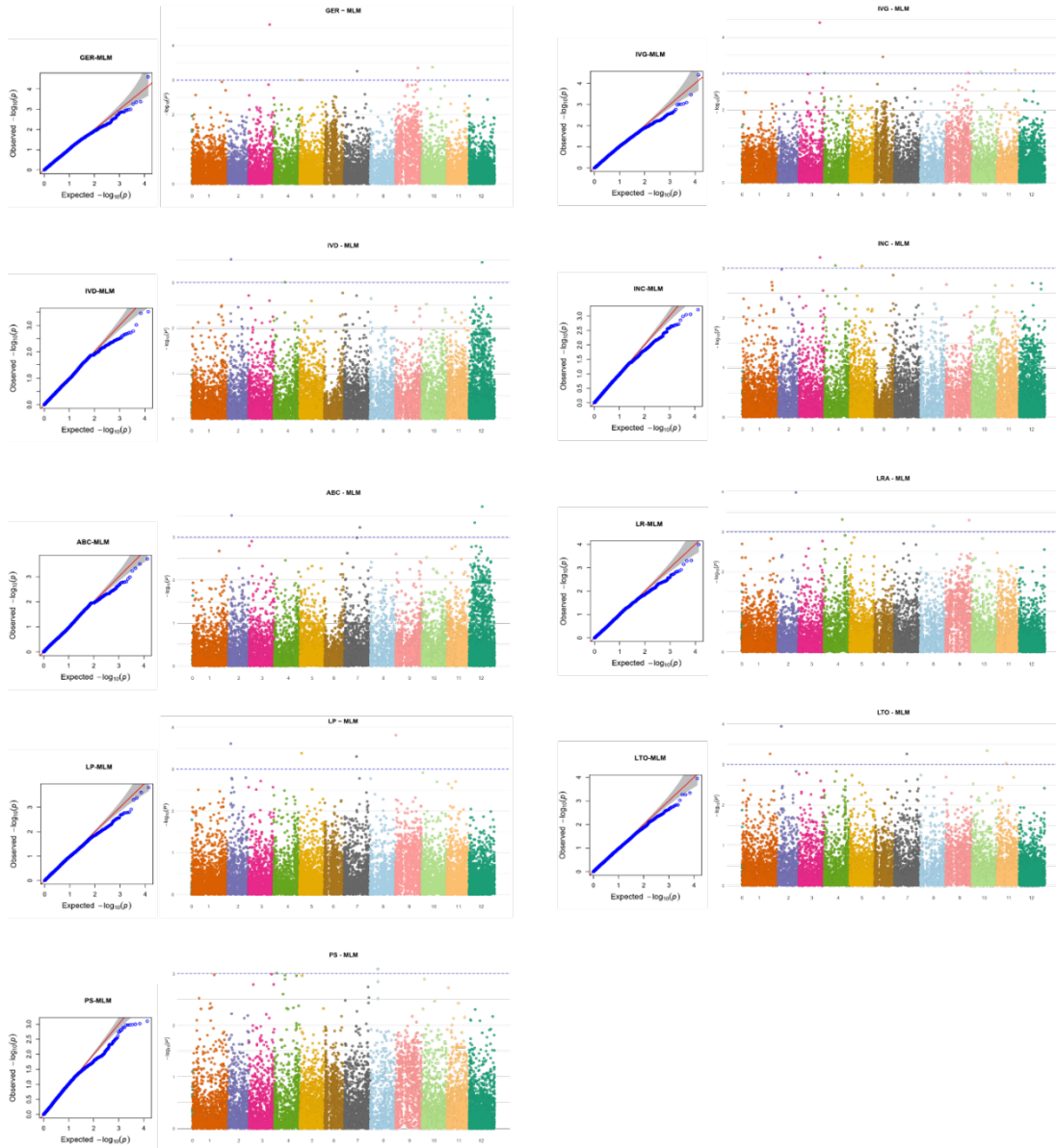


Figura 5. QQplot (izquierda) y Gráficos de Manhattan (derecha) generados a partir del MLM para cada una de las variables evaluadas en 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante germinación ante *Rhizoctonia solani*. El gráfico cuantil-cuantil (QQ) muestra los valores p observados frente a los esperados. El gráfico de Manhattan muestra la distribución de los valores de $-\log_{10}(p)$ a lo largo del genoma, donde valores de $-\log_{10}(p) \geq 3$ ($p \leq 0.001$) son significativos. Rasgos evaluados: GER: germinación; IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de la plúmula; LRA: longitud de la radícula; LTO: longitud total.

Los genes con anotaciones funcionales fueron 18, de los cuales 10 tienen evidencia de asociarse con mecanismos de defensa al estrés biótico. IVG se asoció a tres genes, dos de los cuales dos (*Solyc03G002165* y *Solyc03G002167*) también están asociados a GER e INC. Además, GER se

asoció a otro gen adicional. LTO se asoció a dos genes; LP a dos genes; LRA a uno y PS a uno.

Cuadro 6. Anotación funcional de genes candidatos ubicados en un intervalo de confianza de 3.7 Mb para SNP ($p \leq 0.001$) asociados con la tolerancia de 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante germinación ante la infección por *Rhizoctonia solani*

Variable	Gen	Nombre funcional
LTO	Solyc01G002126	proteína relacionada abundante en embriogénesis tardía (LEA)
LTO	Solyc01G002127	Proteína de las lipasas/alfa-beta hidrolasas (relacionada con CGI-141)
LRA	Solyc02G002182	Sin descripción funcional
LRA	Solyc02G002183	Sin descripción funcional
LRA	Solyc02G002184	Sin descripción funcional
GER, IVG e INC	Solyc03G002165	Proteína 3 similar a la transducina beta (tbl3) - proteína repetida wd40
GER, IVG e INC	Solyc03G002167	Cinnamoyl-CoA Reductasa / Epimerasa/Deshidratasa dependiente de NAD
IVG	Solyc04G000142	tRNA prenilttransferasa e isopentenilttransferasa (IPT)
PS	Solyc04G000653	Insulinasa
PS	Solyc04G000654	Factor de transcripción con dominio SANT
INC Y IVD	Solyc04G001114	Proteína que contiene el dominio DUF1645
GER	Solyc05G000402	Fosfatasa de tipo 2C (PP2C)
LP	Solyc05G000761	Subunidad reguladora no ATPasa 11 del proteasoma 26S / Subunidad 2 del complejo COP9 signalosome (CSN2)
IVG	Solyc06G000550	Metilttransferasa de 23S rRNA (adenina ²⁵⁰³ -C ²)
ABC	Solyc07G001189	Sin descripción funcional
LP	Solyc09G000126	Ligasa E3 de ubiquitina tipo HECT UPL4
LRA	Solyc09G002094	Quinasa de proteínas serina/treonina específica (EC 2.7.11.1)
ABC	Solyc12G001042	Sin descripción funcional

GER: germinación; IVG: índice de velocidad de germinación; IVD: índice de velocidad de daño; INC: incidencia; ABC: área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS: peso seco; LP: longitud de la plúmula; LRA: longitud de la radícula; LTO: longitud total.

Ante la presencia de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en las etapas evaluadas se localizaron distintos genes documentados con funciones documentadas que se activan ante respuestas de estrés. Los genes *Solyc01G001107* y *Solyc03G002165* codifican para proteínas con repeticiones WD de la familia WD40. Una de las funciones que tiene es que en la activación transcripcional afecta a los genes de defensa ante la

presencia de enfermedades (Yan et al. 2023; Ji et al., 2025). Se han localizado en maíz (*Zea mays*) 3 genes WD40 asociados a respuestas de estrés biótico (Ji et al., 2025).

El gen *Solyc01G003477* asociado a LRA codifica una maleilacetoacetato isomerasa (*GSTZ1*), enzima de la familia *GST* (glutathión S-transferasas) inducible durante estrés biótico. Participa en la detoxificación de toxinas y la reducción de estrés oxidativo al eliminar especies reactivas de oxígeno (ROS) (Gullner et al., 2018) producidas por el ácido fusárico que afecta el crecimiento, desarrollo y rendimiento de plantas (Iqbal et al., 2023). En melón, se evaluaron dos variedades contrastantes frente a la infección por *F. oxysporum f. sp. melonis*, en donde un gen *GST* se expresó en la variedad resistente; además, no presentó daños necróticos en las raíces, contrario a la variedad susceptible (Yang et al. (2022); también en *Arabidopsis*, el gen *HvGST13* confiere resistencia ante la presencia de toxinas provocadas por *Fusarium graminearum*; en este estudio *GST* mejoró la longitud de la raíz bajo estrés por toxinas (Wahibah et al., 2018).

El gen *Solyc01G003478* codifica para una glicosilasa de ADN tipo II, la cual reconoce y elimina bases dañadas de ADN para mantener la integridad del genoma alterado por especies reactivas de oxígeno o estrés biótico o abiótico (Grin et al. 2023). En *Arabidopsis thaliana* una enzima glicosilasa de ADN eliminó lesiones oxidativas en el ADN y mejoró la longevidad de las semillas y la tolerancia a estrés biótico inducido en el estudio (Chen et al. 2012). Este gen se localiza a menos de 400 pb de distancia del gen *GSTZ1*, también identificado como candidato en este estudio con el mismo SNP (1:86106900); sus funciones son diferentes; sin embargo, ambos están relacionados con el estrés oxidativo que puede provocar una infección por *F. oxysporum*. La cercanía genómica sugiere una asociación conjunta dentro de mismo bloque de desequilibrio de ligamiento y explica que ambos genes hayan sido detectados en el GWAS asociados a LRA.

El gen *Solyc03G001544* se asoció con las variables LRA (con efecto positivo) e INC (con efecto negativo). Es una proteína multifuncional con la presencia del dominio LRR (repeticiones ricas en leucina) característico de las proteínas

NLR que sirven para el reconocimiento y activación de inmunidad innata en plantas (Jacob et al., 2013). La mayoría de los NLR validados experimentalmente están asociados a resistencia contra hongos, seguido de omicetos, bacterias y virus (Kourelis et al., 2021). Actúan como sensores intracelulares de efectos patogénicos (Jacob et al., 2013; Kourelis et al., 2021). En la anotación del gen también está el dominio AAA_16 (PF13191) típico de ATPasas regulatorias, lo que desencadena la producción de ROS y una respuesta de hipersensibilidad para inhibir el avance del patógeno (Lee et al., 2020). Otros componentes importantes del gen son KOG4658 (Apoptotic ATPase) y el PR00364, también conocidos como DISEASERSIST, que activan la muerte celular programada como respuestas inmunitarias después de que se detecta la presencia de patógenos por LRR (Boursiac et al., 2010).

El gen *Solyc03G000817* identificado como candidato en la prueba de germinación ante *F. oxysporum* fue asociado a LRA y el gen *Solyc05G000402* detectado en germinación ante *R. solani* fue asociado a GER; este es un gen portador del dominio fosfatasa tipo PPM (PP2C) de la familia de genes que participan en la modulación de respuestas de defensa (Sakib et al., 2024) al regular en forma negativa a la vías de señalización activadas por patógenos; son enzimas reconocidas como reguladores negativos de inmunidad (Sobol et al., 2022). En tomate, a partir de varios estudios se identificaron 18 genes *PP2C* reprimidos durante la activación de respuestas inmunes PTI (inmunidad inducida por patrones) y ETI (inmunidad inducida por efectores), durante el desarrollo de enfermedades (Sobol et al., 2022). Adicionalmente, se identificaron 95 genes *PP2C* ante infecciones por *Ralstonia solanacearum*, *Botrytis cinerea* y virus TSWV (Sakib et al., 2024).

El gen *Solyc03G000944* asociado a LRA codifica para la enzima tipo O-fucosiltransferasa que realiza un proceso llamado O-fucosilación subtipo de O-glycosylation; mecanismo de señalización que está involucrado en la inmunidad vegetal (Aizezi et al., 2025) induciendo cambios en la conformación de factores reguladores como la respuesta al estrés biótico (Mutanwad & Lucyshyn, 2021). También la glicosilación de proteínas puede actuar como barrera de defensa física formando redes insolubles entrecruzadas que

incrementa la rigidez de la pared celular y evitan la penetración del hospedero, y química con actividad antimicrobiana directa hacia el hospedero (Lin et al., 2020). En *A. thaliana* se han demostrado que la O-fucosilación participa en la respuesta a estreses bióticos y abióticos (Sun, 2021).

El gen *Solyc03G001027* codifica para alcohol deshidrogenasa (ADH), que hace conversiones reversibles de alcoholes y aldehídos (Strommer, 2010). Esta conversión se activa ante la presencia de patógenos y animales herbívoros, en donde las moléculas volátiles resultantes actúan como señales químicas para defensa de las plantas (Strommer, 2010). En un análisis genómico se identificaron 35 genes *ADH* en tomate que revelan una fuerte participación en la respuesta al estrés abiótico y biótico (Zhu et al., 2023) y en colza (*Brassica napus*) se identificaron 47 genes alcohol deshidrogenasas bajo estrés salino; en específico el gen *BnADH36* fue funcionalmente validado mediante sobreexpresión, mejoró significativamente la tolerancia a sal en plantas transgénicas de colza (Zhang et al., 2024).

El gen *Solyc03G001425* codifica para una ubiquinona reductasa con dominios redox y unión hierro-azufre. Forman parte de complejos respiratorios mitocondriales y cloroplásticos esenciales en el equilibrio redox durante cambios metabólicos, evento común en la presencia de hongos (Rasmusson et al., 2020). En estudios previos se identificó el gen *NAD(P)H*: quinona oxidoreductasa como uno de los genes más activos en la defensa de lino (*L. usitatissimum*) ante el ataque por *F. oxysporum f. sp. lini*. en un análisis transcriptómico (Dmitriev et al., 2017), en el estudio el gen fue propuesto como marcador de resistencia ante la presencia de *Fusarium*.

El gen *Solyc04G002817* codifica una pectin metilesterasa (PME) que refuerza o debilita la pared celular al modificar la cantidad de pectina y remover grupos metilo. La modificación de pectinas es crucial al existir hongos especializados en modificar las pectinas de la pared celular del hospedante durante la colonización de las raíces al secretar pectin metilesterasas (PME) (Su, 2023). Este fenómeno es una lucha 1 a 1, ya que tanto la planta, como el patógeno, activan la misma enzima. Además se sabe que las pectinas son moléculas señalizadoras que promueven respuestas inmunitarias al activar genes

relacionados con la defensa (Saberri Riseh et al., 2024). Se identificaron 70 genes PME en respuesta de *Populus trichocarpa* frente a la infección por *F. solani*; la actividad coordinada de las PME mantiene la integridad de la pared celular (Su et al., 2024).

El gen *Solyc05G002362* es un gen anotado como urushiol oxidase (EC 1.10.3.2), es una enzima oxidorreductasa multicobre; su sobreexpresión aumenta la lignificación, actúa como regulador clave del metabolismo de fenilpropanoides y de la señalización hormonal relacionada con función protectora, detoxificación y defensa (Hu et al., 2018; Janusz et al., 2020). En algodón (*Aphis gossypii*) se encontró que GhLac1 (una laccasa multicobre) afecta la arquitectura de la pared celular, el metabolismo secundario y la señalización hormonal de defensa (Hu et al., 2018).

El gen *Solyc05G002740* codifica a una acetil-CoA carboxilasa (ACC), la cual cataliza la carboxilación de acetil-CoA a malonil-CoA; esta se utiliza en diversas vías biosintéticas en el citosol incluidas las vías de elongación de ácidos grasos y de cera cuticular (Zhang et al., 2018). La cera cuticular es la primera barrera física con la que cuenta una planta ante un ataque por enfermedades, su composición química y ultraestructura tiene varias funciones; una es proteger plantas del estrés biótico y abiótico. Funciona contra la penetración fúngica (Lewandowska et al., 2020).

El gen *Solyc09G002882* está anotado como un transportador de nucleótidos-azúcar tipo SLC35A4. La familia SLC35 son transportadores esenciales para la glicosilación en el aparato de Golgi y el retículo endoplásmico y en particular la SLC35A4 también transporta proteínas asociadas a la defensa (Hadley et al. 2019).

Los genes *Solyc09G002158*, *Solyc09G002159*, *Solyc09G001240* y *Solyc09G000126* tienen dominios clasificados en la familia de inhibidores de la apoptosis con función ligasa E3 de ubiquitina. Los dedos de Zinc que tienen un dominio RING conservado desempeñan un papel importante en el buen desarrollo de las plantas y en respuestas a estreses abióticos (Han et al., 2022; Su et al., 2024). En estrés biótico E3 tipo RING participan en inmunidad basal y respuestas de tipo PTI y ETI (Su et al., 2024). Un ejemplo de la función

que tienen estas enzimas de demostró en avena se identificó a una ligasa E3 tipo RING funcional que actúa como un regulador positivo de la respuesta de hipersensibilidad inducida por la proteína RepA del virus del enanismo de la avena (ODV) (Liang et al. 2023).

El gen *Solyc09G001987* codifica la subunidad α de la enzima 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC) dependiente de biotina que participa en la degradación mitocondrial de leucina. La expresión de *MCC* es regulada por la interacción de señales ambientales y metabólicas que pueden ser provocadas por estrés biótico y abiótico y su función podría mantener el estado de carbono del organismo a través del catabolismo de la leucina (Che et al., 2002). En *Arabidopsis thaliana* ante el estrés por carbonato inducido con NaHCO_3 se validó el gen *AtMCCA*, que codifica la subunidad biotinilada de *MCC*; la sobreexpresión de este gen mostró mayor longitud de raíces y peso fresco (Wang et al., 2022).

Los genes *Solyc10G001476* y *Solyc05G000402* codifican una fosfatasa de tipo 2C (PP2C) que se caracteriza por desempeñar un papel fundamental en la modulación de múltiples vías de señalización, incluidas las implicadas en la inmunidad vegetal (Chakraborty et al. 2025). En tomate, se han encontrado 97 genes de la familia PP2C que responden a señales de inmunidad vegetal como reguladores negativos clave en la activación y duración de respuestas inmunes; actúan como PTI y ETI durante la infección de diversos patógenos (Sobol et al., 2022). Por otra parte, se han encontrado *PP2C* en tomate que actúa como regulador negativo de la inmunidad vegetal, suprimiendo la activación de MAPKs (Chakraborty et al. 2025).

El gen *Solyc01G000202* es una proteína perteneciente a la familia *HVA22* que regula procesos celulares bajo estrés a través del tráfico vesicular y la homeostasis del retículo endoplásmico (Chen et al., 2024; Wai et al., 2022). Se ha detectado expresión de genes *HVA22* ante la respuesta de estrés biótico y abiótico; en soya (*Glycine max*) se encontraron 6 genes (Chen et al., 2024); y en tomate genes *HVA22* tuvieron respuesta a estrés por salinidad, sequía, frío, calor y fitohormonas; en particular, los genes tuvieron una expresión alta en las raíces (Wai et al., 2022; Zhao et al., 2023).

El gen *Solyc01G000233*, es una enzima de la familia citocromo P450, específicamente del grupo CYP51, también conocida como obtusifoliol 14-demetilasa, clave en la ruta de biosíntesis de esteroides en hongos, plantas y animales (Rosam et al., 2021). La actividad de esta enzima es esencial para mantener la integridad y fluidez de la membrana celular (Rosam et al., 2021).

El gen *Solyc01G000234*, enzima acetiltransferasa de histonas (EC 2.3.1.48), pertenece a la familia de las histonas acetiltransferasas (HATs) tipo CBP/p300. La acetilación de histonas, regulada por HATs como CBP/p300, juegan un papel esencial en la activación transcripcional de genes en respuesta a estrés abiótico, promoviendo o reprimiendo genes clave según las condiciones ambientales y facilitan la adaptación a condiciones de estrés (Wang et al., 2024).

El gen *Solyc02G000683* identificado como una proteína transformer-2 (TRA2) codifica una proteína de unión a ARN con dominio RRM; se encarga de la exportación del ARN, estabilización y respuesta a temperaturas extremas, salinidad, hipoxia, etc. (Yan et al., 2022). La regulación post-transcripcional que incluye procesamiento, empalme, edición, exportación y degradación de ARN, es crítica en plantas. En *Arabidopsis thaliana* se demostró que un fragmento derivado de ARN de transferencia (tDR-Ala-5D) inducido por estrés por salinidad y la hormona ABA, interfiere directamente con la actividad del factor de empalme SR34, el cual posee dos dominios RRM en su extremo N-terminal frío (Cao, 2023).

El gen *Solyc04G002160* es una peroxidasa (EC 1.11.1.7) perteneciente a la familia de las peroxidasas clase III. Estas enzimas regulan niveles de ROS, participan en la lignificación de la pared celular y respuesta ante estrés biótico y abiótico (Li et al., 2024). En *A. thaliana*, las peroxidasas PRX33 y PRX34 fueron clave a la inmunidad contra patrones moleculares asociados a microbios (MAMPs) activados con *F. oxysporum* (Daudi et al., 2012). En papa (*S. tuberosum* L.), se encontraron 2 genes peroxidasa clase III (*StPRX41* y *StPRX57*) sensibles al estrés por sequía; con mayor expresión en raíces (Yang et al., 2020). En accesiones de melón (*Cucumis melo* L.), resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, la actividad de las peroxidasas aumentó 2.47

veces en comparación con los controles susceptibles, este aumento se correlacionó con una menor severidad de la enfermedad (Sadeghpour et al. 2022).

El gen *Solyc04G002558* es una peptidil-prolil cis-trans-isomerasa (EC 5.2.1.8) que participa en procesos celulares como el plegamiento de proteínas, señalización, degradación y la defensa de las plantas. Facilita la conformación funcional de proteínas de señalización clave y modula la expresión de especies reactivas de oxígeno y de genes de defensa (Olejnik et al. 2021). En *Nicotiana benthamiana* una peptidil-prolil cis-trans isomerasa interactuó con la proteína de movimiento del virus *ToLCNDV* e inhibió su replicación (Chang et al., 2022). También en manzano (*Malus × domestica*) se detectaron 38 genes FKBP que responden ante estrés abiótico provocado por sequía y salinidad (Dong et al., 2018).

El gen *Solyc04G002559* codifica para serina carboxipeptidasa (EC 3.4.16.6) tipo SCPL. Estas enzimas participan en diversos procesos fisiológicos, como el desarrollo vegetal, además son inducidas por estrés biótico o abiótico y generan respuestas ante este estrés, también son inducidas en la biosíntesis de metabolitos secundarios (Guan et al., 2024; He et al., 2024). Por ejemplo, en calabaza amarga (*Momordica charantia*) el gen *McSCPL22* de la familia de SCPL, está implicado en la resistencia a *F. oxysporum f. sp. momordicae* (Guan et al., 2024). En soja (*Glycine max*) la expresión de *GmSCPL* aumentó ante nematodos, NaCl y frío (He et al., 2024).

El gen *Solyc08G000227* codifica una hidrolasa NUDIX, enzima que cataliza la hidrólisis de nucleótidos difosfatados como ADP-ribosa y NADP, participando en la homeostasis redox y la detoxificación y la modulación de respuestas de defensa (Wang et al., 2022). En vid, genes *VvNUDX* participaron en la defensa mediada por ácido salicílico (SA) y presentan expresión diferencial en tejidos reproductivos y durante estrés biótico (Wang et al. (2022). En *A. thaliana*, el gen *AtNUDX8* actuó como un regulador positivo de la inmunidad mediada por ácido salicílico y su desactivación provocó mayor susceptibilidad a patógenos y reducción de tioredoxinas fundamentales para la activación redox de NPR1 (Fonseca & Dong 2014).

El gen *Solyc08G000228* asociado, codifica una proteína con dominios NB-ARC y repeticiones ricas en leucina (LRR). Las proteínas NB-ARC desempeñan un papel crucial en la resistencia contra enfermedades a través del reconocimiento de efectores patogénicos y activación de defensas como la HR (Afzal et al., 2022). En tomate el gen *I-2* que induce resistencia a *F. oxysporum* contiene dominios NB-ARC y LRR (Takken & Rep, 2010); en la soya se detectó la sobreexpresión de genes de resistencia NB-ARC y LRR en raíces bajo infección con la cepa patogénica FO40 de *F. oxysporum*, indicando una participación directa en la respuesta al estrés biótico (Afzal et al., 2022).

Solyc09G000038 codifica una proteína llamada major latex protein (MLP) o Bet v. involucrada en la unión y transporte de compuestos hidrofóbicos y se activan en respuesta al estrés tanto biótico como abiótico para después inducir genes PR (proteínas relacionadas con la defensa) para aumentar la resistencia de la planta (Fujita & Inui, 2021). Las MLPs viajan por todo el xilema y floema transportando esta señal de resistencia desde sitios infectados a otra parte de la planta (Fujita & Inui, 2021). En chícharo infectado por *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* las proteínas MLP (Bet v 1-like) participaron en una respuesta inmune temprana a *Fusarium* (Yadav et al., 2023). En contraste, en manzano (*Malus × domestica*) el gen *MdMLP423* actuó como regulador negativo de defensa contra infecciones fúngicas al suprimir la expresión de genes de defensa (He et al., 2020).

El gen identificado como *Solyc09G002632* codifica para una lipasa con dominio alpha/beta-hidrolasa y dominio C2, relacionados con procesos de señalización lipídica. Se ha demostrado que lípidos oxidados como los hidroperóxidos de ácidos grasos modifican la estructura de la membrana plasmática y generan una señal temprana de defensa en plantas (Deboever et al. 2021). Además, el dominio C2 permite la unión de fosfolípidos y participa en la transducción de señales para la defensa (Zhao et al., 2022). En maíz, proteínas ZmMCTP con dominios C2 se han detectado en la percepción del estrés en la planta (Zhao et al., 2022).

El gen *Solyc09G002633* asociado a ABC y IVD con efecto negativo en la evaluación en germinación y a C con efecto positivo en la evaluación en

plántula, fue localizado con el SNP 67316663. El gen codifica para una proteína quinasa tipo MAPKKK (MLTK). En tomate participan en rutas de defensa a través de la activación de ROS y otras vías hormonales como etileno y ácido jasmónico ante la exposición a estrés biótico y abiótico (Wu et al. 2014; Shi et al. 2025). En un análisis de asociación se identificaron 59 MAPKKKs bajo estrés por frío, calor, sequía y *P. cubensis*, la mayoría de los MAPKKK mostraron regulación transcripcional significativa (Wang et al., 2015).

El gen *Solyc03G001544*, asociado a INC y LR, y el *Solyc08G000228*, asociado a AF y LR, presentan dominios con repeticiones ricas en leucina, proteína de importancia en la defensa ante estrés y en la percepción de señales patogénicas que activan respuestas inmunes.

Los genes *Solyc09G002633*, *Solyc03G001544* y *Solyc08G000228* tienen mecanismos presentes en las dos etapas morfológicas evaluadas ante *F. oxysporum*. También, los genes asociados a los dominios WD40, NADP(H), las fosfatasas de tipo 2C (PP2C) y las ligasas de ubiquitina E3 con dominios ring se asociaron a las pruebas realizadas con *F. oxysporum* y *R. solani*. Estas regiones codificantes asociadas al estrés por enfermedades causadas por hongos deben ser consideradas como marcadores preferentes.

Los resultados obtenidos sugieren que la respuesta de líneas de tomate frente al ataque de *F. oxysporum* y *R. solani* involucran una red compleja y coordinada de mecanismos de defensa en las diferentes etapas evaluadas, pues se muestran diferentes reacciones ante las etapas de la patogénesis. Primero, hay detección del patógeno a través de receptores de reconocimiento, seguida por la activación de cascadas de señalización. Posteriormente, se desencadenan procesos de modulación epigenética y transcripcional que permiten la regulación fina de genes de defensa, al mismo tiempo se genera una respuesta oxidativa mediante la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y enzimas antioxidantes, además, la pared celular sufre modificaciones para contener el ataque por los patógenos o limitar su avance.

Los genes asociados identificados codifican proteínas involucradas en mecanismos de detoxificación, reparación del daño molecular, ajustes metabólicos y hay proteínas transportadoras que distribuyen señales y compuestos defensivos dentro de la planta contra el estrés. Estas reacciones identificadas de las funciones de los genes son concordantes con las observadas en un estudio transcriptómico frijol común ante la presencia de *F. oxysporum f. sp. phaseoli*, en donde se observó la sobre expresión de genes de defensa con diferentes funciones necesarias en la tolerancia de las plantas (Paulino et al., 2021). Dichas regiones deben ser consideradas en el mejoramiento genético del cultivo, ya que estas actúan conjuntamente en la defensa, y por su característica poligenética es difícil que el patógeno rebase de manera total, este tipo de respuestas (Robinson, 1996)

En conjunto, estos hallazgos no solo validan la utilidad del enfoque GWAS en condiciones de germinación y plántula ante *F. oxysporum* y *R. solani*, sino que también proporcionan genes candidatos prioritarios para su implementación en programas de selección asistida por marcadores (MAS) en el mejoramiento genético de tomate.

4.5 Conclusiones

Los SNP asociados a las variables evaluadas ante la presencia de *F. oxysporum* y *R. solani* pueden ser utilizados como marcadores diagnósticos.

Los genes con funciones asociadas al estrés causado por las enfermedades evaluadas deben ser validados en tomate. Se pueden derivar estudios de sobre expresión/silenciamiento para determinar su función específica.

Se localizaron genes iguales o con funciones parecidas en ambas etapas de evaluación y ante las diferentes enfermedades, genes que deben ser considerados en programas de mejoramiento genético.

La diversidad de funciones de los genes asociados a caracteres evaluados ante el ataque por *F. oxysporum* y *R. solani* revelan que en la defensa se involucran diversos procesos celulares dentro de los cuales está la percepción, transducción de señales, respuesta epigenética, mecanismos de reparación y detoxificación, y que estos mecanismos deben de ser

coordinados para una defensa eficiente ante un estrés por *F. oxysporum* y *R. solani*.

Los estudios de asociación permiten localizar SNPs y genes involucrados en la defensa del tomate ante *F. oxysporum* y *R. solani* que pueden ser útiles en programas de mejoramiento genético.

4.6 Referencias

- Afzal, M., Alghamdi, S. S., Nawaz, H., Migdadi, H. H., Altaf, M., El-Harty, E., Al-Fifi, S. A., & Sohaib, M. (2022). Genome-wide identification and expression analysis of CC-NB-ARC-LRR (NB-ARC) disease-resistant family members from soybean (*Glycine max* L.) reveal their response to biotic stress. *Journal of King Saud University - Science*, 34(2), Article 101758. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101758>
- Aizezi, Y., Yuan, Y., Xu, S. L., & Wang, Z. Y. (2025). A tale of two sugars: O-GlcNAc and O-fucose orchestrate growth, development, and acclimation in plants. *Trends in Biochemical Sciences*, 50(4), 332–343. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2025.01.003>
- Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). *Rhizoctonia solani*: Taxonomy, population biology and management of *Rhizoctonia* seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, 67(1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>
- Ajie, V. I. (2025). Genetic variability studies on *Solanum lycopersicum*. *Journal of Biology and Genetic Research*, 11(1), 19–43. <https://doi.org/10.56201/jbgr.vol.11.no1.2025.pg19.43>
- Albert, E., Segura, V., Gricourt, J., Bonnefoi, J., Derivot, L., & Causse, M. (2016). Association mapping reveals the genetic architecture of tomato response to water deficit: Focus on major fruit quality traits. *Journal of Experimental Botany*, 67(22), 6413–6430. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw411>
- 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>
- Bauchet, G., Grenier, S., Samson, N., & et al. (2017). Use of modern tomato breeding germplasm for deciphering the genetic control of agronomical traits by genome-wide association study. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(5), 875–889. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-2857-9>
- Bineau, E., Rambla, J. L., Priego-Cubero, S., Hereil, A., Bitton, F., Plissonneau, C., Granell, A., & Causse, M. (2021). Breeding tomato hybrids for flavour: Comparison of GWAS results obtained on lines and F1 hybrids. *Genes*, 12(9), Article 1443. <https://doi.org/10.3390/genes12091443>

- Bittner, A., Cieřla, A., Gruden, K., Lukan, T., Mahmud, S., Teige, M., Vothknecht, U. C., & Wurzinger, B. (2022). Organelles and phytohormones: A network of interactions in plant stress responses. *Journal of Experimental Botany*, 73(21), 7165–7181. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac384>
- Boursiac, Y., Lee, S. M., Romanowsky, S., Blank, R., Sladek, C., Chung, W. S., & Harper, J. F. (2010). Disruption of the vacuolar calcium-ATPases in *Arabidopsis* results in the activation of a salicylic acid-dependent programmed cell death pathway. *Plant Physiology*, 154(3), 1158–1171. <https://doi.org/10.1104/pp.110.159038>
- Cadahia López, C. (2005). *Fertirrigación: cultivos hortícolas, frutales y ornamentales*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Cao, D. (2023). Stress-induced tRNA fragments take action in alternative splicing in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 193(2), 877–879. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad416>
- Chakraborty, J., Sobol, G., Xia, F., Zhang, N., Martin, G. B., & Sessa, G. (2025). PP2C phosphatase Pic6 suppresses MAPK activation and disease resistance in tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 38(1), 43–49. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-24-0124-SC>
- Chang, H. H., Lee, C. H., Chang, C. J., & Jan, F. J. (2022). FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase interacts with the movement protein of tomato leaf curl New Delhi virus and impacts viral replication in *Nicotiana benthamiana*. *Molecular Plant Pathology*, 23(4), 561–575. <https://doi.org/10.1111/mpp.13181>
- Che, P., Wurtele, E. S., & Nikolau, B. J. (2002). Metabolic and environmental regulation of 3-methylcrotonyl-coenzyme A carboxylase expression in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 129(2), 625–637. <https://doi.org/10.1104/pp.001842>
- Chen, H., Chu, P., Zhou, Y., Li, Y., Liu, J., Ding, Y., Tsang, E. W. T., Jiang, L., Wu, K., & Huang, S. (2012). Overexpression of *AtOGG1*, a DNA glycosylase/AP lyase, enhances seed longevity and abiotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4107–4121. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers093>
- Chen, Q., Huang, L., Li, X., & et al. (2024). Comprehensive genome-wide analysis and expression profiling of the *HVA22* gene family unveils their potential roles in soybean responses to abiotic stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11531-4>
- Chitwood-Brown, J., Vallad, G. E., Lee, T. G., & Hutton, S. F. (2021). Breeding for resistance to *Fusarium* wilt of tomato: A review. *Genes*, 12(11), Article 1673. <https://doi.org/10.3390/genes12111673>
- D'Agostino, N., & Tripodi, P. (2017). NGS-based genotyping, high-throughput phenotyping and genome-wide association studies laid the foundations for next-generation breeding in horticultural crops. *Diversity*, 9(3), Article 38. <https://doi.org/10.3390/d9030038>
- 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>
- Daudi, A., Cheng, Z., O'Brien, J. A., Mammarella, N., Khan, S., Ausubel, F. M., & Bolwell, G. P. (2012). The apoplastic oxidative burst peroxidase in *Arabidopsis* is a major component of pattern-triggered immunity. *The Plant Cell*, 24(1), 275–287. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.093039>
- Deboever, E., Van Aubel, G., Rondelli, V., Koutsioubas, A., Mathelie-Guinlet, M., Dufrene, Y. F., ... & Deleu, M. (2021). Modulation of plant plasma membrane structure by exogenous fatty acid hydroperoxide is a potential perception mechanism for their eliciting activity. *Plant, Cell & Environment*, 45(4), 1082–1095. <https://doi.org/10.1111/pce.14239>
- Dmitriev, A. A., Krasnov, G. S., Rozhmina, T. A., Novakovskiy, R. O., Snezhkina, A. V., Fedorova, M. S., Yurkevich, O. Y., Muravenko, O. V., Bolsheva, N. L., Kudryavtseva, A. V., & Melnikova, N. V. (2017). Differential gene expression in response to *Fusarium oxysporum* infection in resistant and susceptible genotypes of flax (*Linum usitatissimum* L.). *BMC Plant Biology*, 17(Suppl 2), Article 253. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1192-2>
- Dong, Q., Mao, K., Duan, D., & et al. (2018). Genome-wide analyses of genes encoding FK506-binding proteins reveal their involvement in abiotic stress responses in apple. *BMC Genomics*, 19, Article 707. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5097-8>
- Egea, I., Estrada, Y., Flores, F. B., & Bolarín, M. C. (2022). Improving production and fruit quality of tomato under abiotic stress: Genes for the future of tomato breeding for a sustainable agriculture. *Environmental and Experimental Botany*, 204, Article 105086. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105086>
- Fonseca, J. P., & Dong, X. (2014). Functional characterization of a Nudix hydrolase *AtNUDX8* upon pathogen attack indicates a positive role in plant immune responses. *PLOS One*, 9(12), Article e114119. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114119>
- Fujita, K., & Inui, H. (2021). Biological functions of major latex-like proteins in plants. *Plant Science*, 306, Article 110856. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110856>
- Gondal, A. S., Rauf, A., & Naz, F. (2019). Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* associated with tomato foot rot in Pothohar Region of Pakistan. *Scientific Reports*, 9, Article 3910. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40043-5>
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, 55(1), 23–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
- Grin, I. R., Petrova, D. V., Endutkin, A. V., Ma, C., Yu, B., Li, H., & Zharkov, D. O. (2023). Base excision DNA repair in plants: *Arabidopsis* and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), Article 14746. <https://doi.org/10.3390/ijms241914746>
- Guan, F., Yang, X., Shi, B., Wang, K., Zhang, J., Xie, Y., & Wan, X. (2024). Genome-wide analysis of the serine carboxypeptidase-like (SCPL) protein family of

- bitter melon and functional validation of *McSCPL22* in *Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae* (FOM) resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(21), Article 11816. <https://doi.org/10.3390/ijms252111816>
- Gullner, G., Komives, T., Király, L., & Schröder, P. (2018). Glutathione S-transferase enzymes in plant-pathogen interactions. *Frontiers in Plant Science*, 9, Article 1836. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01836>
- Hadley, B., Litfin, T., Day, C. J., Haselhorst, T., Zhou, Y., & Tiralongo, J. (2019). Nucleotide sugar transporter SLC35 family structure and function. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 17, 1123–1134. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.08.002>
- Han, G., Qiao, Z., Li, Y., Yang, Z., Wang, C., Zhang, Y., Liu, L., & Wang, B. (2022). RING zinc finger proteins in plant abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 877011. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.877011>
- Hasan, N., Choudhary, S., Naaz, N., Sharma, N., & Laskar, R. A. (2021). Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), Article 128. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00231-1>
- He, L., Liu, Q., & Han, S. (2024). Genome-wide analysis of serine carboxypeptidase-like genes in soybean and their roles in stress resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), Article 6712. <https://doi.org/10.3390/ijms25126712>
- He, S., Yuan, G., Bian, S., Han, X., Liu, K., Cong, P., & Zhang, C. (2020). Major latex protein *MdMLP423* negatively regulates defense against fungal infections in apple. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), Article 1879. <https://doi.org/10.3390/ijms21051879>
- Hernández-Aparicio, F., Lisón, P., Rodrigo, I., Bellés, J. M., & López-Gresa, M. P. (2021). Signaling in the tomato immunity against *Fusarium oxysporum*. *Molecules*, 26(7), Article 1818. <https://doi.org/10.3390/molecules26071818>
- Hu, Q., Min, L., Yang, X., Jin, S., Zhang, L., Li, Y., Ma, Y., Qi, X., Li, D., Liu, H., Lindsey, K., Zhu, L., & Zhang, X. (2018). Laccase GhLac1 modulates broad-spectrum biotic stress tolerance via manipulating phenylpropanoid pathway and jasmonic acid synthesis. *Plant Physiology*, 176(2), 1808–1823. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01628>
- Husaini, A. M., Sakina, A., & Cambay, S. R. (2018). Host-pathogen interaction in *Fusarium oxysporum* infections: Where do we stand? *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(9), 889–898. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-17-0302-CR>
- Iqbal, N., Czekus, Z., Ördög, A., & Poór, P. (2023). Fusaric acid-evoked oxidative stress affects plant defence system by inducing biochemical changes at subcellular level. *Plant Cell Reports*, 43(1), Article 2. <https://doi.org/10.1007/s00299-023-03084-9>
- Jacob, F., Vernaldi, S., & Maekawa, T. (2013). Evolution and conservation of plant NLR functions. *Frontiers in Immunology*, 4, Article 297. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00297>

- Janusz, G., Pawlik, A., Świdorska-Burek, U., Polak, J., Sulej, J., Jarosz-Wilkolazka, A., & Paszczyński, A. (2020). Laccase properties, physiological functions, and evolution. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), Article 966. <https://doi.org/10.3390/ijms21030966>
- Ji, S., Yin, P., Li, T., & et al. (2025). Pan-WD40ome analysis of 26 diverse inbred lines reveals the structural and functional diversity of WD40 proteins in maize. *BMC Genomics*, 26, Article 181. <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11342-1>
- Kourelis, J., Sakai, T., Adachi, H., & Kamoun, S. (2021). RefPlantNLR is a comprehensive collection of experimentally validated plant disease resistance proteins from the NLR family. *PLOS Biology*, 19(10), Article e3001124. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001124>
- Lamichhane, J. R., Dürr, C., Schwanck, A. A., Robin, M. H., Sarthou, J. P., Cellier, V., Messéan, A., & Aubertot, J. N. (2017). Integrated management of damping-off diseases: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(1), Article 10. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0417-y>
- 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>
- Lata, S., Hussain, Z., Yadav, R. K., Jat, G. S., Kumar, P., & Tomar, B. S. (2024). Insights into the genetic improvement of tomato. In S. Tiwari & B. Koul (Eds.), *Genetic engineering of crop plants for food and health security* (pp. 164-184). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-97-3119-0_7
- Lee, H. Y., Seo, Y. E., Lee, J. H., Lee, S. E., Oh, S., Kim, J., ... & Choi, D. (2020). Plant NLR targets P-type ATPase for executing plasma membrane depolarization leading to calcium influx and cell death. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.08.30.274688>
- Lewandowska, M., Keyl, A., & Feussner, I. (2020). Wax biosynthesis in response to danger: Its regulation upon abiotic and biotic stress. *New Phytologist*, 227(3), 698–713. <https://doi.org/10.1111/nph.16571>
- 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, S., Zheng, H., Sui, N., & Zhang, F. (2024). Class III peroxidase: An essential enzyme for enhancing plant physiological and developmental processes by maintaining the ROS level: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 283(Part 3), Article 137331. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137331>
- Liang, Y., Wang, Z., Wang, Q., Zhou, X., & Qian, Y. (2023). The RING-finger protein NbRFP1 contributes to regulating the host hypersensitive response induced by Oat dwarf virus RepA. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), Article 7697. <https://doi.org/10.3390/ijms24097697>
- Lin, B., Qing, X., Liao, J., & Zhuo, K. (2020). Role of protein glycosylation in host-pathogen interaction. *Cells*, 9(4), Article 1022. <https://doi.org/10.3390/cells9041022>

- Melzer, M. S., Yu, H., Labun, T., Dickson, A., & Boland, G. J. (2016). Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. from field crops in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38(3), 367–374. <https://doi.org/10.1080/07060661.2016.1199596>
- Mutanwad, K. V., & Lucyshyn, D. (2022). Balancing O-GlcNAc and O-fucose in plants. *The FEBS Journal*, 289(11), 3086–3092. <https://doi.org/10.1111/febs.16038>
- Nikraftar, F., Taheri, P., Falahati Rastegar, M., & Tarighi, S. (2013). Tomato partial resistance to *Rhizoctonia solani* involves antioxidative defense mechanisms. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 81, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.11.004>
- Olejnik, P., Małdrzak, C. J., & Nuc, K. (2021). Cyclophilins and their functions in abiotic stress and plant–microbe interactions. *Biomolecules*, 11(9), Article 1390. <https://doi.org/10.3390/biom11091390>
- Paulino, J. F. C., Almeida, C. P., Bueno, C. J., Song, Q., Fritsche-Neto, R., Carbonell, S. A. M., Chiorato, A. F., & Benchimol-Reis, L. L. (2021). Genome-wide association study reveals genomic regions associated with Fusarium wilt resistance in common bean. *Genes*, 12(5), Article 765. <https://doi.org/10.3390/genes12050765>
- Rasmusson, A. G., Escobar, M. A., Hao, M., Podgórska, A., & Szal, B. (2020). Mitochondrial NAD(P)H oxidation pathways and nitrate/ammonium redox balancing in plants. *Mitochondrion*, 53, 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2020.05.010>
- Razifard, H., Ramos, A., Della Valle, A. L., Bodary, C., Goetz, E., Manser, E. J., Li, X., Zhang, L., Visa, S., Tieman, D., van der Knaap, E., & Caicedo, A. L. (2020). Genomic evidence for complex domestication history of the cultivated tomato in Latin America. *Molecular Biology and Evolution*, 37(4), 1118–1132. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz297>
- Rezk, A., Abhary, M., & Akhkha, A. (2021). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) breeding strategies for biotic and abiotic stresses. In J. M. Al-Khayri, S. M. Jain, & D. V. Johnson (Eds.), *Advances in plant breeding strategies: Vegetable crops* (pp. 363-405). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66961-4_10
- Robinson, R. A. (1996). *Return to resistance: Breeding crops to reduce pesticide dependence*. AgAccess.
- Rodriguez, M., Scintu, A., Posadinu, C. M., Xu, Y., Nguyen, C. V., Sun, H., Bitocchi, E., Bellucci, E., Papa, R., Fei, Z., Giovannoni, J. J., Rau, D., & Attene, G. (2020). GWAS based on RNA-Seq SNPs and high-throughput phenotyping combined with climatic data highlights the reservoir of valuable genetic diversity in regional tomato landraces. *Genes*, 11(11), Article 1387. <https://doi.org/10.3390/genes11111387>
- Rosam, K., Monk, B. C., & Lackner, M. (2021). Sterol 14 α -demethylase ligand-binding pocket-mediated acquired and intrinsic azole resistance in fungal pathogens. *Journal of Fungi*, 7(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/jof7010001>
- Rothan, C., Diouf, I., & Causse, M. (2019). Trait discovery and editing in tomato. *The Plant Journal*, 97(1), 73–90. <https://doi.org/10.1111/tpj.14152>

- Saberi Riseh, R., Gholizadeh Vazvani, M., Taheri, A., & Kennedy, J. F. (2024). Pectin-associated immune responses in plant-microbe interactions: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 273, Article 132790. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132790>
- Sadeghpour, N., Asadi-Gharneh, H. A., Nasr-Esfahani, M., Khankahdani, H. H., & Golabadi, M. (2022). Antioxidant enzymes associated with resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 in melon. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 121, Article 101880. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101880>
- Sakib, M. M., Islam, M. S., Bhuya, A. R., & et al. (2024). Genomic identification, evolutionary analysis, and transcript profiling of protein phosphatase 2C in *Solanum lycopersicum*. *Scientific Reports*, 14, Article 31742. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-82337-3>
- Sauvage, C., Segura, V., Bauchet, G., Stevens, R., Do, P. T., Nikoloski, Z., Fernie, A. R., & Causse, M. (2014). Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. *Plant Physiology*, 165(3), 1120–1132. <https://doi.org/10.1104/pp.114.241521>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Shi, Y., Zhang, Z., Yan, Z., Chu, H., & Luo, C. (2025). Tomato mitogen-activated protein kinase: Mechanisms of adaptation in response to biotic and abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 16, Article 1533248. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1533248>
- Sobol, G., Chakraborty, J., Martin, G. B., & Sessa, G. (2022). The emerging role of PP2C phosphatases in tomato immunity. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 35(9), 737–747. <https://doi.org/10.1094/MPMI-02-22-0037-CR>
- Strommer, J. (2011). The plant ADH gene family. *The Plant Journal*, 66(1), 128–142. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04458.x>
- Su, T., Xu, X., Li, X., Wei, H., Wu, H., Han, M., & Cao, F. (2024). Functional dissection of the PME and PME1 super families in the protection of *Populus pectin* during *Fusarium* wilt. *Industrial Crops and Products*, 209, Article 118056. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118056>
- Su, Y., Ngea, G. L. N., Wang, K., Lu, Y., Godana, E. A., Ackah, M., ... & Zhang, H. (2024). Deciphering the mechanism of E3 ubiquitin ligases in plant responses to abiotic and biotic stresses and perspectives on PROTACs for crop resistance. *Plant Biotechnology Journal*, 22(10), 2811–2843. <https://doi.org/10.1111/pbi.14407>
- Sun, T. P. (2021). Novel nucleocytoplasmic protein O-fucosylation by SPINDLY regulates diverse developmental processes in plants. *Current Opinion in Structural Biology*, 68, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.12.013>
- Takken, F., & Rep, M. (2010). The arms race between tomato and *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 11(2), 309–314. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00605.x>

- Tibbs Cortes, L., Zhang, Z., & Yu, J. (2021). Status and prospects of genome-wide association studies in plants. *The Plant Genome*, 14(1), Article e20077. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20077>
- Wahibah, N. N., Tsutsui, T., Tamaoki, D., Sato, K., & Nishiuchi, T. (2018). Expression of barley *Glutathione S-Transferase13* gene reduces accumulation of reactive oxygen species by trichothecenes and paraquat in *Arabidopsis* plants. *Plant Biotechnology* (Tokyo), 35(1), 71–79. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.18.0205a>
- Wai, A. H., Waseem, M., Cho, L. H., Kim, S. T., Lee, D. J., Kim, C. K., & Chung, M. Y. (2022). Comprehensive genome-wide analysis and expression pattern profiling of the *SIHVA22* gene family unravels their likely involvement in the abiotic stress adaptation of tomato. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), Article 12222. <https://doi.org/10.3390/ijms232012222>
- Wang, F., Li, C. H., Liu, Y., He, L. F., Li, P., Guo, J. X., Zhang, N., Zhao, B., & Guo, Y. D. (2024). Plant responses to abiotic stress regulated by histone acetylation. *Frontiers in Plant Science*, 15, Article 1404977. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1404977>
- 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, J., Pan, C., Wang, Y., & et al. (2015). Genome-wide identification of MAPK, MAPKK, and MAPKKK gene families and transcriptional profiling analysis during development and stress response in cucumber. *BMC Genomics*, 16, Article 386. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1621-2>
- Wang, P. P., Wang, Z. K., Guan, L., Haider, M. S., Nasim, M., Yuan, Y. B., Liu, G. S., & Leng, X. P. (2022). Versatile physiological functions of the Nudix hydrolase family in berry development and stress response in grapevine. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(1), 91–112. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63490-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63490-6)
- Wang, Y., Ye, X., Takano, T., Liu, S., & Bu, Y. (2022). Biotinylated subunit of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase encoding gene (*AtMCCA*) participating in *Arabidopsis* resistance to carbonate stress by transcriptome analysis. *Plant Science*, 315, Article 111130. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111130>
- Wu, J., Wang, J., Pan, C., Guan, X., Wang, Y., Liu, S., & et al. (2014). Genome-wide identification of MAPKK and MAPKKK gene families in tomato and transcriptional profiling analysis during development and stress response. *PLOS One*, 9(7), Article e103032. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103032>
- Yadav, P., Sharma, K., Tiwari, N., & et al. (2023). Comprehensive transcriptome analyses of *Fusarium*-infected root xylem tissues to decipher genes involved in chickpea wilt resistance. *3 Biotech*, 13, Article 390. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03803-9>

- Yan, C., Yang, T., Wang, B., Yang, H., Wang, J., & Yu, Q. (2023). Genome-wide identification of the WD40 gene family in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Genes*, 14(6), Article 1273. <https://doi.org/10.3390/genes14061273>
- Yan, Y., Gan, J., Tao, Y., Okita, T. W., & Tian, L. (2022). RNA-binding proteins: The key modulator in stress granule formation and abiotic stress response. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 882596. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.882596>
- Yang, T., Liu, J., Li, X., Amanullah, S., Lu, X., Zhang, M., Zhang, Y., Luan, F., Liu, H., & Wang, X. (2022). Transcriptomic analysis of *Fusarium oxysporum* stress-induced pathosystem and screening of *For-2* interaction factors in contrasted melon plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 961586. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.961586>
- Yang, X., Yuan, J., Luo, W., Qin, M., Yang, J., Wu, W., & Xie, X. (2020). Genome-wide identification and expression analysis of the class III peroxidase gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Frontiers in Genetics*, 11, Article 593577. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.593577>
- Zenda, T., Liu, S., Dong, A., Li, J., Wang, Y., Liu, X., Wang, N., & Duan, H. (2021). Omics-facilitated crop improvement for climate resilience and superior nutritive value. *Frontiers in Plant Science*, 12, Article 774994. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.774994>
- Zhang, C. L., Mao, K., Zhou, L. J., Wang, G. L., Zhang, Y. L., Li, Y. Y., & Hao, Y. J. (2018). Genome-wide identification and characterization of apple long-chain acyl-CoA synthetases and expression analysis under different stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 320–332. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.004>
- Zhang, H., Wang, S., Li, O., & et al. (2024). Genome-wide identification of alcohol dehydrogenase (ADH) gene family in oilseed rape (*Brassica napus* L.) and *BnADH36* functional verification under salt stress. *BMC Plant Biology*, 24, Article 1013. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05716-y>
- Zhao, L., Wang, B., Yang, T., Yan, H., Yu, Q., & Wang, J. (2023). Genome-wide identification and analysis of the evolution and expression pattern of the *HVA22* gene family in three wild species of tomatoes. *PeerJ*, 11, Article e14844. <https://doi.org/10.7717/peerj.14844>
- Zhao, Y., Qin, Q., Chen, L., & et al. (2022). Characterization and phylogenetic analysis of multiple C2 domain and transmembrane region proteins in maize. *BMC Plant Biology*, 22, Article 388. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03771-x>
- Zhu, Q., Han, Y., Yang, W., Zhu, H., Li, G., Xu, K., & Long, M. (2023). Genome-wide identification and characterization of ADH gene family and the expression under different abiotic stresses in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Frontiers in Genetics*, 14, Article 1186192. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1186192>
- Zhuo, M., Liu, S., Li, C., & Hu, W. (2024). Research progress on *Fusarium* mycotoxins in plant and pathogen interactions. *Guangdong Agricultural Sciences*, 51(3), 56–69. <https://doi.org/10.16768/j.issn.1004-874X.2024.03.006>

4.7 ANEXOS

Cuadro 1A. SNP significativos de 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante germinación ante *Fusarium oxysporum*

Variable	SNP	Chr	Pos	Valor p	$-\log_{10}(p)$	MAF	Valor p de H&B	Efecto	Alelos
ABC	SNP_3412	4	8261752	0.0005	3.33	0.19	0.71	15.09	A/C
ABC	SNP_3881	4	53201810	0.0009	3.04	0.13	0.71	-13.74	T/A
ABC	SNP_3883	4	53201818	0.0003	3.57	0.10	0.71	-17.51	C/A
ABC	SNP_9490	9	67316663	0.0006	3.25	0.38	0.71	-17.00	T/A
ABC	SNP_10708	11	5740067	0.0003	3.59	0.06	0.71	-23.76	T/A
ABC	SNP_12293	12	15554015	0.0008	3.10	0.44	0.71	-8.78	A/C
GER	SNP_986	1	57795312	0.0007	3.19	0.05	0.90	0.12	G/A
GER	SNP_1739	2	17165518	0.0006	3.25	0.16	0.90	-0.10	A/C
GER	SNP_5802	6	3488013	0.0005	3.29	0.06	0.90	-0.16	A/C
GER	SNP_6230	6	26551124	0.0008	3.09	0.26	0.90	-0.07	A/C
INC	SNP_1915	2	34093897	0.0003	3.48	0.16	0.57	9.50	G/T
INC	SNP_2560	3	22959080	0.0010	3.01	0.06	0.57	-12.19	G/C
INC	SNP_2567	3	23866218	0.0009	3.03	0.06	0.57	-11.86	C/T
INC	SNP_2588	3	24819069	0.0010	3.01	0.06	0.57	-12.19	G/A
INC	SNP_2712	3	33105431	0.0006	3.25	0.08	0.57	-10.96	G/A
INC	SNP_2763	3	36134548	0.0004	3.39	0.07	0.57	-11.37	G/C
INC	SNP_2817	3	41041388	0.0010	3.01	0.06	0.57	-12.19	A/T
INC	SNP_2877	3	45992869	0.0006	3.23	0.05	0.57	-14.02	C/A
INC	SNP_2882	3	46392395	0.0010	3.01	0.06	0.57	-12.19	C/A
INC	SNP_5620	5	62443003	0.0006	3.23	0.06	0.57	-11.87	T/A
INC	SNP_9572	9	69218727	0.0008	3.11	0.06	0.57	-13.49	T/C
INC	SNP_10995	11	23965309	0.0003	3.55	0.45	0.57	-5.40	C/G
IVD	SNP_1915	2	34093897	0.0004	3.41	0.16	0.73	0.49	G/T
IVD	SNP_3412	4	8261752	0.0009	3.04	0.19	0.73	0.53	A/C
IVD	SNP_3883	4	53201818	0.0008	3.10	0.10	0.73	-0.62	C/A
IVD	SNP_9490	9	67316663	0.0006	3.24	0.38	0.73	-0.64	T/A
IVD	SNP_10708	11	5740067	0.0009	3.07	0.06	0.73	-0.80	T/A
IVG	SNP_618	1	32594225	0.0004	3.41	0.09	0.94	-0.17	A/C
IVG	SNP_972	1	56939793	0.0003	3.48	0.08	0.94	0.18	C/A
IVG	SNP_8154	8	39550944	0.0009	3.06	0.07	0.94	0.17	C/A
IVG	SNP_9362	9	62759863	0.0006	3.21	0.21	0.94	0.11	T/A
LP	SNP_512	1	26048685	0.0002	3.74	0.06	0.84	0.20	A/C
LP	SNP_2441	3	15226840	0.0008	3.12	0.27	0.88	0.12	T/G
LP	SNP_4593	5	13409106	0.0008	3.07	0.15	0.88	0.13	G/T
LP	SNP_4674	5	16485952	0.0002	3.60	0.44	0.85	0.10	G/T
LP	SNP_8699	9	8497523	0.0001	3.99	0.06	0.71	-0.22	A/T
LP	SNP_8990	9	34755615	0.0003	3.52	0.18	0.85	-0.14	G/T
LP	SNP_10279	10	46403778	0.0010	3.00	0.08	0.88	0.16	A/C
LP	SNP_10857	11	13181795	9.6x10 ⁻⁵	4.02	0.08	0.71	-0.19	A/C
LRA	SNP_1384	1	86106900	0.0010	3.00	0.48	0.27	0.40	C/G
LRA	SNP_2364	3	8469010	0.0008	3.12	0.07	0.27	0.55	G/A
LRA	SNP_2373	3	9251927	0.0002	3.68	0.05	0.27	0.73	G/A
LRA	SNP_2401	3	10659356	0.0008	3.12	0.07	0.27	0.55	G/A

LRA	SNP_2414	3	11823187	0.0001	3.95	0.06	0.27	0.75	A/C
LRA	SNP_2425	3	12757397	7.6x10 ⁻⁵	4.12	0.06	0.27	0.71	G/A
LRA	SNP_2437	3	14681511	0.0005	3.34	0.06	0.27	0.68	T/C
LRA	SNP_2483	3	17729519	0.0002	3.73	0.06	0.27	0.68	G/A
LRA	SNP_2485	3	18165050	0.0009	3.05	0.09	0.27	0.51	T/C
LRA	SNP_2487	3	18183810	0.0004	3.40	0.08	0.27	0.58	C/G
LRA	SNP_2496	3	19091054	0.0004	3.42	0.05	0.27	0.69	A/G
LRA	SNP_2506	3	19356345	0.0007	3.13	0.06	0.27	0.62	G/A
LRA	SNP_2547	3	22131221	0.0002	3.68	0.05	0.27	0.73	G/A
LRA	SNP_2556	3	22727153	0.0002	3.64	0.07	0.27	0.66	T/A
LRA	SNP_2560	3	22959080	0.0006	3.22	0.06	0.27	0.63	G/C
LRA	SNP_2563	3	23402400	0.0008	3.12	0.07	0.27	0.55	A/T
LRA	SNP_2567	3	23866218	0.0009	3.05	0.06	0.27	0.59	C/T
LRA	SNP_2588	3	24819069	0.0006	3.22	0.06	0.27	0.63	G/A
LRA	SNP_2615	3	27679474	0.0003	3.58	0.07	0.27	0.61	G/A
LRA	SNP_2776	3	37223832	0.0009	3.06	0.09	0.27	0.57	T/A
LRA	SNP_2778	3	37449597	0.0008	3.12	0.07	0.27	0.55	A/G
LRA	SNP_2785	3	37744272	0.0006	3.25	0.08	0.27	0.60	C/T
LRA	SNP_2797	3	38579030	0.0006	3.25	0.08	0.27	0.60	T/C
LRA	SNP_2803	3	39198919	0.0006	3.25	0.08	0.27	0.60	G/C
LRA	SNP_2807	3	39547836	0.0002	3.66	0.06	0.27	0.68	G/A
LRA	SNP_2811	3	39944144	0.0001	3.83	0.07	0.27	0.64	A/T
LRA	SNP_2813	3	40714212	0.0009	3.03	0.07	0.27	0.54	T/A
LRA	SNP_2814	3	40879193	0.0008	3.12	0.07	0.27	0.55	A/T
LRA	SNP_2817	3	41041388	0.0006	3.22	0.06	0.27	0.63	A/T
LRA	SNP_2827	3	42057217	6.9x10 ⁻⁵	4.16	0.06	0.27	0.74	C/T
LRA	SNP_2841	3	43474513	0.0008	3.12	0.07	0.27	0.55	G/A
LRA	SNP_2863	3	45274701	0.0006	3.25	0.08	0.27	0.60	T/C
LRA	SNP_2868	3	45544742	0.0007	3.16	0.05	0.27	0.63	C/T
LRA	SNP_2882	3	46392395	0.0006	3.22	0.06	0.27	0.63	C/A
LRA	SNP_2884	3	46787819	0.0006	3.21	0.06	0.27	0.65	A/T
LRA	SNP_2888	3	47145762	0.0008	3.12	0.07	0.27	0.55	T/A
LRA	SNP_5165	5	39997134	0.0008	3.09	0.10	0.27	0.58	T/G
LRA	SNP_5691	5	65453337	0.0008	3.12	0.22	0.27	-0.45	T/G
LRA	SNP_7913	8	17331775	0.0007	3.14	0.05	0.27	0.76	T/G
LRA	SNP_8119	8	37901294	0.0003	3.49	0.40	0.27	-0.63	G/T
LRA	SNP_8521	9	612344	0.0008	3.10	0.22	0.27	-0.33	T/G
LRA	SNP_8525	9	667106	0.0006	3.25	0.20	0.27	-0.35	A/G
LRA	SNP_9310	9	60060061	0.0009	3.03	0.15	0.27	-0.49	A/T
LTO	SNP_8699	9	8497523	0.0004	3.45	0.06	0.77	-0.33	A/T
LTO	SNP_10857	11	13181795	0.0003	3.58	0.08	0.77	-0.27	A/C
PS	SNP_4227	4	65742245	0.0008	3.10	0.16	0.86	-0.16	G/T
PS	SNP_8764	9	14370064	0.0006	3.21	0.19	0.86	-0.15	T/A
PS	SNP_9058	9	40825480	0.0005	3.27	0.17	0.86	-0.14	T/A
PS	SNP_10857	11	13181795	0.0006	3.20	0.08	0.86	-0.20	A/C

GER, germinación; IVG, índice de velocidad de germinación; IVD, índice de velocidad de daño; INC, incidencia; ABC, área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS, peso seco; LP, longitud de plúmula; LRA, longitud de la radícula; LTO, longitud total; Chr: cromosoma; Pos: posición; MAF: frecuencia de alelos menores.

Cuadro 2A. SNP significativos de 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante etapa de plántula ante *Fusarium oxysporum*

Variable	SNP	Chr	Pos	Valor p	$-\log_{10}(p)$	MAF	Valor p de H&B.	Efecto	Alelos
AF	SNP_50	1	1952524	0.0008	3.10	0.25	1.00	0.11	C/A
AF	SNP_7047	7	24243418	0.0010	3.01	0.15	1.00	0.15	T/G
AF	SNP_8327	8	56352408	0.0006	3.21	0.13	1.00	0.16	G/T
AF	SNP_7765	8	1879820	0.0009	3.05	0.27	1.00	-0.14	C/A
APF	SNP_7752	8	1436089	0.0003	3.46	0.24	1.00	0.08	G/T
APF	SNP_13266	12	44996088	0.0009	3.06	0.46	1.00	0.13	C/A
C	SNP_1200	1	74943119	0.0008	3.07	0.37	0.96	0.03	T/A
C	SNP_60	1	2264610	0.0010	3.02	0.06	0.96	-0.09	A/C
C	SNP_3340	4	3811422	0.0008	3.08	0.10	0.96	0.08	G/T
C	SNP_9489	9	67316662	0.0002	3.69	0.49	0.96	0.14	C/A
C	SNP_13548	12	54054558	0.0002	3.79	0.12	0.96	0.08	T/G
LR	SNP_1770	2	18862215	0.0006	3.22	0.19	1.00	0.07	T/A
LR	SNP_4131	4	63682549	0.0009	3.03	0.30	1.00	0.07	G/T
LR	SNP_5819	6	3564137	1.1×10^{-5}	4.94	0.06	0.16	0.14	A/C
LR	SNP_7046	7	24243411	0.0004	3.43	0.42	1.00	0.10	A/C
LR	SNP_7201	7	37024091	0.0009	3.04	0.10	1.00	0.09	T/G
LR	SNP_7765	8	1879820	0.0008	3.08	0.27	1.00	-0.07	C/A
PSA	SNP_8610	9	2909869	5.3×10^{-6}	5.27	0.49	0.07	-1.54	C/A
PSA	SNP_8513	9	346594	0.0005	3.28	0.20	0.95	0.18	T/C
PSA	SNP_9982	10	23304658	6.8×10^{-5}	4.16	0.10	0.48	0.35	T/G
PSA	SNP_10271	10	45588787	0.0001	3.89	0.21	0.59	0.17	C/T
PSA	SNP_9952	10	21468116	0.0004	3.44	0.22	0.95	0.16	A/G
PSR	SNP_1980	2	38889005	0.0010	3.00	0.11	0.91	0.33	C/A
PSR	SNP_7539	7	59711056	0.0005	3.31	0.49	0.91	-0.72	A/C
PSR	SNP_8025	8	30369272	0.0006	3.20	0.10	0.91	0.36	A/C
PSR	SNP_8610	9	2909869	1.7×10^{-5}	4.75	0.49	0.13	-1.80	C/A
PSR	SNP_9102	9	45111219	0.0010	3.00	0.05	0.91	0.37	A/C
PSR	SNP_10910	11	15645969	0.0003	3.50	0.07	0.91	0.43	A/C
PSR	SNP_12294	12	15711635	1.8×10^{-5}	4.73	0.08	0.13	-0.50	T/A
SPAD	SNP_837	1	49036804	0.0008	3.12	0.16	1.00	-0.04	G/T
SPAD	SNP_1911	2	33639999	0.0003	3.48	0.36	1.00	0.04	G/C
SPAD	SNP_4003	4	59802168	0.0008	3.12	0.49	1.00	-0.05	C/A
SPAD	SNP_4505	5	9971665	0.0009	3.06	0.36	1.00	0.02	T/G
SPAD	SNP_7532	7	59361121	0.0002	3.72	0.12	1.00	0.05	T/G
SPAD	SNP_7500	7	58431252	0.0007	3.13	0.46	1.00	-0.02	A/G
SPAD	SNP_11597	11	48951911	0.0005	3.28	0.18	1.00	-0.04	C/A
SPAD	SNP_11774	11	57263865	0.0008	3.11	0.12	1.00	-0.04	G/T
SPAD	SNP_12238	12	13725509	0.0009	3.04	0.37	1.00	-0.04	T/G

FV: fuente de variación; APF: altura de planta; C: tasa de crecimiento; AF: área foliar; LR: largo de raíz; PSA: peso seco aéreo; PSR: peso seco de raíz; SPAD unidades SPAD.

Cuadro 3A. SNPs significativos de 95 líneas de tomate (*Solanum lycopersicum*) durante germinación ante *Rhizoctonia solani*.

Variable	SNP	Chr	Pos	Valor p	$-\log_{10}(p)$	MAF	Valor p de H&B	Efecto	Alelos
ABC	SNP_1623	2	9628045	0.0003	3.50	0.33	0.87	13.49	T/G
ABC	SNP_7274	7	41091175	0.0006	3.23	0.20	0.87	12.39	C/G
ABC	SNP_12877	12	34761218	0.0002	3.71	0.18	0.87	-11.81	T/G
ABC	SNP_12274	12	15059572	0.0005	3.34	0.44	0.87	-7.36	C/A

GER	SNP_2987	3	55594957	2.4x10 ⁻⁵	4.60	0.08	0.35	-0.20	G/T
GER	SNP_4346	5	3292250	0.0010	3.00	0.20	0.89	-0.12	G/T
GER	SNP_7168	7	34417080	0.0006	3.26	0.26	0.89	-0.12	C/A
GER	SNP_9289	9	59053791	0.0004	3.35	0.13	0.89	-0.13	A/T
GER	SNP_10035	10	28293882	0.0004	3.37	0.05	0.89	0.17	C/G
INC	SNP_2987	3	55594957	0.0006	3.22	0.08	0.99	-20.76	G/T
INC	SNP_3607	4	29405085	0.0009	3.06	0.11	0.99	-18.33	C/A
INC	SNP_4962	5	31980782	0.0009	3.04	0.06	0.99	-22.85	A/T
IVD	SNP_1623	2	9628045	0.0003	3.51	0.33	0.93	0.59	T/G
IVD	SNP_3607	4	29405085	0.0010	3.01	0.11	0.93	-0.63	C/A
IVD	SNP_12877	12	34761218	0.0004	3.45	0.18	0.93	-0.51	T/G
IVG	SNP_2987	3	55594957	3.9x10 ⁻⁵	4.40	0.08	0.55	-0.19	G/T
IVG	SNP_3269	4	1113081	0.0010	3.01	0.46	0.93	0.07	A/T
IVG	SNP_6114	6	22236528	0.0003	3.46	0.09	0.93	-0.15	G/T
IVG	SNP_9289	9	59053791	0.0010	3.01	0.13	0.93	-0.12	A/T
IVG	SNP_9982	10	23304658	0.0009	3.04	0.09	0.93	-0.14	T/G
IVG	SNP_11550	11	47709061	0.0008	3.10	0.12	0.93	0.13	T/G
LP	SNP_1607	2	9413759	0.0002	3.61	0.32	0.98	-0.15	A/C
LP	SNP_4406	5	6276409	0.0004	3.38	0.29	0.98	0.15	A/T
LP	SNP_7154	7	33256219	0.0005	3.30	0.07	0.98	-0.20	A/C
LP	SNP_8540	9	996047	0.0002	3.81	0.06	0.98	0.23	A/C
LRA	SNP_2129	2	48954321	0.0001	3.99	0.23	0.95	0.12	T/G
LRA	SNP_3846	4	48923269	0.0005	3.31	0.27	0.95	0.11	G/T
LRA	SNP_8079	8	35059313	0.0007	3.14	0.13	0.95	0.12	G/C
LRA	SNP_9341	9	61901744	0.0005	3.29	0.28	0.95	0.09	T/G
LTO	SNP_1176	1	73625401	0.0005	3.27	0.43	0.98	0.08	T/A
LTO	SNP_1607	2	9413759	0.0001	3.95	0.32	0.98	-0.14	A/C
LTO	SNP_7154	7	33256219	0.0005	3.26	0.07	0.98	-0.17	A/C
LTO	SNP_10192	10	40146990	0.0005	3.34	0.39	0.98	0.10	T/G
LTO	SNP_10988	11	23694371	0.0009	3.03	0.08	0.98	-0.16	A/C
PS	SNP_3392	4	6235732	0.0010	3.01	0.13	0.95	0.14	T/A
PS	SNP_7933	8	19899992	0.0008	3.10	0.08	0.95	0.14	C/A

GER, germinación; IVG, índice de velocidad de germinación; IVD, índice de velocidad de daño; INC, incidencia; ABC, área bajo la curva del progreso de la enfermedad; PS, peso seco; LP, longitud de plúmula; LRA, longitud de la radícula; LTO, longitud total; Chr: cromosoma; Pos: posición; MAF: frecuencia de alelos menores.