



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Campo Experimental Villarino C.C. N° 14
S2125ZAA | Zavalla | Santa Fe | Argentina
Tel/Fax: +54 0341 497-0080
www.fcagr.unr.edu.ar
agro@unr.edu.ar



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, TRANSCRIPTÓMICA Y METABÓLICA DE CINCO
CULTIVARES DE TOMATE DISCREPANTES PARA CARACTERES DE FRUTO Y SU
COMPORTAMIENTO EN CONDICIÓN HÍBRIDA**

AGUSTINA PAULA FORTUNY

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS

DIRECTOR: Dra. M. Inés Zanor

CO-DIRECTOR: Dr. Gustavo R. Rodríguez

2022

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, TRANSCRIPTÓMICA Y METABÓLICA DE CINCO CULTIVARES DE TOMATE DISCREPANTES PARA CARACTERES DE FRUTO Y SU COMPORTAMIENTO EN CONDICIÓN HÍBRIDA.

Agustina Paula Fortuny

Ingeniera Agrónoma – Universidad Nacional de Rosario

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, durante el período comprendido entre mayo 2017 y junio 2022, bajo la dirección de la Dra. María Inés Zanor y la co-dirección del Dr. Gustavo Rubén Rodríguez.

Ing. Agr. Agustina P. Fortuny

Nombre y firma del Doctorando

Bioq. (Dra.) M. Inés Zanor

Nombre y firma del Director

Ing. Agr. (Dr.) Gustavo R. Rodríguez

Nombre y firma del Co-Director

Defendida:de 2022.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora, la Dra. M. Inés Zanor, y mi co-director, el Dr. Gustavo R. Rodríguez, por haberme ayudado a transitar esta etapa de una manera tan linda, por dejarme y motivarme a crecer, ya sea en lo laboral como en la vida misma. Por enseñarme con paciencia, por confiar en mí y apoyarme en mis decisiones.

Al Dr. Javier H. Pereira da Costa, por ser quien me guió en mis primeros pasos en el laboratorio, por su constante disposición y por la valiosa discusión de resultados.

Al grupo Metabolismo y Señalización en plantas del Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR) (el lab 2) en donde aprendí muchísimo y no pasé un día sin risas (y música).

A todos los integrantes de la cátedra de Genética de la Facultad de Cs. Agrarias UNR (FCA-UNR), y en particular al grupo Genética y Mejoramiento de Tomate del Instituto de Investigaciones en Cs. Agrarias de Rosario (IICAR) (alias Mini tomate), por ser un grupo tan excelente, con tan buenas personas y siempre abiertas a ayudar e intercambiar.

A todos mis compañeros de becarios del IICAR y del IBR, pero en particular a Mel, Danita, Luci, Pauli, Marita y Shir (las Genetic Girls) que se convirtieron en grandes amigas y que, sin duda, sin ellas no hubiera sido lo mismo.

A la cátedra de Biología de la FCA-UNR, por permitirme insertarme en la docencia, en donde he aprendido mucho y he podido compartir mis conocimientos y experiencias.

A David Balaban y Rodolfo Grasso (alias Rolo), por construirme, en un ratito, un invernadero provisorio para que no mueran mis plantitas.

A mis papás y mis hermanos, por su eterno apoyo y ayuda.

A Pu, Juanita y Nala, por ser mi cable a tierra y por estar siempre presentes.

A la Fundación de Ciencias Agrarias de la UNR, a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por otorgar las becas y el financiamiento necesario para llevar adelante mi proyecto de Tesis doctoral.

A la Secretaría de Posgrado de la FCA-UNR por su constante predisposición.

Y por último... agradezco a la vida (o destino) por haberme puesto en este lugar, por darme la oportunidad de crecer tanto y dejarme conocer a personas tan increíbles que recordaré por siempre.

En la diversidad está la riqueza ...

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

Artículos científicos publicados en revistas revisadas por pares

- Fortuny AP; Mengarelli DA; Pereira da Costa JH; Rodríguez GR, Zanor MI. 2023. Reciprocal effect and heterosis for tomato fruit metabolites revealed by whole transcriptomic analysis of two cultivars and their reciprocal hybrids. *Scientia Horticulturae* 308, 111583.
- Fortuny AP, Bueno RA, Pereira da Costa JH, Zanor MI, Rodríguez GR. 2021. Tomato fruit quality traits and metabolite content are affected by reciprocal crosses and heterosis. *Journal of Experimental Botany* 72, 5407–5425.

Trabajos presentados en reuniones y congresos científicos

- Fortuny AP, Mengarelli DA, Pereira da Costa JH, Rodríguez GR, Zanor MI. 2021. Transcriptome analysis of two tomato genotypes and their hybrids. RAFV Conference 2021, XXXIII Argentinian meeting of Plant Physiology, (Reunión Argentina de Fisiología Vegetal), 13 al 17 de septiembre 2021, Santa Fe, Argentina (on line).
- Fortuny AP, Bueno RA, Pereira da Costa JH, Zanor MI; Rodríguez GR. 2020. Heterosis and reciprocal effects on agronomic traits and metabolites in tomato fruits. SOL International Online Meeting 2020, 9 al 11 de noviembre 2020.
- Fortuny AP, Bueno RA, Pereira da Costa JH, Rodríguez GR, Zanor MI. 2019. Efecto del genotipo y el ambiente sobre caracteres metabólicos y agronómicos de frutos de tomate. XVII Congreso Latinoamericano de Genética, XLVII Congreso Argentino de Genética, LII Reunión Anual de la Sociedad de Genética de Chile, VI Congreso de la Sociedad Uruguaya de Genética, V Congreso Latinoamericano de Genética Humana y V Simposio Latinoamericano de Citogenética y Evolución, Mendoza, Argentina, desde el 6 al 9 de octubre de 2019. E-ISSN: 1852-6233
- Fortuny AP, Bueno RA, Pereira da Costa JH, Rodríguez GR, Zanor MI. 2018. Agronomic and metabolic fruit traits characterization of five tomato cultivars and their performance in hybrid condition. International Congress of Genetics, Foz do Iguacu, Brazil desde el 10 al 14 de septiembre de 2018. ISBN: 978-85-89109-06-2

ÍNDICE

	Pág.
Agradecimientos	
Publicaciones y Presentaciones a Congresos	
Índice	1
Abreviaturas y Símbolos	2
Resumen	5
Abstract	7
Introducción	8
Hipótesis, objetivos generales y objetivos específicos	18
Materiales y métodos	19
Resultados	35
Análisis de datos fenotípicos en los genotipos parentales	35
Análisis de datos fenotípicos del cruzamiento dialélico	41
Caracterización transcriptómica por cDNA-AFLP de cuatro cruzamientos seleccionados e integración con otras ómicas	64
Caracterización del cruzamiento Querubín FCA – Gema FCA por RNA-seq e integración con datos de metabolómica	70
Discusión	85
Conclusiones y consideraciones finales	102
Bibliografía	104
Anexos	120

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ANGLISISMOS

¹H-NMR: proton nuclear magnetic resonance (resonancia magnética nuclear de protón)

xg: fuerza centrífuga relativa

µg/gPF: microgramo por gramo de peso fresco

a*/b*: relación entre absorbancia a 540 nm (a) y 675 nm (b)

ANOVA: *Analysis of variance* (análisis de la varianza)

BPH: *best parent heterosis* (heterosis contra el mejor padre)

cDNA: *complementary DNA* (ADN complementario)

cDNA-AFLP: *amplified fragment length polymorphism based transcript profiling* (polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados basado en el perfil de transcritos)

DEG: *differentially expressed gene* (gen expresado diferencialmente)

DGC: Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (comparación de medias)

DM: *differential metabolite* (metabolito diferencial)

DEPC: dietilpirocarbonato

ERFs: *ethylene-responsive factors* (factores sensibles al etileno)

FDR: *false discovery rate*

FT: factor de transcripción

G: cultivar de tomate Gema FCA

G1: grupo de análisis 1 (25 genotipos incluidos en el análisis dialélico completo)

G2: grupo de análisis 2 (20 híbridos incluidos en el análisis dialélico completo)

GCA: *general combining ability* (aptitud combinatoria general)

GO: *gene ontology* (ontología génica)

GxGZ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Gema FCA como parental femenino y Green Zebra como parental masculino

GxPP: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Gema FCA como parental femenino y Purple Pear como parental masculino

GxQ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Gema FCA como parental femenino y Querubín FCA como parental masculino

GxRIL17: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Gema FCA como parental femenino y la RIL17 como parental masculino

GZ: cultivar de tomate Green Zebra

GZxG: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Green Zebra como parental femenino y Gema FCA como parental masculino

GZxPP: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Green Zebra como parental femenino y Purple Pear como parental masculino

GZxQ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Green Zebra como parental femenino y Querubín FCA como parental masculino

GZxRIL17: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Green Zebra como parental femenino y la RIL17 como parental masculino

L*: porcentaje de luminosidad

log₂FC: logaritmo en base 2 del *fold change*

MPH: *mid-parent heterosis* (heterosis contra el padre medio)

NILs: *near isogenic lines* (líneas casi isogénicas)

p: probabilidad asociada a una prueba estadística

PC: *principal component* (componente principal)

PCA: *principal component analysis* (Análisis de Componentes Principales)

PP: cultivar de tomate Purple Pear

PPxG: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Purple Pear como parental femenino y Gema FCA como parental masculino

PPxGZ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Purple Pear como parental femenino y Green Zebra como parental masculino

PPxQ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Purple Pear como parental femenino y Querubín FCA como parental masculino

PPxRIL17: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Purple Pear como parental femenino y la RIL17 como parental masculino

ppm: partes por millón

Q: cultivar de tomate Querubín FCA

qRT-PCR: *real time Polymerase Chain Reaction* (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real)

QxG: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Querubín FCA como parental femenino y Gema FCA como parental masculino

QxGZ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Querubín FCA como parental femenino y Green Zebra como parental masculino

QxPP: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Querubín FCA como parental femenino y Purple Pear como parental masculino

QxRIL17: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre Querubín FCA como parental femenino y la RIL17 como parental masculino

RIL: *recombinant inbred line* (Línea endocriada recombinante)

RIL17xG: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre la RIL17 como parental femenino y Gema FCA como parental masculino

RIL17xGZ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre la RIL17 como parental femenino y Green Zebra como parental masculino

RIL17xPP: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre la RIL17 como parental femenino y Purple Pear como parental masculino

RIL17xQ: híbrido F₁ obtenido luego del cruzamiento entre la RIL17 como parental femenino y Querubín FCA como parental masculino

r_p: correlación fenotípica

RNA-Seq: *RNA sequencing* (secuenciación del ARN)

SCA: *specific combining ability* (aptitud combinatoria específica)

SS: contenido de sólidos solubles

TDF: *transcript-derived fragment* (fragmento derivado de transcritto)

TSP: 3-(trimetilsilil) propionato-2,2'-3,3'-sódico-d4

RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes a nivel mundial, ya sea a nivel productivo como por el valor nutricional del fruto. La heterosis y el efecto recíproco son dos fenómenos biológicos reportados que podrían afectar los atributos internos y externos de frutos carnosos. La heterosis existe cuando el híbrido F_1 tiene un fenotipo superior a sus líneas parentales. La presencia de efecto recíproco implica la existencia de diferencias fenotípicas entre híbridos recíprocos, los cuales son obtenidos al invertir la dirección del cruzamiento de los genotipos. Los objetivos principales de este trabajo fueron evaluar en condición híbrida el comportamiento de cinco cultivares de tomate con distintos orígenes genéticos y explorar los mecanismos genéticos de la heterosis y los efectos recíprocos en tomate para diferentes caracteres de fruto. En primera instancia, cinco cultivares (Querubín FCA [Q], Gema FCA [G], la RIL17, Purple Pear [PP] y Green Zebra [GZ]) fueron crecidos en dos ambientes de cultivo para estimar la influencia del ambiente en sus fenotipos. Se evaluaron 12 caracteres agronómicos en frutos al estado pintón y rojo maduro, y 28 metabolitos identificados y estimados en frutos al estado rojo maduro utilizando la técnica de resonancia magnética nuclear de protón. Dado que el componente genotipo fue más importante que el ambiental, los 40 caracteres fueron posteriormente medidos en los 20 híbridos resultantes del cruzamiento de las cinco líneas parentales siguiendo un diseño dialélico completo en invernadero. Los híbridos mostraron una diversidad fenotípica más amplia que los genotipos parentales. Los caracteres morfológicos estuvieron más influenciados por la aptitud combinatoria general, mientras que para la mayoría de los metabolitos tuvo mayor relevancia la aptitud combinatoria específica. En general, predominaron las acciones génicas no aditivas, por ejemplo, dominancia completa para caracteres agronómicos, ácidos orgánicos y otros, y sobredominancia para aminoácidos y azúcares. Interesantemente, los metabolitos, principalmente aminoácidos, mostraron mayor heterosis y efecto recíproco que el resto de los caracteres evaluados. Se encontraron numerosas correlaciones fenotípicas significativas. Utilizando una población genéticamente distinta, se validaron las correlaciones fenotípicas entre firmeza y vida poscosecha y entre número de lóculos y forma, otorgándole mayor robustez a las relaciones entre estos caracteres. Posteriormente, se seleccionaron cuatro cruzamientos (incluyendo genotipos parentales y ambas F_1 recíprocas) por ser aquellos en los que se encontró mayor número de caracteres con heterosis, efecto recíproco y/o efectos maternos y paternos. Los mismos fueron Q-RIL17, Q-G, RIL17-PP y G-GZ. Utilizando la técnica basada en polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados, se obtuvo el perfil

transcriptómico de frutos al estado rojo maduro de los 13 genotipos seleccionados, utilizando cuatro combinaciones de cebadores. El cruzamiento entre Q y G fue el que más fragmentos amplificó, entre los que se encontró heterosis, dominancia completa, efecto materno, paterno, y recíproco. Además, este cruzamiento mostró diez metabolitos con heterosis, tres con efecto recíproco, uno con efecto materno y hubo caracteres que mostraron heterosis y valores altos de aptitud combinatoria específica. En base a los resultados de caracteres agronómicos, metabolitos y transcritos de fruto, se seleccionaron Q y G junto con sus híbridos recíprocos QxG y GxQ para estudiar sus perfiles de expresión génica y detectar genes diferenciales en fruto rojo maduro mediante la secuenciación del ARN (RNA-seq). Los híbridos recíprocos mostraron las mayores diferencias significativas a nivel de transcritos, y entre ellos, se encontraron genes que codifican para factores de transcripción, principalmente relacionados a estreses bióticos y abióticos. Cuando se analizó el tipo de acción génica de los transcritos se encontró que la aditividad fue la predominante, habiendo también casos de sobredominancia y dominancia completa. Para continuar con el objetivo de explorar las bases moleculares de los polimorfismos y los mecanismos genéticos de la heterosis y los efectos recíprocos, los resultados del RNA-seq fueron combinados con los datos del contenido de metabolitos. Se identificaron genes expresados diferencialmente relacionados con metabolitos que influyen en el sabor y en el contenido nutricional de frutos de tomate. Luego de integrar los resultados de acciones génicas para transcritos y metabolitos del cruzamiento en estudio, se demostró que los fenotipos metabólicos de las líneas parentales fueron explicados principalmente por transcritos con acción génica aditiva. En contraste, la heterosis en los híbridos fue explicada por transcritos con acción génica no aditiva, con predominancia de sobredominancia. Los resultados presentados en esta tesis demuestran la posibilidad de obtener híbridos con heterosis y alto contenido de metabolitos relacionados al sabor del tomate y componentes nutricionales. Además, se evidencia el impacto de seleccionar un cultivar como parental femenino o masculino en un cruzamiento, ya sea a nivel de expresión génica, acumulación de metabolitos o determinación de caracteres agronómicos en frutos. Además, con este trabajo se contribuye a profundizar el conocimiento de las bases moleculares de la heterosis y los efectos recíprocos en cultivos vegetales, específicamente para metabolitos relacionados a sabor y componentes nutricionales del fruto de tomate.

ABSTRACT

Genetic, transcriptomic, and metabolic characterization of five tomato cultivars divergent for fruit traits and their performance in hybrid condition

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most important horticultural crops worldwide, for which heterosis and reciprocal effect (RE) have been reported. Heterosis occurs when hybrids surpass their parents' phenotypes. Reciprocal hybrids are obtained by inverting the crossing direction of two parental genotypes, and phenotypic differences between them determine RE. This work aimed to evaluate the performance in hybrid condition of five tomato cultivars with different genetic origins and to explore the genetic mechanisms underlying heterosis and RE in tomato fruit quality traits. Five cultivars (Querubín FCA [Q], Gema FCA [G], RIL17, Purple Pear, and Green Zebra) were grown in two growing conditions to estimate the environmental influence on the phenotypes. Twelve agronomic traits and 28 metabolites were evaluated in fruits. Since the genotype was more important than the environment, the 40 traits were measured in the 20 hybrids obtained by crossing the five cultivars following a full diallel mating design in the greenhouse. The hybrids increased the phenotypic variability displayed by the parental genotypes. The morphological traits had higher values of general combining ability and additivity, while most of the metabolites were more affected by specific combining ability, heterosis, and RE. Several phenotypic correlations among traits were detected. Due to the existence of heterosis, reciprocal, maternal, and paternal effects four crosses were selected for analysis of transcriptomic profiles using the technique "Amplified Fragment Length Polymorphism based on transcript profiling". Based on the results obtained so far, the genotypes Q, G, QxG, and GxQ were selected to study their gene expression profiles and to detect differentially expressed genes of red ripe fruits, by RNA-sequencing. The reciprocal hybrids showed the highest significant differences at the transcriptomic level. Using a multi-omics approach, several genes related to metabolites that influence the flavour and nutritional content of tomato fruits were found. The parental phenotypes were explained mainly by transcripts with additivity, while the heterosis was explained mostly by transcripts with overdominance. The results presented in this work demonstrate the possibility to obtain hybrids with heterosis and the impact of selecting a cultivar as female or male in a cross. This work contributes to a deeper understanding of the molecular bases of heterosis and RE, specifically for metabolites related to tomato flavour and nutritional composition.

INTRODUCCIÓN

Importancia económica y productiva del cultivo de tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes a nivel mundial, siendo la segunda hortaliza con mayor producción luego de la papa (FAOSTAT, 2020). En 2020, la superficie cosechada de tomate en fresco fue de 5,1 millones de hectáreas y la producción de 186,8 millones de toneladas. Los mayores productores fueron China (64,9 millones de toneladas), India (20,5 millones de toneladas) y Turquía (13,2 millones de toneladas). En Sudamérica el productor más importante es Brasil con 3,8, seguido por Chile con 0,8 y Argentina con 0,7 millones de toneladas. En Argentina, un 60-70% de la producción de tomate es destinada a mercado en fresco tipo redondo, perita y *Cherry*, y un 30-40% es tomate para industria (tomates en conserva y pastas para elaborar salsas, extractos y purés). Tal es así que en 2020 se sembraron aproximadamente 11.800 hectáreas (que representa el 0,2% de la superficie cultivada mundial), destinadas a mercado para consumo en fresco y aproximadamente 6.000 hectáreas para industria (Dirección de Producción Agrícola, 2020).

En Argentina hay diferentes regiones donde se produce tomate destinado al mercado en fresco (Noroeste argentino [NOA], Noreste argentino [NEA], Buenos Aires, Mendoza, Río Negro), lo que permite tener producción en contraestación, por ejemplo, NOA y NEA (otoño-primavera) versus (vs) Cuyo y Buenos Aires (verano-otoño). El tomate para industria es principalmente cultivado en la región de Cuyo (Mendoza y San Juan). Dada la sensibilidad del cultivo a las bajas temperaturas, la Patagonia, a excepción de Río Negro, es la única región en la que no es posible cultivarlo sin incurrir en elevados costos de infraestructura y calefacción. A su vez, las diferentes zonas de producción y, por lo tanto, diferentes condiciones agroecológicas dan lugar a tres sistemas productivos: a campo (Mendoza, Buenos Aires, Salta), semiforzado e invernadero (NOA, NEA y Buenos Aires).

En nuestro país existen áreas (cinturones hortícolas) cercanas a las grandes ciudades (Mar del Plata, La Plata, Rosario, Córdoba, Mendoza y Tucumán) donde se cultivan hortalizas para abastecer a la población. El Cinturón Hortícola Platense es la zona productora de hortalizas frescas más importante de Argentina (Shoaie Baker y García, 2021), abasteciendo a aproximadamente 16 millones de personas de Buenos Aires. El cinturón hortícola de Rosario destina su producción a más de 2 millones de habitantes de la región. Abarca una superficie de 2.485 hectáreas de hortalizas, de las cuales la mayor parte es cultivo a campo, 49 hectáreas se destinan a invernadero y 28 hectáreas a media sombra (INTA, Censo 2012). Las principales

hortalizas cultivadas por numerosos productores son acelga, espinaca, lechuga de hoja, rúcula, remolacha, radicheta, brócoli y repollo, mientras que se ha observado una disminución en la superficie cultivada de tomate a campo (66%) respecto al censo 2008. Esto puede deberse al alto costo de la semilla de tomate, al requerimiento de mano de obra y a los cuidados que requiere el cultivo, lo cual está relacionado a la preferencia de utilizar cultivo protegido bajo invernadero. Además, las hortalizas de hojas tienen un menor costo de inversión, el ciclo del cultivo es menor y el retorno es más rápido.

Dentro del cinturón hortícola de Rosario tienen influencia el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (FCA-UNR), el Mercado de Productores de Rosario, la Secretaría de la Producción de la Municipalidad de Rosario y la Secretaría de la Producción del Gobierno de la Provincia de Santa Fe. En los últimos años, ha mermado la utilización de productos agroquímicos en los sectores cercanos a las ciudades, resultado de la implementación de nuevas reglamentaciones y de la demanda del consumidor de alimentos más frescos y sanos (Cambiaso et al., 2022). Es por ello que esas regiones han reconvertido su sistema de producción convencional a Agricultura Periurbana, a la que se suman las huertas urbanas localizadas en el interior de la ciudad de Rosario, ambas impulsadas por el Programa de Agricultura Urbana y Periurbana de la Municipalidad de Rosario. En el 2019, el grupo de Genética y Mejoramiento de Tomate perteneciente a la FCA-UNR firmó un convenio de vinculación con dicho organismo estatal. El mismo consiste en un proyecto de retroalimentación, en el cual los productores reciben variedades de tomate mejoradas por el grupo cuyos frutos pueden ser consumidos y/o comercializados, y por el otro los investigadores reciben información sobre el comportamiento de los materiales en sistemas locales agroecológicos. Esto es de gran valor para impulsar programas de mejoramiento de cultivo adaptados a la región e incrementar la producción de un fruto de gran versatilidad y valor nutricional (Pereira da Costa et al., 2021).

El país posee un perfil netamente importador de semillas hortícolas, especialmente para tomate. El desarrollo de nuevos materiales de tomate en nuestro país ha quedado relegado, lo cual se evidencia a través de información del Registro Nacional de Cultivares perteneciente al Instituto Nacional de Semillas (INASE) (<https://gestion.inase.gob.ar/consultaGestion/gestiones>). En los últimos 10 años, de las 52 variedades (líneas puras) allí inscriptas solo 12 fueron obtenidas en Argentina, mientras que dentro de los 256 híbridos inscriptos no hubo ninguno de origen nacional. Las semillas importadas, si bien satisfacen los requerimientos buscados por los productores locales carecen de la calidad demandada por los consumidores y son materiales que

fueron desarrollados para otros ambientes y condiciones de cultivo. Actualmente, cultivares híbridos de tomate son cultivados a nivel mundial debido a su alta productividad, maduración temprana, resistencia a enfermedades, alta uniformidad y calidad de fruto (Ingallina et al., 2020). En la década de los '90, en Estados Unidos, más del 50% de la superficie total destinada a tomate fresco y aproximadamente el 75% de la superficie de tomate para industria estaba cultivada con genotipos híbridos (Wehner, 1999). Además, un estudio reciente informó que el tomate es la hortaliza con el mayor número de variedades registradas, de las cuales 89% son híbridos (Santamaria and Signore, 2021).

Generalidades de la especie cultivada y las silvestres

El tomate es una especie dicotiledónea, autógama, considerada un modelo para el estudio de la genética y fisiología de frutos carnosos debido a su constitución genética diploide ($2n = 24$), su condición de fruto climatérico, su importancia a nivel productivo y alimenticio, así como también la disponibilidad del genoma de referencia secuenciado en 2012 (The Tomato Genome Consortium, 2012).

El tomate es originario de la región andina en América del Sur (Perú, Bolivia, Ecuador y norte de Chile). Fue introducido en Europa por los colonizadores en el siglo XVI, en donde comenzó a utilizarse como planta ornamental y luego como alimenticia. Pertenece a la familia de las Solanáceas, junto con otras especies de interés agronómico como la papa (*S. tuberosum*), el pimiento (*Capsicum annuum*) y la berenjena (*S. melongena*). Dentro del género *Solanum*, la sección *Lycopersicon* comprende, además del tomate cultivado, 12 especies silvestres emparentadas: *S. cheesmaniae*, *S. galapagense*, *S. neorickii*, *S. peruvianum*, *S. arcanum*, *S. pimpinellifolium*, *S. pennellii*, *S. huaylasense*, *S. corneliomulleri*, *S. chemielewskii*, *S. habrochaites* y *S. chilensis*. Existe una gran variabilidad entre las especies silvestres, ya sea en el hábito de crecimiento, tolerancia a estreses, sistema de apareamiento y color de fruto. *S. pimpinellifolium* es la única especie silvestre que produce frutos rojos, mientras que el resto de las especies silvestres producen frutos verdes, amarillos o naranjas (Bauchet y Causse, 2012). Interesantemente, todas las especies de la sección son potencialmente interfértiles, con diferentes tasas de éxito. Se considera que la especie cultivada evolucionó a partir de la silvestre *S. pimpinellifolium*, siendo *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* un intermediario evolutivo (Rick y Chetelat, 1995; Bauchet y Causse, 2012).

Breve historia de la domesticación y el mejoramiento del tomate

El proceso de domesticación y mejoramiento genético del tomate condujo a cambios fisiológicos del cultivo y redujo considerablemente la base genética. A principios del siglo XX comenzaron a llevarse a cabo proyectos de mejoramiento de la especie (Bai y Lindhout, 2007), los cuales estuvieron enfocados en lograr la uniformidad en la maduración, incrementos del rendimiento, tamaño de fruto y resistencia a factores bióticos y abióticos. La estacionalidad del cultivo de tomate y las grandes distancias entre los centros de producción y consumo han sido factores que determinaron la importancia de llevar adelante programas de mejora enfocados en la durabilidad del fruto. Debido a esto, en una segunda etapa los programas de mejora tuvieron como objetivo la vida poscosecha del fruto, la cual se define como la cantidad de días transcurridos desde que el fruto es cosechado hasta que se manifiestan los primeros síntomas de deterioro. Las pérdidas poscosecha de frutas y hortalizas en los países en desarrollo representan casi el 50% de lo producido (Meli et al., 2010). Las alternativas tradicionales para mejorar la vida poscosecha han sido la transgénesis o los cruzamientos con mutantes espontáneos, propios de la especie cultivada, que retrasan la madurez del fruto. Ambas estrategias tienen implicancias socioeconómicas desfavorables. El consumidor actual es un crítico constante de las falencias de sabor en los tomates que se comercializan. Si bien en Argentina no se comercializan tomates transgénicos, las plantas obtenidas por transgénesis retardan su proceso de madurez permaneciendo intactos por extensos períodos de tiempo. La obtención de cultivos transgénicos requiere gran inversión económica y a la vez enfrenta una marcada resistencia por parte del consumidor (Gerszberg et al., 2015). Por otro lado, en *S. lycopersicum* se han detectado varios genes mutantes que afectan el proceso natural de la madurez en los frutos tales como *rin* (*ripening inhibitor*), *nor* (*non ripening*), *Nr* (*neverripe*) y *alc* (*alcobaca*) (Andrade et al., 2005; Barry y Giovannoni, 2006), siendo estos genes que bloquean o alargan el proceso de la madurez los que confieren la larga vida poscosecha a los frutos. La mayoría de los híbridos actuales de larga vida comercial llevan en heterocigosis el gen *rin*, el *alc* o el *nor*, los que producen efectos negativos sobre caracteres de calidad valorados por el consumidor, debido a los efectos pleiotrópicos que ejercen sobre otras vías metabólicas involucradas en el sabor, el aroma y/o la textura del fruto. En este contexto, la demanda de la industria, el comercio y los consumidores de alimentos han provocado que las cualidades internas y/o externas que hacen a la calidad de los mismos tengan mayor relevancia en los objetivos de los programas de mejoramiento, especialmente en aquellos productos de consumo directo como

las frutas y hortalizas (Foolad, 2007). En el caso específico del tomate es posible diferenciar las características de calidad que inciden en la compra que son fundamentalmente color, forma y firmeza, y los atributos que contribuyen a la calidad de consumo que corresponden al equilibrio entre azúcares y acidez y al contenido de aromas volátiles (Angosto Trillo et al., 2001). La histórica selección de genes que incrementan el tamaño de fruto, el cual está negativamente correlacionado con el contenido de sólidos solubles (SS) llevó a un cambio en el metaboloma del tomate (Klee y Tieman, 2018; Zhu et al., 2018). Es por ello que, a partir de finales del siglo XX, el mayor interés estuvo en mejorar el sabor del fruto de tomate, seguido por el mejoramiento de la calidad nutricional.

Valor nutricional y sabor del tomate

Los frutos de tomate juegan un rol importante en la nutrición y son considerados un reservorio de compuestos benéficos para la salud, como vitaminas, aminoácidos esenciales, carotenoides, fitoesteroles, minerales y fibra (Beecher, 1998, Giovannucci, 1999). El licopeno es el principal carotenoide en los frutos de tomate, y junto a otros compuestos fenólicos posee acción antiinflamatoria, antioxidante y efectos cardioprotectores. El sabor del fruto está determinado tanto por su gusto como por su aroma. El gusto está principalmente influenciado por el contenido de azúcares y ácidos, mientras que en el aroma influye la composición de 400 aromas volátiles detectables en tomate, siendo 29 los principales (Tieman et al., 2012; Tieman et al., 2017; Martina et al., 2021). Hay cinco clases de receptores en la boca que determinan el gusto: dulce, ácido, amargo, umami (también conocido como sabroso) y salado (Klee y Tieman, 2018). Los azúcares sacarosa, glucosa y fructosa están relacionados con el gusto dulce, y los ácidos orgánicos malato y citrato con el gusto ácido (Baldwin et al., 2000; Tieman et al., 2006; Zantor et al., 2009). Por otro lado, los aminoácidos fenilalanina y glutamato se relacionan con los gustos amargo y umami respectivamente (Bellisle et al., 1999; Kwon et al., 2019). Muchos de los compuestos volátiles se sintetizan a partir de metabolitos primarios, por ejemplo la fenilalanina, la leucina y la isoleucina son precursores de 10 de los 29 aromas volátiles (Klee y Tieman, 2018). Según Tieman et al. (2012), muchos compuestos volátiles que se acumulan en pequeñas cantidades tienen mayor influencia en el sabor que otros que tienen una acumulación mayor, ya que no solo interviene la concentración del compuesto aromático sino también el umbral de olor percibido por las personas. Por ejemplo, el volátil β -damascenona ha sido considerado importante para el sabor del tomate debido a su bajo umbral de olor, sin embargo, según Tieman et al. (2012) no está asociado con la intensidad del sabor en tomate. Además, aunque los volátiles C6 derivados de ácidos grasos

(cis-3-hexenal, hexanal, cis-3-hexen-1-ol, alcohol hexílico y hexilacetato) son los volátiles más abundantes, no impactan en la preferencia del consumidor. Los autores destacan que la percepción de dulzor por parte del consumidor puede verse modificada de acuerdo a la composición de aromas volátiles. Un ejemplo es el apocarotenoide geranial que, independientemente de la concentración de azúcares en el fruto, correlaciona positivamente con dulzor, y sugieren que la manipulación de la síntesis de este compuesto permitiría obtener frutos de tomate gustosos, pero con menor contenido de azúcares y, por lo tanto, menor valor calórico.

Utilización del germoplasma silvestre para el estudio de la genética y el mejoramiento de caracteres de calidad de fruto

Se estima que en los cultivares actuales existe menos del 5% de la variabilidad genética del germoplasma de tomate, mientras que la mayor parte está presente en las especies silvestres (Miller y Tanksley, 1990). A partir del siglo XX, se han realizado cruzamientos interespecíficos entre las especies silvestres y el tomate cultivado para introgresar alelos favorables y así aumentar la variabilidad genética del cultivo y mejorar caracteres de interés. Distintos programas de mejoramiento han utilizado el germoplasma silvestre como estrategia para reintroducir atributos deseados en los cultivares comerciales. Ejemplo de esto es la prolongación de la vida poscosecha de los frutos sin reducción de su calidad comercial (Pratta et al., 1996; Rodríguez et al., 2006 a y b, Pereira da Costa et al., 2013). La diversidad metabólica del tomate silvestre y del cultivado ha sido caracterizada en numerosos estudios y se ha reportado el potencial del uso del germoplasma silvestre para el mejoramiento de caracteres de calidad de fruto determinados por metabolitos (Schauer et al., 2005; Sauvage et al., 2014; Capel et al., 2015; López et al., 2015; Wang et al., 2015). Diversas poblaciones han sido generadas a partir de cruzamientos interespecíficos para estudiar la genética y llevar a cabo programas de mejoramiento vegetal de caracteres de calidad del fruto y rendimiento de tomate: NILs (*near isogenic lines* o líneas casi isogénicas), ILs (*isogenic lines* o líneas isogénicas), HSC (híbridos de segundo ciclo), F₂ (segunda generación filial), RILs (*recombinant inbred lines* o líneas endocriadas recombinantes) (Eshed y Zamir, 1995; Causse et al., 2002; Rodríguez et al., 2006a y b; Liberatti et al., 2013; Zhang et al., 2018; Di Giacomo et al., 2020). Las RILs son líneas homocigotas y estables generadas luego de sucesivas autofecundaciones de la población F₂ obtenida a partir de un híbrido, que poseen recombinaciones al azar de los dos genotipos parentales. A partir de un cruzamiento interespecífico entre el cultivar (cv) Caimanta de la especie *S. lycopersicum* y la accesión LA0722 del antecesor silvestre *S. pimpinellifolium* se obtuvo un híbrido F₁, el cual fue autofecundado para

generar las poblaciones F_2 y F_3 derivadas (Zorzoli et al., 2000). Luego de sucesivas generaciones de autofecundación y de selección antagónica-divergente para peso y vida poscosecha de fruto, se generó una población de 18 RILs (Rodríguez et al., 2006a; Rodríguez et al., 2013). Esas 18 RILs fueron caracterizadas para variables de planta y de fruto (Rodríguez et al., 2006b), evaluando tanto caracteres agronómicos como metabolitos primarios (López et al., 2015). Además, López et al. (2015) reportaron correlaciones entre ambos tipos de caracteres y demostraron que *S. pimpinellifolium* incrementó la variabilidad metabólica y mejoró la vida poscosecha y composición química de los frutos de la población de RILs. Dos de esas RILs, son los cultivares Gema FCA (RIL 18) y Querubín FCA (RIL 1) que por sus características de calidad de fruto superiores se encuentran inscriptos en el INASE desde el año 2012.

Genética cuantitativa como base para la mejora de la calidad del fruto

Los caracteres de calidad de fruto presentan herencia cuantitativa, es decir, su expresión está determinada por múltiples genes, por lo que se denominan caracteres poligénicos. La Genética Cuantitativa aporta diversas metodologías que tienen amplia utilización en el mejoramiento de las especies vegetales tal como son el cruzamiento dialélico y el análisis de componentes genéticos (Griffing, 1956, Kearsey y Pooni, 1996). Utilizando como material genético distintos cultivares sería posible evaluar el comportamiento de los genes aportados por ellos en el mismo y con distinto contexto genético. Es posible estudiar la manera en que interactúan los genes a partir de la estimación de las acciones génicas en los híbridos F_1 derivados de un cruzamiento de dos líneas homocigotas. Las acciones génicas pueden clasificarse en aditivas y no aditivas. En las primeras, el valor del híbrido es intermedio al valor de ambos padres debido a que no hay dominancia de un alelo sobre el otro, sino que ambos padres contribuyen en igual medida al fenotipo de la descendencia. Por otro lado, las acciones génicas no aditivas están determinadas por la interacción intra o intergénica, siendo el valor del híbrido distinto al del padre medio. Ejemplos de este tipo de acción génica son la dominancia completa, la dominancia parcial, la sobredominancia y la epistasis.

Dos fenómenos biológicos importantes para el mejoramiento vegetal: heterosis y efecto recíproco

Un fenómeno biológico que ocurre y ha sido estudiado por años en los híbridos de tomate es la heterosis, la cual se define como la superioridad del híbrido respecto a sus líneas parentales. Si bien en el mejoramiento de una especie autógama, tal como es el tomate, es posible la

obtención de cultivares homocigotas mejorados, las sucesivas generaciones de autofecundación luego de un cruzamiento pueden provocar el fenómeno conocido como “depresión por endogamia”. El mismo consiste en una disminución de la media poblacional debido al incremento en la frecuencia de homocigotas recesivos que anteriormente tenían sus alelos enmascarados por el alelo dominante presente en el heterocigota. La generación de híbridos a partir de tales líneas homocigotas mejoradas permitiría recuperar el vigor híbrido perdido por la endogamia debido a un incremento en la proporción de individuos heterocigotas. Además, hay posturas contrastantes acerca de la relación entre la distancia genética entre las líneas parentales y la ocurrencia de heterosis en los híbridos (Ajmone Marsan et al., 1998; Kaushik et al., 2018; Singh y Gupta, 2019; Liu et al., 2020). Lograr un grado de heterosis significativo entre genotipos cultivados sería posible al explotar los efectos no aditivos involucrados en determinar mejor calidad comercial y así ofrecer nuevos híbridos al mercado. Diversos estudios (Moreira et al., 2003, Krieger et al., 2010, Marchionni Basté et al., 2010, Sánchez Aspeytia et al., 2010, Solieman et al., 2013) han demostrado la existencia de heterosis en tomate para la producción de biomasa por planta, rendimiento y calidad de los frutos, sin embargo, no ha sido previamente reportado para contenido metabólico de fruto. Por otro lado, es un hecho conocido que la comercialización de híbridos es el principal método para obtener el retorno de la inversión realizada durante el proceso de obtención del desarrollo tecnológico de estas semillas. Genotipos híbridos superiores podrían comercializarse si superan en su comportamiento a los que actualmente se encuentran en el mercado y/o utilizarse para generar poblaciones base de mejora en los programas de mejoramiento.

Hay diferentes teorías que explican la ocurrencia de heterosis: complementación por dominancia, sobredominancia y epistasis (Semel et al., 2006; Lippman y Zamir, 2007; Krieger et al., 2010; Chen, 2013; Liu et al., 2020; Soyk et al., 2020). La teoría de la complementación por dominancia postula que la superioridad del híbrido sucede debido a que presenta una mayor cantidad de alelos dominantes que sus padres homocigotas. La segunda teoría hace referencia a que el vigor híbrido surge porque el heterocigota presenta más vías metabólicas posibles (una para el alelo dominante y otra para el alelo recesivo) lo cual le otorga una ventaja respecto a los individuos homocigotas. Por último, la teoría de la epistasis implica interacciones intergénicas que influyen en el fenotipo, debido a que los caracteres cuantitativos están determinados por muchos *loci* de efecto chico. Dado que los caracteres cuantitativos son determinados por la acción de múltiples genes de efecto chico, es probable que haya una combinación de estas tres teorías para dar lugar al fenotipo híbrido con heterosis (Hochholdinger y Hoecker, 2007).

Dos híbridos recíprocos son aquellos que resultan del cruzamiento de las mismas líneas parentales que son cruzadas invirtiendo la función sexual (femenino o masculino), por lo cual su constitución genética nuclear es idéntica entre sí. La inclusión de los híbridos recíprocos permite estudiar la presencia de efecto recíproco debido a las diferencias fenotípicas entre ellos. Diversos estudios han demostrado que la función sexual del progenitor en el cruzamiento afecta la expresión de caracteres en diferentes especies (Smith et al., 2008; Sanetomo y Hosaka, 2011; Miller et al., 2012; Baldauf et al., 2020). Li et al. (2014) encontraron diferencias fenotípicas y moleculares entre híbridos recíprocos al cruzar *S. lycopersicum* y *S. pimpinellifolium*. Recientemente, Gimenez et al. (2021) encontraron efecto recíproco para la calidad del fruto de tomate, siendo que cada cruzamiento mostró diferentes caracteres con este fenómeno. Diversos autores han postulado las posibles causas del efecto recíproco. Una de ellas es la herencia citoplasmática desde el parental femenino, lo cual incluye el material genético de cloroplastos y mitocondrias (Rajcan et al., 2002; Nagata, 2010). El efecto materno y paterno, ya sea genético o ambiental, también afecta al fenotipo de la descendencia, el cual se asemeja a la madre o al padre respectivamente (Santure y Spencer, 2006; Rando, 2012; Crean y Bonduriansky, 2014; Wolf y Wade, 2016). Por otro lado, la impronta genómica influye en la expresión de los genes, lo cual depende de la función sexual del genotipo parental que aportó el alelo y está relacionada con marcas epigenéticas como la metilación del ADN o la modificación de proteínas histónicas (Köhler et al., 2012; Rodrigues y Zilberman, 2015; Satyaki y Gehring, 2017).

A pesar de los numerosos avances sobre los mecanismos involucrados en la ocurrencia de heterosis y efecto recíproco, estos fenómenos biológicos no están completamente comprendidos.

Alternativas ómicas para el estudio de la genética y el mejoramiento del cultivo

Tres de las técnicas ampliamente utilizadas para el estudio de la expresión de genes son: polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados basados en transcritos (cDNA-AFLP, *Amplified Fragment Length Polymorphism based transcript profiling*), secuenciación del ácido ribonucleico (RNA-seq, *RNA sequencing*) y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qRT-PCR, *real time Polymerase Chain Reaction*). El primero se trata de una técnica cualitativa que permite observar presencia o ausencia de un transcrito. Se obtiene un perfil de transcritos para generar datos del nivel de expresión génica para un organismo a una escala del genoma completo (Vuylsteke et al., 2007). La técnica RNA-seq utiliza métodos de alto rendimiento, permite obtener grandes coberturas del transcriptoma, cuantificar la expresión diferencial de genes, detectar genes con corte y empalme alternativo, a la vez que facilita el descubrimiento de

transcriptos novedosos y la detección de expresión alelo-específica (Kukurba y Montgomery, 2015). Por último, la qRT-PCR permite la detección y medición de productos generados durante cada ciclo de PCR y se ha utilizado ampliamente como método de validación de los datos obtenidos por las dos técnicas mencionadas previamente. La identificación y cuantificación simultánea de metabolitos en una matriz compleja es posible a través del estudio del metaboloma (Segers et al., 2019). Varias técnicas pueden ser empleadas para obtener metabolomas de fruto de tomate, siendo una de ellas la resonancia magnética nuclear de protón ($^1\text{H-NMR}$, *proton nuclear magnetic resonance*). Esta técnica consiste en realizar un extracto a partir de material biológico, el cual contiene metabolitos polares solubles en agua, como por ejemplo azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos. Las muestras son introducidas en un espectrómetro nuclear que genera un campo magnético, dando como resultado un espectro en el cual se pueden identificar y cuantificar los metabolitos que componen la muestra.

Datos resultantes de análisis genómicos, transcriptómicos, proteómicos, epigenómicos, metabolómicos y fenómicos deberían ser integrados para profundizar el conocimiento y la comprensión de la performance fenotípica de diferentes organismos (Osorio et al., 2011; Meyer et al., 2012; Wu et al., 2017; Hassan et al., 2020; Liu et al., 2020). La complejidad genética y la naturaleza cuantitativa de los caracteres que hacen a la calidad y al valor nutricional del fruto dan lugar a la importancia de la combinación de distintas ómicas para profundizar el conocimiento y lograr cultivares mejorados.

La integración de datos de diferentes ómicas junto con la estimación de las acciones génicas y aptitudes combinatorias que rigen un carácter cuantitativo relacionado a la calidad del fruto, permitirían explorar las bases moleculares de los mecanismos genéticos puestos en juego para la determinación de efecto recíproco y heterosis. De esta manera, constituirían herramientas eficaces para la caracterización de genotipos y el proceso de mejoramiento del cultivo.

HIPÓTESIS

- En un cruzamiento dialélico entre cinco cultivares de tomate se producen genotipos híbridos con características de fruto superiores a los genotipos parentales del cruzamiento. A su vez, la expresión fenotípica de los caracteres es diferencial de acuerdo a la función sexual del genotipo (femenino o masculino).
- La expresión de los genes y el polimorfismo a nivel metabólico de los frutos es diferencial entre las combinaciones híbridas.

OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar en condición híbrida el comportamiento para caracteres de fruto de cinco cultivares de tomate con distintos orígenes genéticos.
- Explorar los mecanismos genéticos de la heterosis y los cruzamientos recíprocos en tomate para diferentes caracteres de fruto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar en su aspecto agronómico y genético los híbridos obtenidos a partir del cruzamiento dialélico entre cinco cultivares de tomate.
- Identificar y cuantificar la expresión diferencial a nivel de transcritos y metabolitos en genotipos híbridos y parentales.
- Estudiar la expresión diferencial de los genes en condición híbrida y en los cruzamientos recíprocos para explorar las bases moleculares del polimorfismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Genotipos parentales e híbridos resultantes de un cruzamiento dialélico completo

Cinco cultivares de tomate (*S. lycopersicum* L.) utilizados como líneas parentales y sus 20 híbridos fueron evaluados siguiendo un diseño de cruzamientos dialélico completo según el Método 1 de Griffing (Griffing, 1956). Tres genotipos son RILs derivadas de un cruzamiento interespecífico entre el cultivar Caimanta de *S. lycopersicum* y la accesión LA0722 de *S. pimpinellifolium* (Rodríguez et al., 2006a; Cambiaso et al., 2019a): RIL 1 [Querubín FCA (Q)], RIL 18 [Gema FCA (G)] y RIL17. Q desarrolla frutos pequeños [promedio de peso de fruto = 27 g] rojos y achatados con vida poscosecha intermedia (promedio = 19 días). G se caracteriza por frutos pequeños (promedio de peso = 17 g) elongados y rojos, con vida poscosecha intermedia (promedio = 23 días). La RIL17 presenta frutos pequeños (promedio de peso = 19 g) amarillos y larga vida poscosecha (promedio = 47 días) (Cambiaso et al., 2019a). Los otros dos genotipos utilizados como parentales fueron Purple Pear (PP) y Green Zebra (GZ), los cuales son cultivares criollos estadounidenses mantenidos por el Banco de Germoplasma de Tomate de la FCA-UNR. GZ produce frutos redondos, medianos (promedio de peso = 66 g), con vida poscosecha corta (promedio = 8 días) y de color verde estriado. PP es un genotipo altamente productivo, con frutos de forma de pera, color marrón-rojizo, grandes (promedio de peso = 87 g), con gran cantidad de pulpa y corta vida poscosecha (promedio = 10 días) (Gimenez et al., 2021).

Los híbridos se obtuvieron según la metodología propuesta por Rick (1973). Ocho plantas de cada genotipo híbrido y parental fueron trasplantadas a invernadero y otras ocho plantas por genotipo parental fueron trasplantadas a campo. Todos los genotipos presentan un hábito de crecimiento indeterminado, excepto por la RIL17 que es el único cultivar con crecimiento determinado. En ambos ambientes las plantas fueron conducidas a un tallo, siguiendo un diseño completamente aleatorizado, con 1,4 metros entre líneas y 40 centímetros entre plantas. Se realizó riego por goteo suplementando una vez a la semana con fertilizante líquido a base de nitrógeno, fósforo, potasio + óxido de magnesio + magnesio y elementos traza (Poly Feed, Haifa Haifa Negev technologies LTD, Israel).

El cultivo se llevó a cabo durante la campaña 2015 – 2016 en la Estación Experimental “José F. Villarino”, Zavalla, Argentina (33° Latitud Sur, 61° Longitud Oeste).

Líneas casi isogénicas

Tres NILs fueron desarrolladas en el contexto genético de la accesión LA1589 de *S. pimpinellifolium*. Son diferentes en su constitución genética para los genes *FAS* y *LC* que codifican dos factores de transcripción y regulan el número de lóculos en tomate. Los genotipos son: LA1589 (*wild type* para ambos genes), LA1589lc (NIL portadora del alelo *wild type* para *FAS* y del alelo mutante o cultivado para el locus *lc*), LA1589fas (NIL portadora del alelo *wild type* para *LC* y del alelo mutante para el locus *fas*) y LA1589lc+fas (NIL portadora de los alelos mutantes o cultivados para los loci *lc* y *fas*). Este material fue provisto por la Dra. Esther van der Knaap (Universidad de Georgia, Estados Unidos) y su descripción se detalla en Chu et al. (2019). Brevemente, los frutos maduros de la accesión LA1589 contienen típicamente dos lóculos y son aproximadamente de 1 cm de diámetro. Las NILs que portan los alelos mutantes para los genes que controlan el número de lóculos (*FAS* y *LC*) fueron desarrolladas por repetidas retrocruzas hacia LA1589 como progenitor recurrente y los cultivares Orange Strawberry y Yellow Stuffer como progenitores donantes de ambos alelos mutantes *fas* y *lc* y sólo de *lc* respectivamente. El tamaño del segmento introgresado varió para cada locus siendo de 184 kb para *lc* en la posición comprendida entre 47.014 y 47.198 kb del cromosoma 2 (genoma de referencia versión SL2.50, www.solgenomic.net) y de 351 kb para *fas* desde la posición 54.842 hasta 55.193 kb en el cromosoma 11 (genoma de referencia versión SL2.50, www.solgenomic.net).

Se sembraron cuatro plantas de cada genotipo en macetas y se cultivaron en un invernadero con condiciones controladas de temperatura y riego. El experimento se llevó a cabo durante la campaña 2020 – 2021 en la Estación Experimental “José F. Villarino”, Zavalla, Argentina (33° Latitud Sur, 61° Longitud Oeste).

Caracteres agronómicos de fruto

Datos recopilados de los cinco genotipos parentales y sus 20 híbridos

A partir de estudios previos (Bueno, 2018) se recopilaron datos de caracteres agronómicos de fruto de los cinco genotipos parentales en los dos ambientes y de los 25 genotipos solo en invernadero. Seis caracteres agronómicos fueron evaluados al estado pintón (frutos con un 10 a 30% del color final de madurez, de acuerdo a Giovannoni (2004)): peso (g, con balanza), altura (cm, con calibre), diámetro (cm, con calibre), forma (cociente entre altura y diámetro), firmeza (medida sobre el plano ecuatorial, en dos áreas opuestas del fruto con un durómetro tipo Shore A [Durofel] con una puntera de 0,10 cm²) y vida poscosecha (días transcurridos desde la cosecha

hasta la visualización de los primeros síntomas de deterioro en frutos almacenados a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ en una estantería, según Green et al. (2016) y Cambiaso et al. (2019a)). Si bien se trasplantaron ocho plantas de cada genotipo en ambos ambientes, no se pudo evaluar a la totalidad de ellas debido a pérdida de algunos ejemplares o a la cantidad insuficiente de frutos producidos. Estos caracteres fueron evaluados en un promedio de seis plantas por genotipo y seis frutos por planta en invernadero, y en cinco plantas por genotipo y siete frutos por planta a campo.

Otros seis caracteres agronómicos de fruto fueron evaluados al estado rojo maduro (frutos con 90% del color maduro): número de lóculos, SS (en °Brix, determinado con un refractómetro de mano en jugo homogeneizado de pericarpio de tomate), pH, acidez titulable (g de ácido cítrico cada 100 g de jugo homogeneizado), y color. Este último estuvo determinado por el índice de absorbancia (a^*/b^* , donde a^* es la absorbancia a 540 nm y b^* es la absorbancia a 675 nm) y porcentaje de reflectancia (L^*) con un colorímetro Minolta (model CR-400, Minolta Co., Osaka, Japan), como el promedio de tres medidas por fruto. Los caracteres relacionados con color fueron evaluados en invernadero en un promedio de seis plantas por genotipo y seis frutos por planta. A campo las mediciones fueron tomadas en promedio en cinco plantas por genotipo y siete frutos por planta. El número de lóculos fue cuantificado en un promedio de tres plantas por genotipo y cinco frutos por planta en invernadero, mientras que a campo las mediciones fueron tomadas sobre tres frutos por planta y dos plantas por genotipo. Tres a cinco frutos por planta fueron mezclados hasta alcanzar 100 g de jugo de tomate homogeneizado para evaluar SS, pH y acidez titulable en un promedio de cuatro plantas por genotipo en invernadero y dos a campo.

Toma de datos de la población de NILs y del padre recurrente LA1589

Se cosecharon entre ocho y diez frutos al estado pintón de cada una de las cuatro plantas de las tres NILs y de LA1589. En frutos cosechados al estado pintón se midió el peso, la forma, la firmeza y la vida poscosecha siguiendo la metodología descripta por Bueno (2018).

Adicionalmente, entre seis y diez frutos por planta fueron cosechados al estado rojo maduro para realizar las mediciones del número de lóculos.

Caracterización metabólica por resonancia magnética nuclear de protón

Se cosechó el primer o segundo fruto maduro de la segunda o tercera inflorescencia, de tres plantas independientes por genotipo parental e híbrido y de cuatro plantas de cada NIL y de LA1589. En primera instancia se removió el exocarpo y el tejido locular, luego las semillas fueron descartadas y se cortó el mesocarpo en piezas pequeñas. Rápidamente se lo congeló con

nitrógeno líquido y se almacenó a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. La técnica empleada para obtener los espectros de metabolitos primarios fue $^1\text{H-NMR}$, la cual fue desarrollada siguiendo el protocolo descrito por López et al. (2015). Cada muestra consistió en una alícuota de 1 g de mesocarpio congelado, previamente molido con Molino mezclador MM 400 Restch y trasvasado a un tubo frío. Se agregaron 300 μl de buffer fosfato de potasio monobásico 1 M a pH 7,4 preparado con agua deuterada. Las muestras fueron centrifugadas a 15.000 $\times g$ (fuerza centrífuga relativa) por 30 minutos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo, midiendo el volumen obtenido. Se ajustó el pH de las soluciones a 7,4 con hidróxido de sodio 1 N utilizando un pHmetro acoplado a un microelectrodo. Como estándar interno se agregó la sal sódica del ácido 3-(trimetilsilil) propiónico-2,2,3,3- d_4 (TSP) 1 mM, en su forma deuterada excepto en los metilos unidos al átomo de silicio de manera de poder realizar la cuantificación absoluta de cada metabolito determinado. Las muestras se congelaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento. La utilización del estándar interno permite cuantificar los otros metabolitos presentes en la muestra y referenciar las señales de los protones del espectro de $^1\text{H-NMR}$ a la del estándar, el cual proporciona una única señal intensa a una $\delta = 0,00$ partes por millón (ppm). Al extracto obtenido se le realizó un análisis espectral por RMN a 600,13 megahercios en un espectrómetro de RMN Bruker Avance II (Bruker, Alemania). Las señales correspondientes a los protones fueron adquiridas a 298 grados K co-adicionando 512 puntos de datos transientes de 32 K con una demora de relajación de 5 segundos. Las señales intensas correspondientes a los protones del agua se suprimieron por técnicas de secuencia de pulsos 1D-NOESY. El pulso de ángulo de 90° de inclinación fue siempre de aproximadamente 10 microsegundos. La calibración de los espectros obtenidos se realizó usando el software TopSpin v.3.5 pl 7 (Bruker BioSpin GmbH). La asignación de las diferentes señales del espectro y la identificación de 26 metabolitos específicos (Figura 1) se llevó a cabo con el programa Mixtures v2.0 desarrollado *ad hoc* como alternativa de los programas comerciales (Abriata, 2012). Además, se incluyeron dos metabolitos desconocidos: metabolito desconocido 1 (doblete a 8,8 ppm) y metabolito desconocido 2 (singulete a 8,4 ppm). En el caso del experimento realizado con las NILs, solo se cuantificó el metabolito galactosa. La concentración de los metabolitos se expresó en micromol/gramo de peso fresco ($\mu\text{mol/gPF}$). Además, se usó un genotipo adicional como control de calidad ($n = 10$) en diferentes momentos del experimento (cuatro lotes de muestras analizadas). El análisis de los datos del control confirmó la reproducibilidad del experimento.

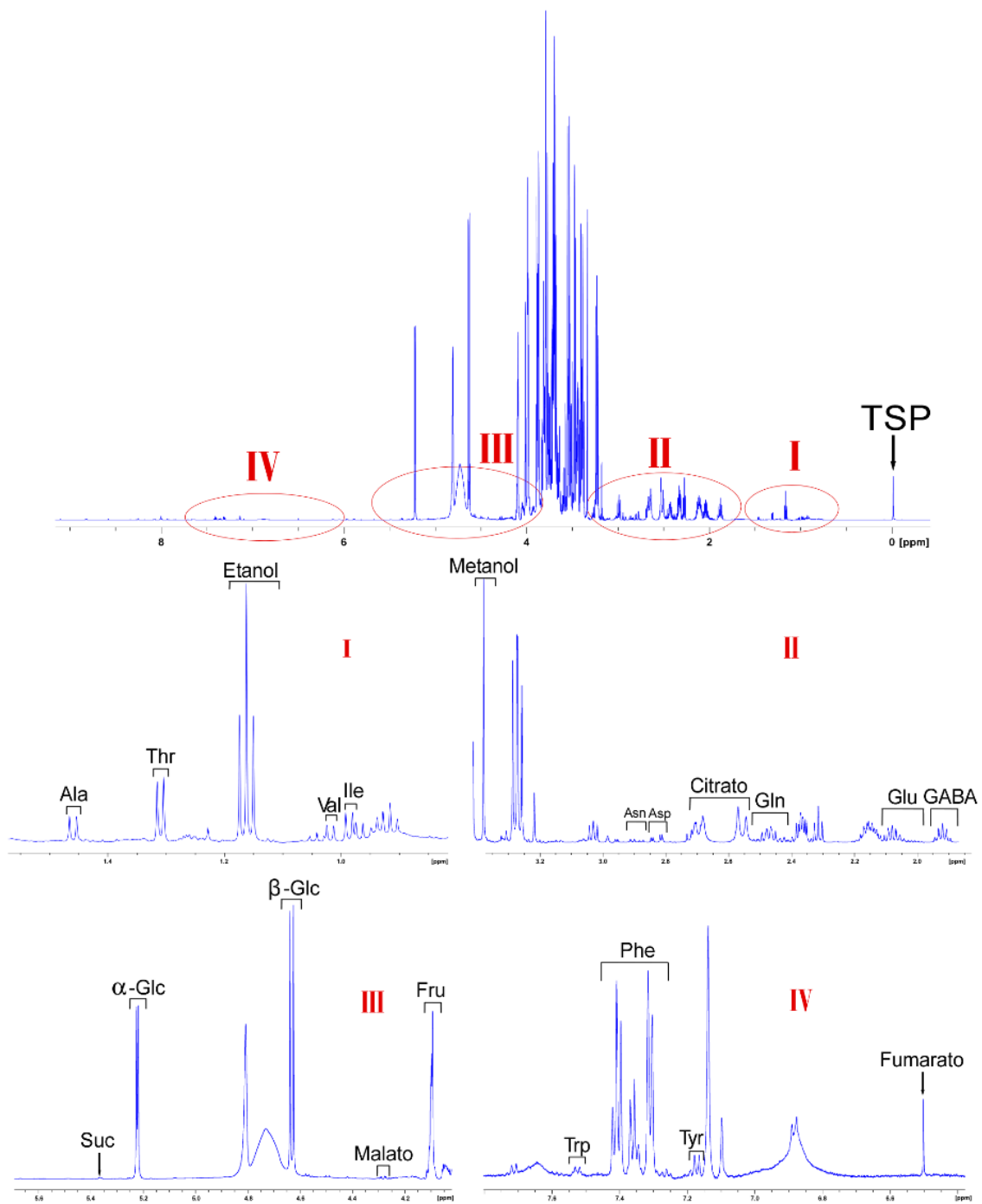


Figura 1. Espectro de resonancia magnética nuclear de protón representativo de mesocarpio de tomate extraído en buffer deuterado, a pH 7,4. Los compuestos conocidos fueron anotados de acuerdo con López et al. (2015). Isoleucina (Ile): doblete 0,98, valina (Val): doblete a 1,01, etanol: triplete a 1,15, treonina (Thr): doblete a 1,3, alanina (Ala): doblete a 1,45, ácido γ -aminobutírico (GABA): multiplete a 1,84, glutamato (Glu): multiplete a 2,05, piruvato: singulete a 2,35, succinato: singulete a 2,37, glutamina (Gln): multiplete a 2,44, citrato: doble doblete a 2,51, aspartato (Asp): doble doblete a 2,76, asparagina (Asn): multiplete a 2,82, α -cetoglutarato: triplete a 2,76, metanol:

singulete a 3,31, fructosa (Fru): multiplete a 4,08, malato: doble doblete a 4,27, β -glucosa (β -Glc): doblete a 4,62, manosa: doblete a 5,16, xilosa: doblete a 5,17, α -glucosa (α -Glc): doblete a 5,2, galactosa: doblete a 5,24, sacarosa (Suc): doblete a 5,38, fumarato: singulete a 6,49, tirosina (Tyr): doblete a 7,17, fenilalanina (Phe): multiplete a 7,38, triptófano (Trp): doblete a 7,51, ácido *trans*-cinámico: doblete a 7,56. Sal sódica del ácido 3-(trimetilsilil)propiónico-2,2,3,3-d₄ (TSP) 1 milimolar; partes por millón (ppm).

Extracción de ARN total, control de calidad, cantidad e integridad

Se extrajo ARN total de tres frutos al estado rojo maduro (réplicas biológicas) de 13 genotipos (Q, G, QxG, GxQ, RIL17, QxRIL17, RIL17xQ, PP, RIL17xPP, PPxRIL17, GZ, GxGZ, GZxG), cultivados en invernadero. Para ellos, se utilizó *Tripure Isolation Reagent* siguiendo las indicaciones del fabricante (Roche, Basilea, Suiza) con algunas modificaciones menores. Cada muestra consistió en mesocarpo de fruto al estado rojo maduro, congelado y molido. Se colocó entre 50 y 100 mg de polvo de mesocarpo congelado en un tubo de microcentrífuga nuevo de 1,5 ml y se agregaron 950 μ l de *Tripure Isolation Reagent* frío. Se agitó para homogeneizar y se incubó 5 minutos a temperatura ambiente. Se centrifugó durante 7 minutos a 12.000 \times g y se transfirió el sobrenadante a un tubo microcentrífuga nuevo esterilizado por duplicado. Para la separación de fases, se agregaron 200 μ l de cloroformo, las muestras se agitaron vigorosamente durante 15 segundos y se incubaron de 5 a 15 minutos a temperatura ambiente. Luego se centrifugaron durante 10 minutos a 12.000 \times g. Se continuó con la precipitación, por lo cual se transfirió la fase acuosa a un tubo nuevo estéril, se agregaron 500 μ l de isopropanol frío y cada muestra fue mezclada por inversión. Se incubó 20 minutos en hielo y se centrifugó durante 10 minutos a 4 °C y máxima velocidad. Se descartó el sobrenadante y se prosiguió con el lavado del pellet obtenido utilizando 200 μ l de etanol 80%. Se centrifugó 5 minutos, a 4 °C y 7.500 \times g para luego eliminar el sobrenadante y dejar secar el pellet durante 30 minutos a temperatura ambiente. Por último, se resuspendió el ARN con 40 μ l de agua MiliQ libre de ARNasas tratada con dietilpirocarbonato (DEPC) 0,1% doble estéril. Posteriormente se evaluó la concentración en ng/ μ l y la pureza mediante un espectrofotómetro Nanodrop Lite (Thermo Scientific™, EEUU). La calidad e integridad del ARN total extraído fue chequeada usando geles desnaturalizantes de agarosa 1,5%, con buffer MEN 1X (0,02 M ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico [MOPS], 5 mM acetato de sodio y 1 mM sal disódica del ácido etilendinitrilo-tetraacético [EDTA]) a pH 7,4 y visualización con Bromuro de Etidio. Para el gel se mezclaron 3 g de agarosa, 150 ml de agua destilada, 32 ml de formaldehído y 20 ml de MEN 10X para un volumen final de 200 ml. Cada muestra consistió en 5 μ l de solución ARN (2 μ g de ARN con agua DEPC estéril) con buffer de siembra (5 μ l de

formamida, 1,25 µl MEN 10X y 1,5 µl de formaldehído). Finalmente, se desnaturalizaron las muestras en termobloque durante 10 minutos a 65 °C y se realizó la siembra del gel.

Análisis transcriptómico por cDNA-AFLP

A partir del ARN total se extrajo una fracción rica en ARN poli(A) mediante captura magnética empleando oligos poli(T) biotinilados y *dynabeads* con streptavidina, utilizando el sistema comercial *PolyATtract® mRNA Isolation Systems* (Promega). La síntesis de la primera y segunda hebra de ADN complementario (cDNA, *complementary DNA*) se llevó a cabo mediante protocolos estándar (Sambrook et al., 1989, Vuylsteke et al., 2007) (Figura 2). La purificación del cDNA se realizó utilizando el *Kit Puro DNA Clean Up* de EmbioTec SRL. El producto se sometió a la digestión con las enzimas de restricción *ApoI* y *MseI*, según el protocolo de AFLP (Vos et al., 1995). Los adaptadores y cebadores están descritos en la Tabla 1. Las condiciones de ligación y de amplificación fueron descritos por Vos et al. (1995). Los fragmentos amplificados fueron separados por electroforesis en geles desnaturalizantes de poliacrilamida al 6% y visualizados por tinción con nitrato de plata.

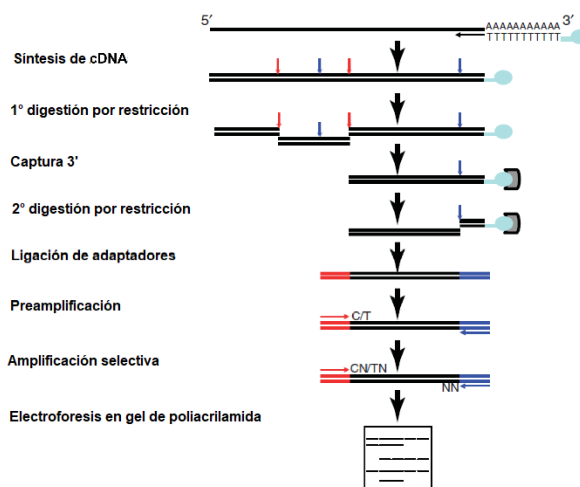


Figura 2: Ilustración de la técnica cDNA-AFLP extraída y modificada de Vuylsteke et al. (2007).

Tabla 1. Enzimas de restricción, adaptadores, cebadores para la pre-amplificación y amplificación selectiva, y combinaciones de cebadores para llevar a cabo el análisis transcriptómico por cDNA-AFLP.

Enzimas de restricción	<i>Apo I</i>	<i>Mse I</i>
Adaptadores	5'-CTCGTAGACTGCGTACC AATTGGTACGCAGTCTAC-5'	5'-GACGATGAGTCCTGAG TACTCAGGACTCAT-5'
Cebador pre-amplificación	CTCGTAGACTGCGTACCAATT	GACGATGAGTCCTGAGTAA

Cebador amplificación selectiva	5'-GACTGCGTACCAATTG (Apo11)	5'-GATGAGTCCTGAGTAAG (Mse37)
	5'-GACTGCGTACCAATTA (Apo12)	5'-GATGAGTCCTGAGTAAT (Mse38)
	5'-GACTGCGTACCAATTC (Apo13)	
COMBINACIÓN A:	COMBINACIÓN C:	
Apo11 – Mse37	Apo12 – Mse37	
COMBINACIÓN E:	COMBINACIÓN F:	
Apo13 – Mse37	Apo13 – Mse38	

Los geles se digitalizaron con escáner de mesa y se analizaron utilizando el programa *Gel-Pro Analyzer* v3.0. Para todos los genotipos se determinó la presencia y la ausencia de fragmentos derivados de transcritos (TDFs, *transcript-derived fragments*), asignando valores binarios (“1” para presencia y “0” para ausencia). Se consideró TDF a todo fragmento de determinada longitud (peso molecular), amplificado con una combinación específica de cebadores. Se estableció presencia cuando al menos dos de las tres réplicas biológicas presentaban el TDF y ausencia cuando una o ninguna réplica lo presentaba. Se contabilizó el número total de bandas y el número de bandas polimórficas y monomórficas por cruzamiento.

Análisis transcriptómico por RNA-seq

Preparación de las muestras a secuenciar

Luego de corroborar la calidad e integridad del ARN total extraído de tres frutos al estado rojo maduro (réplicas biológicas) de cada uno de los cuatro genotipos analizados (Q, G, QxG y GxQ), cultivados en invernadero, se realizaron dos réplicas técnicas por réplica biológica. Cada una consistió en una solución de 3 µg de ARN con agua DEPC 0,1% hasta alcanzar un volumen de 30 µl. Luego se agregó a la solución estéril de 0,1 volumen de acetato de sodio 3 M a pH 5,5 y 2 volúmenes de etanol absoluto, alcanzando un volumen final de 93 µl mezclando suavemente luego de cada paso. Las muestras fueron almacenadas a -20 °C hasta su secuenciación.

Construcción de la biblioteca y secuenciación

Para el proceso de construcción de la biblioteca y secuenciación de ARN mensajero (ARNm) se contrató el servicio de *Novogene Corporation, Inc.* (Sacramento, California, Estados Unidos). La calidad de los datos puede verse afectada desde la toma de las muestras hasta la secuenciación del ARN, lo cual influye en los resultados logrados. Para garantizar la confiabilidad de los datos, la empresa realiza control de calidad en cada paso del procedimiento. El ARNm es

fragmentado al azar al agregar un buffer de fragmentación, luego se sintetiza el cDNA usando la muestra del ARNm y cebadores hexámeros aleatorios. Posteriormente, se agrega un buffer de síntesis de la segunda hebra (Illumina), dNTPs, ARNasa H y ADN polimerasa I para iniciar la síntesis de la segunda hebra. Por último, se ligan los adaptadores en la posición 3' y se completa la biblioteca de cDNA a través de la selección de tamaño y enriquecimiento por PCR. Se construyeron bibliotecas *non-stranded* con tamaños de insertos de 250-300 pares de bases (pb).

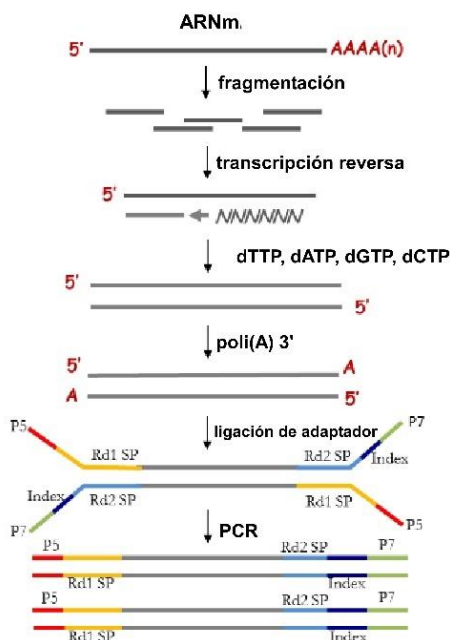


Figura 3. Diagrama de flujo de trabajo realizado para la construcción de la biblioteca. Traducción según protocolo de trabajo recibido por la compañía *Novogene Corporation, Inc.* (Sacramento, California, Estados Unidos)

Secuenciación

Las bibliotecas de buena calidad y que presentaron el tamaño de inserto adecuado, se introdujeron en los secuenciadores de Illumina Novaseq 6000 para realizar una secuenciación de 150 pb *paired-end*. Las lecturas de secuencias fueron subidas a la base de datos GenBank GEO bajo el número de accesión GSE199011.

Procesamiento, mapeo y expresión diferencial

Se evaluó la calidad de los datos con el programa *FastQC* (Andrews, 2010). El filtrado, alineamiento y recuento de lecturas se realizó utilizando los recursos del Centro de Cómputos de

CCT-Rosario, miembro del Sistema Nacional de Computación de Alto Desempeño (SNCAD, MinCyT - Argentina). Para el filtrado de adaptadores, secuencias sobre-representadas, lecturas de baja calidad ($Q < 20$) y cortas, se usó el programa *fastp* v0.21 (Chen et al., 2018), permitiendo retener aquellas lecturas de alta calidad. Se prosiguió con el alineamiento de las lecturas contra el genoma de referencia de tomate, versión ITAG 4.0, usando el programa *HISAT2* v 2.1.0 (Kim et al., 2015). El genoma de referencia y los archivos de anotación fueron descargadas del sitio FTP de Sol Genomics Network (ftp://ftp.solgenomics.net/tomato_genome/annotation/ITAG4.0_release/). Luego, se realizó el conteo de las lecturas con el programa *featureCounts* (Liao et al., 2014), perteneciente al paquete *subread*. Para el posterior filtrado, normalización y detección de expresión diferencial de genes entre muestras se utilizó el paquete *edgeR* (Robinson et al., 2010; McCarthy et al., 2012) del programa R v.4.0.3 (R Core Team, 2020). Aquellos genes con baja expresión (< 10 conteos) fueron removidos. Posteriormente, se realizó la normalización del conteo de las lecturas basado en la profundidad de secuenciación y el tamaño de la biblioteca, usando la media truncada de los valores M (TMM, *trimmed mean of M values*) entre cada par de muestras. Se realizaron ocho comparaciones: 1) Q vs G, 2) QxG vs GxQ, 3) QxG vs Q, 4) QxG vs G, 5) GxQ vs Q, 6) GxQ vs G, 7) QxG vs el padre medio y 8) GxQ vs el padre medio. El valor de expresión de cada gen en el padre medio fue estimado *in silico* como un promedio de la expresión de dicho gen en ambas líneas parentales. La detección de genes expresados diferencialmente (DEGs, *differentially expressed genes*) fue llevada a cabo con dos límites distintos basados en la tasa de descubrimiento falso (FDR, *false discovery rate*) y los niveles de expresión. En un primer análisis, se consideraron DEGs cuando el $FDR < 0,01$ y \log_2FC (*fold change*) > 1 (sobre-regulado) o $\log_2FC < -1$ (infra-regulado). En un segundo análisis más restrictivo, se consideró expresión diferencial cuando el $FDR < 0,001$ y $\log_2FC > 2$ (sobre-regulado) o $\log_2FC < -2$ (infra-regulado). Para visualizar la distribución de los DEGs entre los 12 cromosomas de tomate, se construyó un mapa físico basado en la localización física de cada DEG y en el largo de cada cromosoma, usando la herramienta digital *MG2C* v2 (Chao et al., 2021). El análisis de enriquecimiento funcional por ontología génica (GO, *gene ontology*) se realizó usando la herramienta *agriGO* v2.0 (Tian et al., 2017), considerando un $FDR < 0,05$. Dado que ambos genotipos parentales llevan introgresiones del genotipo silvestre *S. pimpinellifolium* (Cambiaso et al. 2019a), aquellas lecturas que no alinearon al genoma de referencia fueron comparadas con los datos disponibles en el pan-genoma de tomate (Gao et al., 2019) y se realizó el análisis de expresión génica siguiendo la misma metodología explicada anteriormente.

Validación de datos por qRT-PCR

Síntesis de cDNA

En primera instancia, el ARN de las mismas muestras analizadas por RNA-seq se trató con ADNasa. Para cada muestra, 0,5-1 µg de ARN fue llevado a un volumen final de 16 µl con agua DEPC 0,1% estéril e incubado durante 30 minutos a 37 °C junto con 2 µl de buffer ADNasa (Promega) y 1 µl de ADNasa (Promega). Luego se agregó 1 µl de *DNAsa Stop Solution* (Promega) a cada tubo de microcentrífuga, la cual posee EDTA para remover los cationes divalentes y evita que el ARN se degrade al calentarlo. Las muestras fueron incubadas durante 1 minuto a 65 °C y se continuó con la retrotranscripción. Para ello, en un nuevo tubo microcentrífuga de 1,5 ml se mezclaron 12 µl de la solución previa con 0,5 µl de Oligo(dT) 0,5 µg/ µl y 1 µl de dNTPs 10 mM (Promega). La mezcla fue incubada durante 5 minutos a 65 °C y al menos 1 minuto en hielo, lo que permite la adhesión de los Oligo(dT). Posteriormente, se agregaron 4 µl de *Buffer First Strand 5X* (Invitrogen), 1 µl de DTT 0,1 M (Invitrogen), 0,5 µl de inhibidor de ARNasa (Promega) y 1 µl de enzima MMLV (Invitrogen) a los 13,5 µl anteriores, y se incubaron las muestras durante 60 minutos a 50 °C. Se inactivó la reacción durante 15 minutos a 70 °C y se almacenaron las muestras a -20 °C hasta su uso.

Chequeo de amplificación del cDNA

Para corroborar la correcta síntesis del cDNA se realizó la amplificación de todas las muestras utilizando los cebadores *forward* y *reverse* específicos del gen *RPL2 (Solyc12g005330.1)*. Para ello, a 1 µl de dilución 1:10 del cDNA se le agregó *Buffer 1X* (TransGen), 1 µM del cebador *forward*, 1 µM cebador *reverse*, 0,65 µM de dNTPs (Promega), 1 U de Easy Taq (TransGen) y agua MiliQ estéril hasta alcanzar 20 µl. El protocolo de la PCR fue el siguiente: 1) desnaturalización durante 3 minutos a 95 °C, 2) 35 ciclos comprendiendo un paso de desnaturalización durante 30 segundos a 94 °C, alineamiento de los cebadores durante 40 segundos a 60 °C, extensión durante 50 segundos a 72 °C, 3) extensión final durante 5 minutos a 72 °C. Por último, los fragmentos amplificados se chequearon en gel de agarosa 1,5% con *buffer TAE 1X* (40 mM Tris-acetato + 1 mM EDTA a pH 8,3) y se visualizaron con tinción con bromuro de etidio.

PCR en tiempo real

La reacción de PCR se llevó a cabo en un termociclador Mastercycler® ep realpex (Eppendorf) usando colorante SYBR Green I (Roche). Los niveles de transcritos en las muestras de ARN fueron normalizados al nivel del transcripto del gen *RPL2*. Se realizaron tres réplicas biológicas por genotipo, coincidentes con las muestras evaluadas por RNA-Seq. La mezcla de la reacción y el análisis de datos se llevaron a cabo según D'Angelo et al. (2019). Las condiciones de PCR fueron 1 minuto a 95 °C y 40 ciclos de 15 segundos a 95 °C, 30 segundos a 60 °C y 40 segundos a 72 °C. Se incluyó una curva de *melting* para cada gen usando las siguientes condiciones: 15 segundos a 95 °C, 15 segundos a 60 °C, y una rampa de 20 minutos compuesta por 15 segundos incrementando de 60 a 95 °C. Las secuencias de los cebadores utilizados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Secuencias de los cebadores usados para la PCR en tiempo real

Gen	Cebador
Solyc12g005330.1	For: CGTGGTGTGCTATGAATCC Rev: GTCAGCTTTGGCAGCAGTAG
Solyc12g005860.2	For: TGGTGAAGTTGGCCCAAAGACG Rev: TGCAGCATCAAACACGGAGAGC
Solyc01g087250.3	For: CACAGCTTGAAGTTGGAGGGAATG Rev: ACAGCCTCCGAACCAAATCTGC
Solyc02g093600.3	For: TCTCAAGCTCACTGCTTCTTCGTC Rev: TCCACTTTCACATCCTCTTTGCTG
Solyc01g095630.3	For: TCTGCAACACCAAACCATAACGC Rev: TGTAGTGGTGCAGGAGGGAATG
Solyc03g093550.1	For: TGGTCGACGATTTGGGATGGAAC Rev: CAAGCTGAGACAAGGGTGACAATG
Solyc01g099370.3	For: TTAGGGTTGGGTGCAGGATTGC Rev: ACATCTCTCCCACGTCAGAAACC
Solyc03g093560.1	For: AACGTAGCAATACCGGCGAAGC Rev: GTCACGAATCTCCGCTGCAAAC
Solyc01g108100.3	For: AACTACAGAGCAAGAGCAAGTGC Rev: AGCTCCCGTCATTGTTTGGTGAAG
Solyc04g078880.3	For: TCAATCCTTCGGGCCAGTATAAGG Rev: CTGAGGCTGGTCTTTCTTGAAGTC

Análisis de datos

Los análisis univariados y multivariados se realizaron usando el programa Infostat Profesional, v. 2018p (Di Rienzo et al., 2018) y el lenguaje de programación R v.4.0.3 (R Core Team, 2020).

La distribución normal de los datos fue verificada en cada uno de los análisis mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk, 1965). Una variable se consideró normal cuando la probabilidad asociada a la prueba mostró un valor menor a 0,05 ($p < 0,05$).

Evaluación de los genotipos parentales en dos ambientes

Se calculó la media aritmética y el error estándar de cada variable y genotipo para cada ambiente. Luego, se analizó la variabilidad de cada carácter agronómico y metabolito entre los cinco genotipos parentales a través de análisis de la varianza (ANOVA, *analysis of variance*) de un factor. Se usó ANOVA factorial para estimar los efectos genotipo, ambiente, e interacción genotipo por ambiente ($G_e \times E_n$, *genotype by environment interaction*). En ambos casos, como alternativa no paramétrica se empleó el análisis de Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952). Para observar la diversidad fenotípica y el comportamiento de los genotipos parentales en ambas condiciones ambientales, se realizó un mapa de calor (*heatmap*) con el paquete *gplots* (Warnes et al., 2020) y un análisis de componentes principales (PCA, *principal component analysis*) usando la media estandarizada (media cero, varianza uno) de cada carácter (40) y genotipo parental (5), con el paquete *FactoMineR* (Le et al., 2008) y *factoextra* (Kassambara y Mundt, 2020).

Caracterización agronómica y metabólica de los 25 genotipos en invernadero

Se calculó la media aritmética y el error estándar de cada variable y genotipo. Luego, se analizó la variabilidad de cada carácter agronómico y metabolito entre todos los genotipos (Grupo 1 – G1) y solo entre los híbridos (Grupo 2 – G2) a través de ANOVA de un factor. Como alternativa no paramétrica se empleó el análisis de Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952). La diversidad fenotípica y la variación de la media estandarizada (media cero, varianza uno) de los 40 caracteres y 25 genotipos incluidos en el análisis fue verificada a través de un *heatmap* con el paquete *gplots* (Warnes et al., 2020) y un PCA con los paquetes *FactoMineR* (Le et al., 2008) y *factoextra* (Kassambara y Mundt, 2020).

Componentes genéticos de caracteres agronómicos y metabólicos

Como se mencionó en la sección de material vegetal, los híbridos se obtuvieron siguiendo un diseño de cruzamientos dialélico completo (método 1, modelo 1, con efectos fijos), según Griffing (1956):

$$Y_{ij} = m + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + e_{ij}$$

Dónde: Y_{ij} es la media del híbrido entre "i" y "j", m es la media general, g_i es el efecto de la aptitud combinatoria general de "i", g_j es el efecto de la aptitud combinatoria general de "j", s_{ij} es el efecto de la aptitud combinatoria específica del híbrido entre "i" y "j", r_{ij} es el efecto recíproco, y e_{ij} es el error experimental.

Este análisis se utilizó para estimar la aptitud combinatoria general (GCA, *general combining ability*) y específica (SCA, *specific combining ability*) de los genotipos y la existencia de efecto recíproco para cada carácter. Se utilizó el paquete *DiallelAnalysisR* (Yaseen, 2016).

Estimación de acciones génicas, heterosis y efectos recíprocos

A partir de ANOVA o su alternativa no paramétrica Kruskal-Wallis por cruzamiento y por carácter agronómico y metabolito se realizaron comparaciones múltiples con el método Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) (Di Rienzo et al., 2002). Estas pruebas estadísticas univariadas se emplearon para estimar acciones génicas, heterosis respecto al mejor padre (BPH, *best-parent heterosis*) y al padre medio (MPH, *mid-parent heterosis*), y efecto recíproco, considerando $p < 0,05$. En el caso de los DEGs obtenidos por RNA-seq, las acciones fueron definidas considerando un $FDR < 0,01$ y $\log_2FC \geq 1$. De esta manera, para los tres tipos de variables cuatro acciones génicas clásicas fueron estimadas: aditiva, dominancia parcial, dominancia completa, sobredominancia; además de efecto materno y paterno (Figura 4). Se consideró una acción génica aditiva cuando el híbrido no fue diferente del valor del padre medio o promedio entre los valores de los progenitores. Cuando el valor medio de la F_1 fue intermedio al promedio de ambos padres, pero difirió del padre medio, se definió dominancia parcial. Dominancia completa fue considerada cuando el valor medio del híbrido no difirió de uno de los padres, mientras que se definió sobredominancia cuando el híbrido superó en su valor medio al mejor padre. Además, efecto materno y paterno se consideraron cuando los valores medios de los híbridos no fueron diferentes de las líneas parentales materna y paterna, respectivamente.

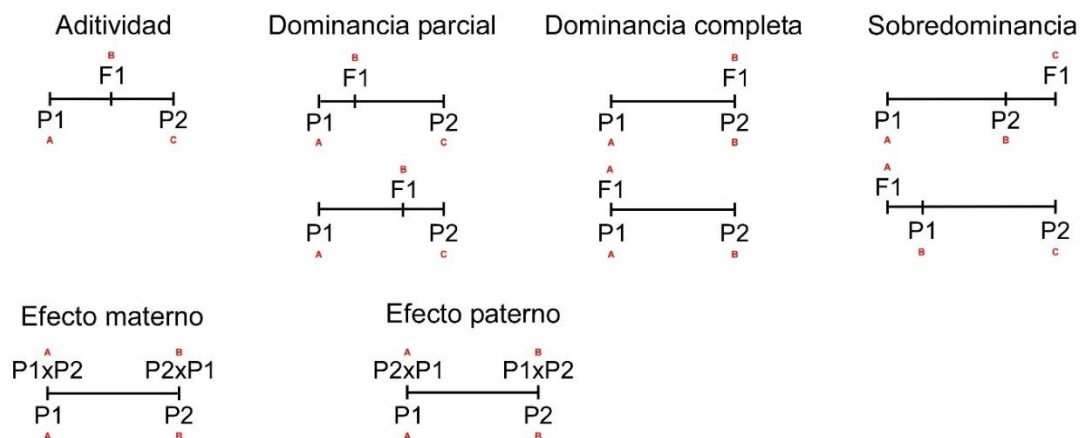


Figura 4. Tipos de acciones génicas estimadas para caracteres agronómicos y metabolitos.

En el caso de los datos cualitativos obtenidos a partir de los perfiles de cDNA-AFLP se asignó un tipo de acción génica de acuerdo al polimorfismo entre padres, híbridos y ambos (Figura 5). Los mismos consistieron en: dominancia completa (igual perfil entre un genotipo parental y los dos híbridos), sobredominancia (presencia en el híbrido y ausencia en los parentales o viceversa), efecto materno (igual perfil del TDF entre un híbrido y su línea materna) y efecto paterno (igual perfil del TDF entre un híbrido y su línea paterna). Además, se determinó efecto recíproco cuando el perfil fue diferente entre ambos híbridos recíprocos.

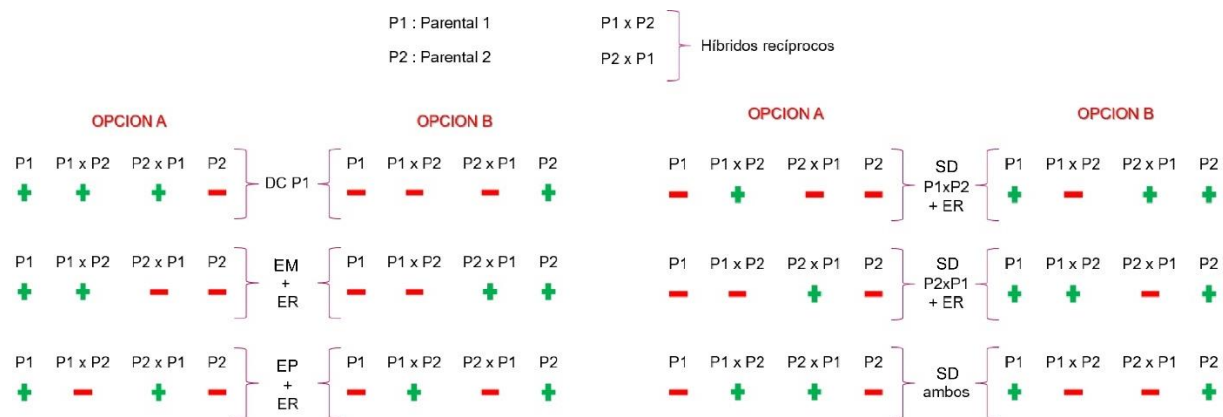


Figura 5. Tipos de acción génica asignada a los fragmentos polimórficos detectados en cDNA-AFLP.

BPH y MPH muestran el porcentaje de incremento o disminución del valor medio del carácter por efecto del híbrido F₁ comparado con su mejor padre y su padre medio, respectivamente.

$$BPH = \frac{F_{1i} - BP_i}{BP_i} \times 100 \qquad MPH = \frac{F_{1i} - MP_i}{MP_i} \times 100$$

Donde F_{1i} es el valor medio del híbrido para el carácter “ i ”, BP_i es el valor del mejor padre para el carácter “ i ”, MP_i es el valor del padre medio para el carácter “ i ”, y.

Posteriormente, se definió efecto recíproco para los caracteres agronómicos y metabolitos como la existencia de diferencia ($p < 0,05$) en el valor medio de los híbridos recíprocos. En el caso de los DEGs obtenidos por RNA-seq, se consideró existente cuando las F_1 difirieron con un $FDR < 0,001$ y $\log_2FC \geq 2$.

Correlaciones fenotípicas entre caracteres agronómicos y metabolitos

Se calculó el coeficiente de correlación fenotípica (r_p) de Spearman entre todos los caracteres y genotipos resultantes del cruzamiento dialélico completo, utilizando los datos por planta. A partir de aquellas relaciones significativas ($p < 0,001$), se construyó una red de correlaciones con el programa Cytoscape v.3.8.2 (Shannon et al., 2003). De igual modo, se calcularon las r_p solo entre líneas parentales y solo entre híbridos.

Además, se analizó el efecto de los genes que controlan el número de lóculos sobre la vida poscosecha, forma, firmeza y el contenido de galactosa en fruto. Para eso se tomaron los datos por planta de las tres NILs y el genotipo LA1589 y se calcularon las correlaciones fenotípicas de Spearman.

Análisis conjunto de datos de transcriptómica y metabolómica

Con el fin de analizar el grado de consenso o congruencia entre los datos obtenidos por cDNA-AFLP y 1H -NMR, y entre RNA-seq y 1H -NMR se realizaron dos Análisis de Procrustes Generalizado (Gower, 1975). Luego, se llevó a cabo un PCA para visualizar la variación cuantitativa del segundo grupo de datos, utilizando los paquetes *FactoMineR* (Le et al., 2008) y *factoextra* (Kassambara y Mundt, 2020). Se incluyeron los valores medios estandarizados (media cero, varianza uno) de los genotipos evaluados a través de los 200 DEGs y 13 metabolitos diferenciales (DMs, *differential metabolites*), considerando todas las comparaciones. Además, se calcularon los coeficientes de correlación fenotípica de Spearman entre todas las variables. Posteriormente, se construyó una red de r_p considerando un $p < 0,05$ entre DEGs y DMs, usando el programa Cytoscape v 3.8.2 (Shannon et al., 2003).

RESULTADOS

ANÁLISIS DE DATOS FENOTÍPICOS EN LOS GENOTIPOS PARENTALES

Los cinco genotipos parentales fueron evaluados para 12 caracteres agronómicos y 28 metabolitos bajo dos condiciones de cultivo: invernadero y campo. Los genotipos fueron diferentes ($p < 0,05$) para diez caracteres agronómicos y 20 metabolitos en invernadero y para 11 caracteres agronómicos y 16 metabolitos a campo (Figura 6 y Anexo 1). SS y acidez titulable fueron diferentes ($p < 0,05$) solo a campo. Fructosa, glucosa y xilosa no difirieron significativamente entre los genotipos en ambos ambientes. Los azúcares sacarosa y galactosa, los aminoácidos fenilalanina, triptófano y tirosina, los ácidos orgánicos citrato y fumarato, así como metanol y el metabolito desconocido 2 mostraron diferencias solo en el cultivo bajo invernadero. Manosa fue el único azúcar que mostró diferencias a campo, junto con el ácido orgánico α -cetoglutarato, y los aminoácidos alanina, isoleucina y ácido γ -aminobutírico.

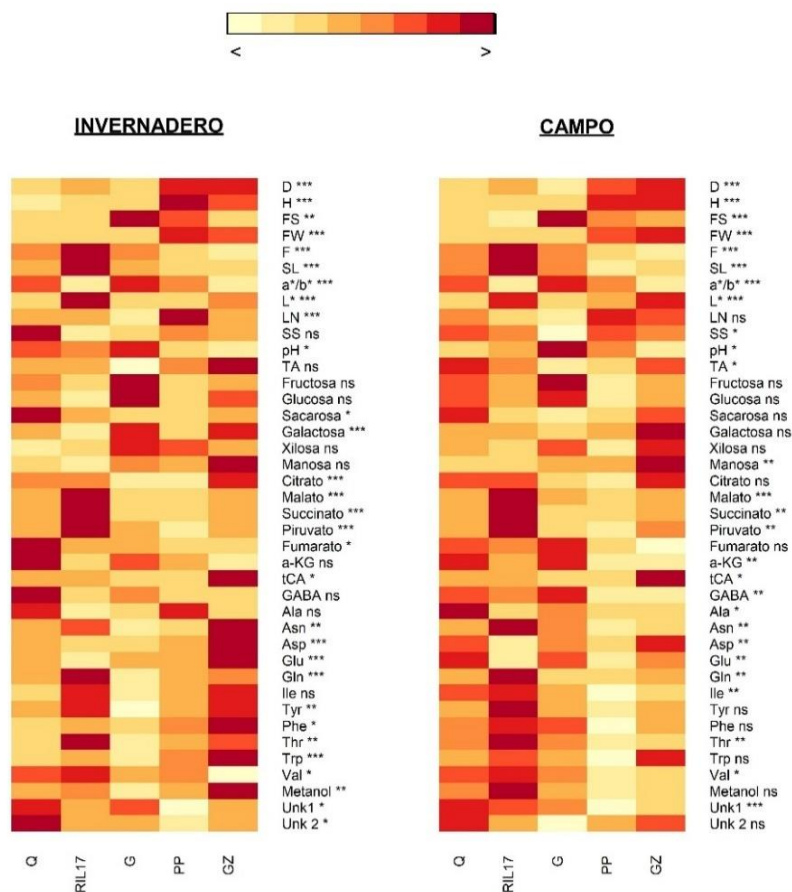


Figura 6. *Heatmap* que muestra la variación cuantitativa de la media estandarizada (media cero, varianza uno) de cada carácter y genotipo parental evaluado, en ambos sistemas de cultivo. El material vegetal incluyó: Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Purple Pear (PP) y Green Zebra (GZ). Se incluye, además, el valor de significancia de las diferencias estadísticas encontradas entre genotipos en cada uno de los ambientes. Diámetro de fruto (D), altura de fruto (H), forma de fruto (FS), peso de fruto (FW), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*). Fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), α -cetogluturato (α -KG), ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras. ***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$; ns: $p > 0,05$

Se realizó un PCA para visualizar la variación fenotípica y la estabilidad del comportamiento de los genotipos parentales en ambos ambientes. La variabilidad de los cinco genotipos parentales para todos los caracteres de fruto, tanto a campo como en invernadero, se muestra en la Figura 7A. Los genotipos parentales mostraron un comportamiento similar en ambos ambientes. Independientemente del ambiente evaluado, los genotipos parentales se distribuyeron en tres grupos. PP y GZ co-localizaron en el mismo cuadrante definido por los valores negativos de la componente principal 1 (PC1, *principal component 1*) y los valores positivos de la componente principal 2 (PC2, *principal component 2*) en donde los caracteres relacionados a tamaño de fruto (diámetro, altura, peso) son los que explican mayormente la variabilidad (Anexo 2). Q y G exhibieron un comportamiento similar (ubicados en la PC2 negativa), pero opuesto a los cultivares criollos americanos, y sus frutos fueron distinguibles principalmente por los mayores valores medios de pH y a^*/b^* . La RIL17 fue el genotipo más diferente ubicándose en el cuadrante definido por los valores más altos de succinato, malato, piruvato, glutamina y treonina.

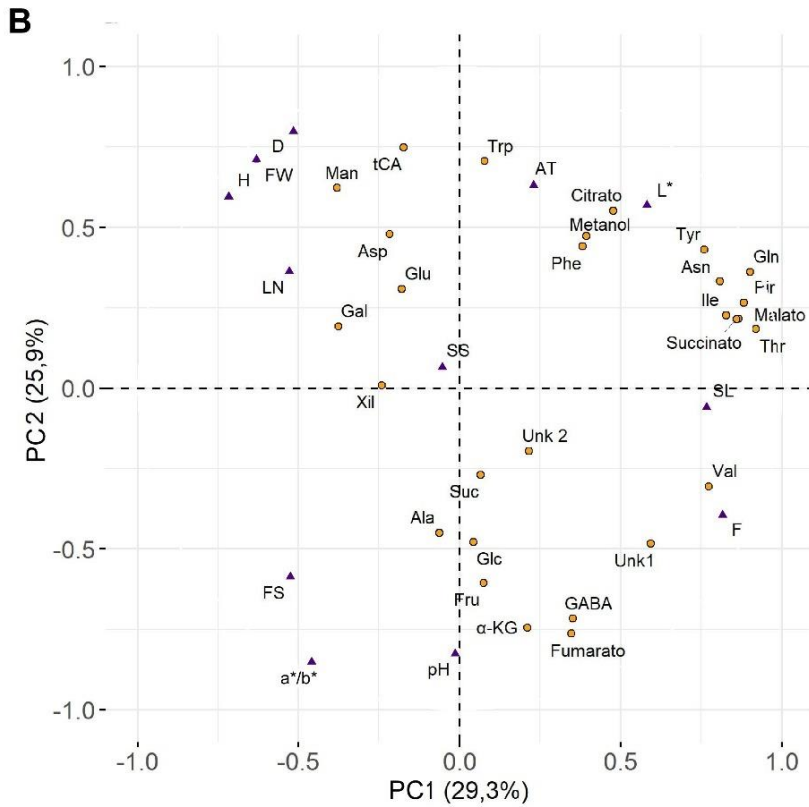
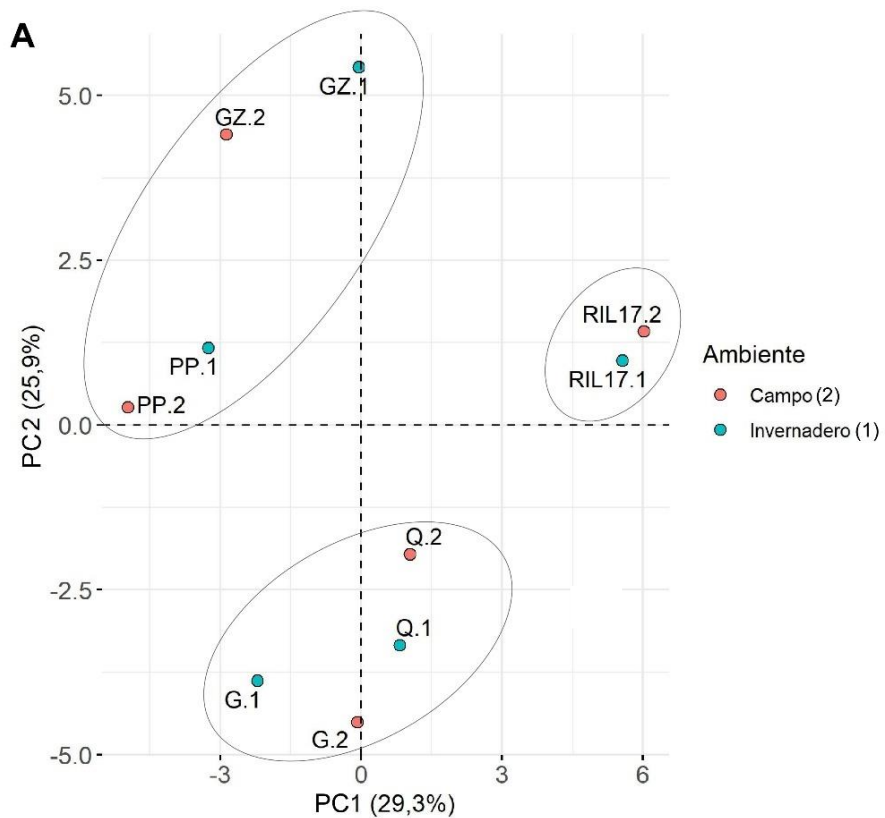


Figura 7. Análisis de componentes principales (PC) que muestra la variación fenotípica de los valores medios estandarizados (media cero, varianza uno) de las 40 variables medidas en frutos de cinco genotipos de tomate (Querubín FCA [Q], Gema FCA [G], RIL17, Green Zebra [GZ], Purple Pear [PP]), crecidos en dos ambientes. A) *Score plot* de los genotipos que muestra la variación fenotípica y la estabilidad del comportamiento de los genotipos en invernadero (1) y a campo (2). B) *Loading plot* de los 12 caracteres agronómicos (triángulo) y 28 metabolitos (círculo). Peso de fruto (FW), altura de fruto (H), diámetro de fruto (D), forma de fruto (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*). Fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), α -cetoglutarato (α -KG), ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras.

Además, se calcularon los efectos genotipo, ambiente y $G_e \times E_n$ subyacentes a cada uno de los 12 caracteres agronómicos y 28 metabolitos de fruto, lo cual se puede visualizar en la Figura 8 y la Tabla 3. La mayoría de los caracteres (36 de 40 o 90%) tuvieron efecto genotipo significativo ($p < 0,05$). Por otro lado, el efecto ambiente fue significativo para el 40% (16/40) de las variables, similar al porcentaje encontrado para $G_e \times E_n$ el cual alcanzó un 43% (17/40). Todos los grupos de caracteres tuvieron valores significativos para cada uno de los componentes de la varianza, con la excepción de los azúcares que no mostraron efecto ambiente significativo ($p > 0,05$) en ambas condiciones de cultivos evaluadas. La mayoría de los caracteres agronómicos (11/12 o 92%) tuvieron efecto genotipo significativo ($p < 0,05$), mientras que efecto ambiente y $G_e \times E_n$ fueron significativos para el 50% (6/12) y 33% (4/12) de los mismos, respectivamente. Dentro de los metabolitos, todos los ácidos orgánicos estimados (7/7 o 100%) tuvieron efecto genotipo significativo ($p < 0,05$), seguido por los aminoácidos (11/12 o 92%) y los azúcares (4/6 o 67%). Tanto los ácidos orgánicos como los aminoácidos tuvieron un porcentaje de efecto ambiente significativo ($p < 0,05$) similar, 43% (3/7) y 42% (5/12), respectivamente. Además, los aminoácidos tuvieron el mayor porcentaje de $G_e \times E_n$ (8/12 o 67%).

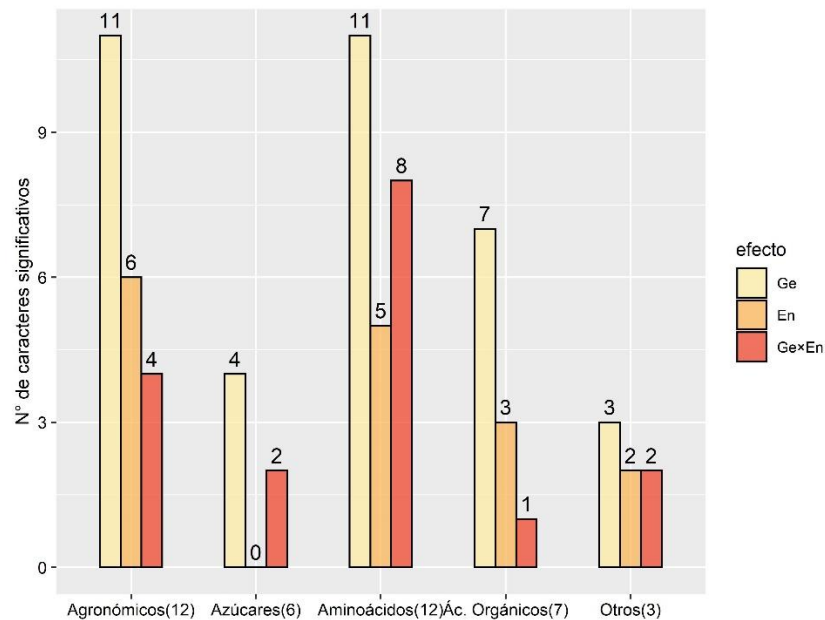


Figura 8. Efecto genotipo (G_e), ambiente (E_n) e interacción genotipo \times ambiente ($G_e \times E_n$) subyacente a cada uno de los cinco tipos de caracteres evaluados (caracteres agronómicos, azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos y otros metabolitos)

Tabla 3. Valores del error tipo I para los componentes del análisis de la varianza: genotipo (G_e), ambiente (E_n) e interacción genotipo \times ambiente ($G_e \times E_n$). El material vegetal incluyó Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Green Zebra (GZ), Purple Pear (PP). Índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*). Metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2)

Caracteres	G_e	E_n	$G_e \times E_n$
Diámetro	<0,0001	0,0067	ns
Altura	<0,0001	0,0012	ns
Forma	<0,0001	ns	ns
Peso	<0,0001	0,0028	0,0097
Firmeza	<0,0001	0,0214	ns
Vida poscosecha	<0,0001	ns	<0,0001
a^*/b^*	<0,0001	ns	0,0026
L^*	<0,0001	0,0006	0,0005
Número de lóculos	0,012	ns	ns
Sólidos solubles	ns	0,0009	ns
pH	0,0003	ns	ns
Acidez titulable	<0,0001	ns	ns
TOTAL AGRONÓMICOS	11 (91,67%)	6 (50,00%)	4 (33,33%)
Fructosa	0,0296	ns	ns
Glucosa	ns	ns	ns
Sacarosa	0,0008	ns	0,0094
Galactosa	<0,0001	ns	0,0002
Xilosa	ns	ns	ns
Manosa	0,0005	ns	ns

TOTAL AZÚCARES	4 (66,67%)	0 (0,00%)	2 (33,33%)
Citrato	0,0001	0,0280	ns
Succinato	<0,0001	ns	ns
Piruvato	<0,0001	ns	ns
Malato	<0,0001	ns	0,0097
Fumarato	0,0065	ns	ns
α-cetoglutarato	0,0014	0,0083	ns
Ácido <i>trans</i> -cinámico	0,0005	0,0294	ns
TOTAL ÁCIDOS ORGÁNICOS	7 (100,00%)	3 (42,86%)	1 (14,29%)
Ácido γ-aminobutírico	0,0022	0,0470	ns
Alanina	0,0057	ns	0,0088
Asparagina	0,0005	ns	0,0032
Aspartato	<0,0001	0,0001	<0,0001
Glutamato	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Glutamina	<0,0001	ns	ns
Isoleucina	0,0061	ns	0,0218
Fenilalanina	ns	0,0448	0,0067
Treonina	<0,0001	ns	0,0046
Triptófano	0,0001	0,0062	0,0055
Valina	0,0007	ns	ns
Tirosina	0,0045	ns	ns
TOTAL AMINOÁCIDOS	11 (91,67%)	5 (41,67%)	8 (66,67%)
Metanol	0,0099	0,0002	0,0032
Unk1	<0,0001	ns	ns
Unk 2	0,0014	0,0396	0,0227
TOTAL OTROS METABOLITOS	3 (100,00%)	2 (66,67%)	2 (66,67%)
CARACTERES SIGNIFICATIVOS/TOTAL	36 (90,00%)	16 (40,00%)	17 (43,00%)

ns: p>0,05

La caracterización de los genotipos parentales demostró que el genotipo fue el componente más importante del fenotipo. En las condiciones evaluadas, el ambiente o sistema de cultivo, así como la $G_e \times E_n$ afectaron aproximadamente a un 40% de los caracteres analizados. Dado que las diferencias fenotípicas fueron principalmente dependientes del genotipo, se condujo un diseño de cruzamientos dialélico completo solo en invernadero. Este experimento adicional fue diseñado para estimar las acciones génicas que rigen cada carácter, evaluar aptitudes combinatorias y analizar la presencia de efectos recíprocos y heterosis.

ANÁLISIS DE DATOS FENOTÍPICOS DEL CRUZAMIENTO DIALÉLICO

Caracterización agronómica y metabólica de los 25 genotipos cultivados en invernadero

A partir de un diseño de cruzamientos dialélico completo entre cinco genotipos parentales se obtuvieron 20 híbridos. Frutos representativos de cada genotipo en tres estados de madurez (verde maduro, pintón y rojo maduro) pueden observarse en la matriz graficada en la Figura 9. De los 25 genotipos evaluados, la RIL17 fue el único con frutos maduros amarillos. Por otro lado, se puede observar que aquellos híbridos en los que PP y/o GZ actuaron como líneas parentales (materna o paterna) desarrollaron frutos de mayor tamaño que las F₁ entre las RILs.

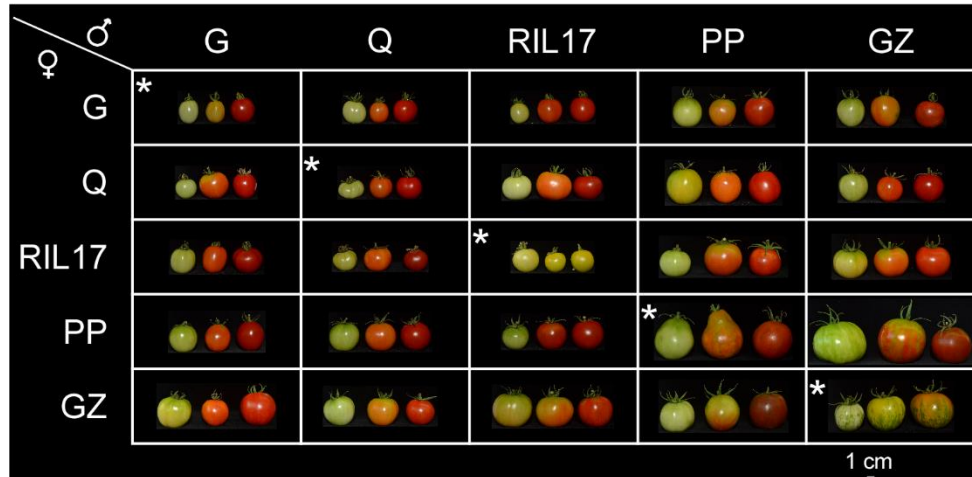


Figura 9. Frutos representativos de cada genotipo en los estados de madurez verde maduro, pintón y rojo maduro (Giovannoni, 2004). Las filas y columnas representan a los genotipos maternos y paternos, respectivamente. Los genotipos parentales están localizados en la diagonal marcada con asteriscos, mientras que a ambos lados de la misma se encuentran los híbridos recíprocos. Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Green Zebra (GZ), Purple Pear (PP)

La variación cuantitativa de los valores medios estandarizados (media cero, varianza uno) de cada variable y para cada genotipo junto con las diferencias entre todos los genotipos (G1) y entre los híbridos (G2) se muestran a través de un *heatmap* en la Figura 10. Un alto porcentaje de los caracteres fue diferente significativamente ($p < 0,05$) en al menos un grupo, excepto para alanina. La mayoría de los caracteres agronómicos tuvo diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) en ambos grupos, excepto por el número de lóculos el cual no mostró diferencias entre los híbridos. Como se mencionó en la caracterización de las líneas parentales, fructosa, glucosa, xilosa y

manosa no fueron diferentes entre los genotipos parentales (Figura 6 y Anexo 1), sin embargo, sí lo fueron entre los híbridos (G2 – Figura 10).

La RIL17 fue el genotipo con el mayor contenido de malato, succinato y piruvato, así como la mayor vida poscosecha. Interesantemente, los híbridos RIL17xQ, QxRIL17, RIL17xG, GxRIL17, PPxRIL17 y RIL17xGZ, en los cuales la RIL17 actuó como genotipo parental tuvieron una vida poscosecha media mayor en comparación con las demás F₁s. Como se mencionó anteriormente, PP y GZ desarrollan frutos de mayor tamaño comparado con Q, G y RIL17. Por otro lado, al igual que se destacó en la matriz de la Figura 9, cuando PP o GZ actuaron como parental, ya sea materno o paterno, sus híbridos tuvieron frutos más grandes que el resto de las F₁s, indicando que ambos portan alelos cultivados que incrementan el tamaño de fruto. En general, PP tuvo un contenido de metabolitos primarios menor que los demás genotipos parentales. Los híbridos RIL17xQ y RIL17xGZ fueron los que acumularon mayor contenido de aminoácidos, incluso mayor que sus genotipos parentales.

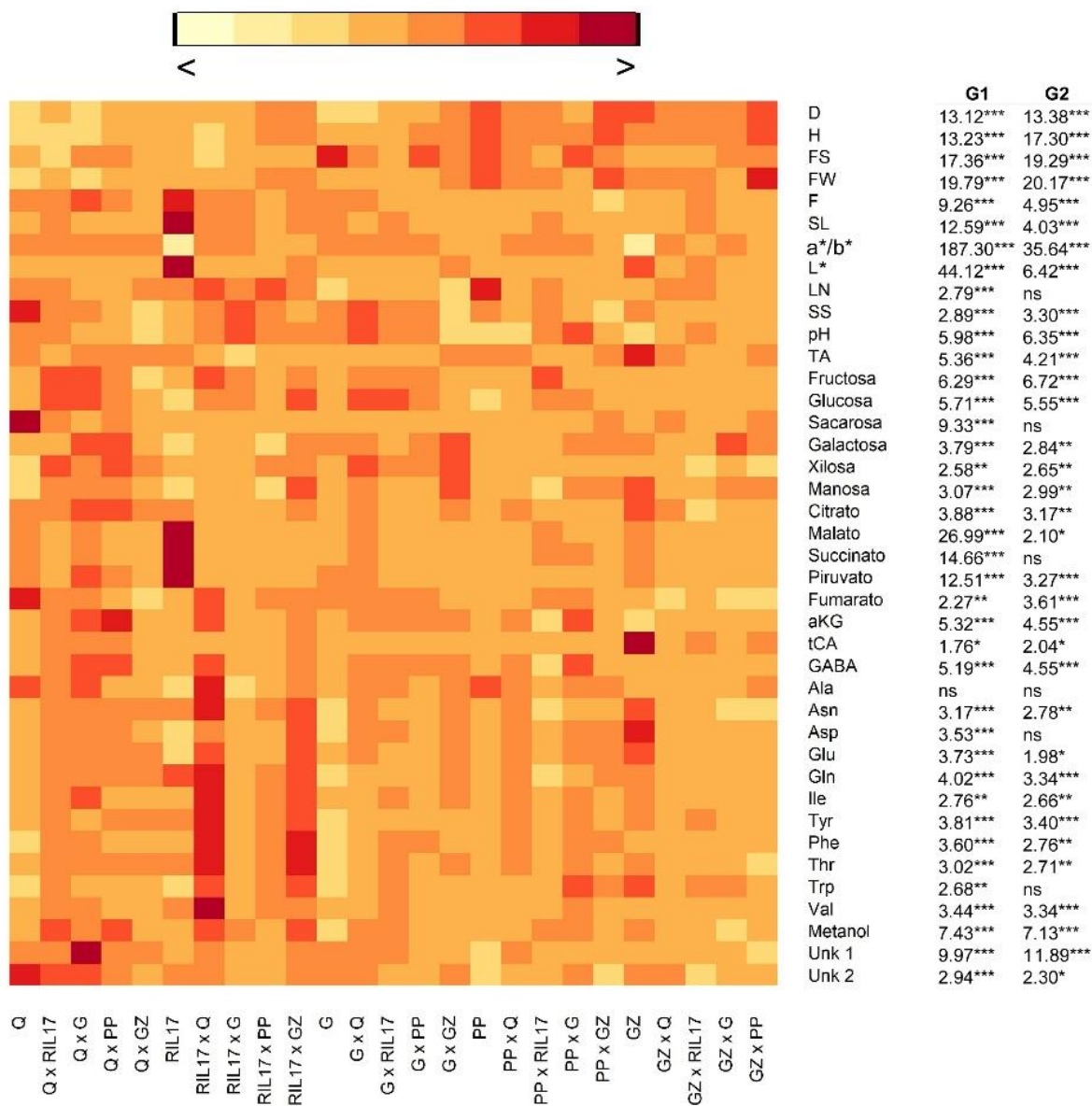


Figura 10. Heatmap representativo de la variación cuantitativa de la media estandarizada (media cero, varianza uno) de caracteres agronómicos y metabolitos, valores del estadístico F de Snedecor y probabilidad obtenidos por ANOVA. El material vegetal incluyó Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ), y los 20 híbridos resultantes de su cruzamiento. En los híbridos, el primer genotipo corresponde al parental femenino y el segundo al masculino. G1 incluye todos los genotipos y G2 solo a los híbridos. Peso de fruto (FW), altura de fruto (H), diámetro de fruto (D), forma de fruto (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a*/b*), porcentaje de reflectancia (L*). α -cetoglutarato (aKG), ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras. ***: $p < 0,0001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$; ns: $p > 0,05$

Posteriormente, se llevó a cabo un PCA incluyendo los valores medios estandarizados de los 12 caracteres agronómicos y 28 metabolitos, medidos en los 25 genotipos evaluados, el cual permitió observar la variabilidad fenotípica existente entre los materiales (Figura 11 y Anexo 3). La PC1 explicó aproximadamente el 29% de la variabilidad total, correlacionada alta y positivamente con ácido γ -aminobutírico, treonina, isoleucina, valina, asparagina y metanol. Los híbridos estuvieron más distribuidos en la PC1 que los genotipos parentales, lo cual indica la variabilidad fenotípica incrementada a través de los cruzamientos. La PC2 explicó el 19% de la variabilidad total y permitió diferenciar los genotipos parentales en dos grupos: uno compuesto por PP y GZ, y otro por Q, G y RIL17, siendo RIL17 y GZ los genotipos más divergentes. Esta componente estuvo positivamente correlacionada con firmeza, vida poscosecha, malato, succinato y piruvato, y negativamente con diámetro, altura, peso y triptófano. Por otro lado, a partir del PCA fue posible detectar efecto recíproco al comparar híbridos recíprocos entre sí, por ejemplo, en los cruzamientos RIL17-GZ, RIL17-G, G-PP. Además, se pudo inferir heterosis basándose en la performance del híbrido en relación con sus parentales. La presencia de F_1 s localizadas en valores positivos de la PC1, tales como RIL17xQ y QxG, es debido a la ocurrencia de heterosis en los caracteres incluidos en la región mencionada del gráfico, por ejemplo, fructosa, glucosa, α -cetoglutarato y el metabolito desconocido 1.

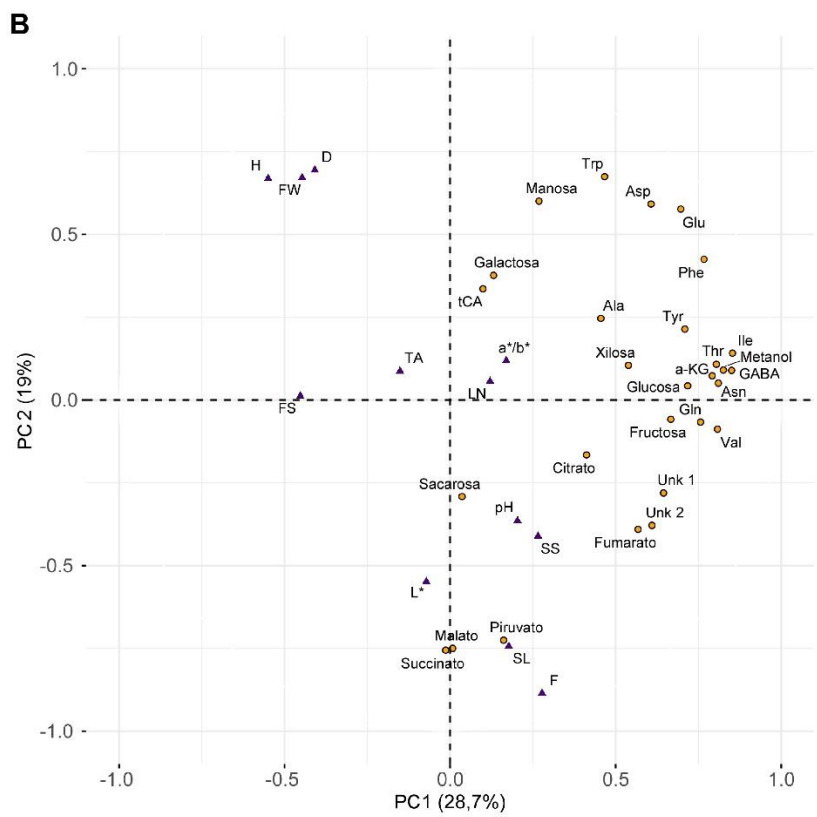
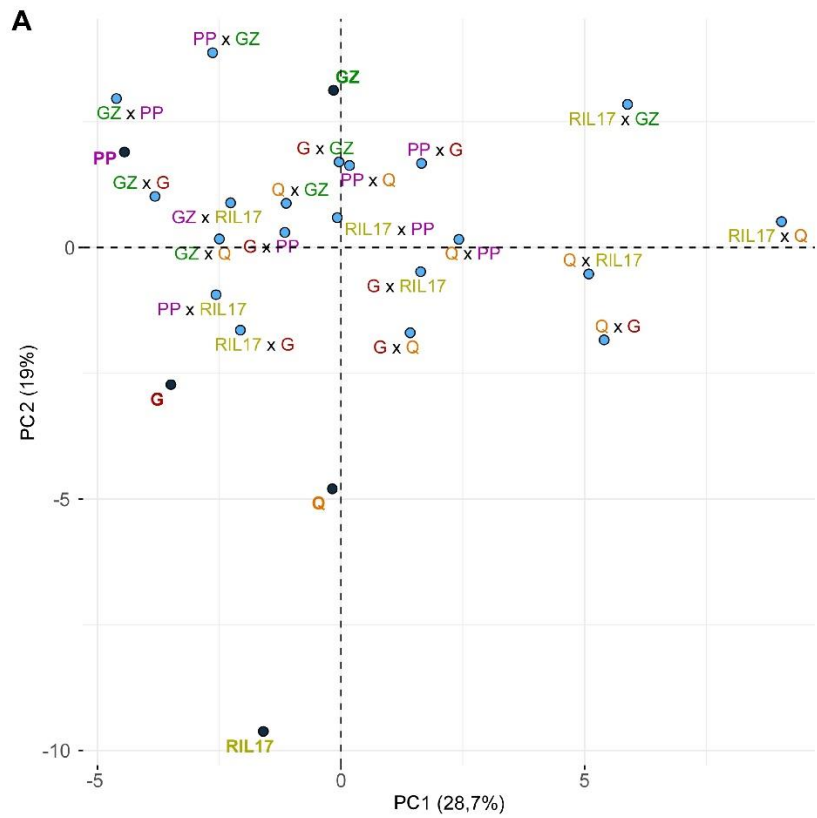


Figura 11. Análisis de componentes principales (PC) que muestra la variación fenotípica de los valores medios estandarizados (media cero, varianza uno) de las 40 variables medidas en frutos de los 25 genotipos de tomate incluidos en el análisis dialélico completo, crecidos en invernadero. (A) *Score plot* de los genotipos. Las líneas parentales (círculos negros) fueron: Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Purple Pear (PP) y Green Zebra (GZ). En los híbridos (círculos celestes), la primera letra simboliza al genotipo parental materno y la segunda al paterno. (B) *Loading plot* de los 12 caracteres agronómicos (triángulos) y 28 metabolitos (círculos) medidos en frutos de tomate. Peso de fruto (FW), altura de fruto (H), diámetro de fruto (D), forma de fruto (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*). α -cetoglutarato (a-KG), ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras.

Análisis dialélico de caracteres agronómicos y metabolitos de fruto

Los cruzamientos dialélicos proveen información acerca de las bases genéticas subyacentes de los caracteres de interés, a través de la estimación de GCA y SCA. Todos los caracteres agronómicos (12/12) y la mayoría de los metabolitos tuvieron GCA y SCA significativas ($p < 0,05$) (Tabla 4). El 42% (5/12) de los caracteres agronómicos y el 57% de los metabolitos (16/28) mostraron efectos recíprocos significativos ($p < 0,05$), indicando diferencias entre híbridos recíprocos. Alanina fue el único carácter con GCA, SCA y efecto recíproco no significativos. Estos resultados fueron consistentes con los resultados de los ANOVA entre líneas parentales (Anexo 1) o híbridos (Figura 10). Además, galactosa y el metabolito desconocido 2 solo tuvieron diferencias significativas para GCA ($p < 0,001$), mientras que xilosa y fenilalanina fueron los únicos caracteres sin diferencias significativas para GCA. Además, se calculó el índice GCA/SCA, el cual indica la predominancia de acciones génicas aditivas o no-aditivas en la determinación del carácter. Diámetro, altura, forma y peso además de los metabolitos galactosa y el metabolito desconocido 2 exhibieron $GCA/SCA > 1$, sugiriendo una mayor influencia de acciones génicas aditivas en el control de la expresión de estos caracteres. El resto de los caracteres (34/40) mostraron una mayor SCA que GCA ($GCA/SCA < 1$), habiendo predominancia de acciones génicas no-aditivas.

Tabla 4. Cuadrados medios de aptitud combinatoria general (GCA), aptitud combinatoria específica (SCA), efecto recíproco y error estimados a partir de ANOVA, y relación GCA/SCA. El material vegetal incluyó cinco genotipos parentales y 20 híbridos de tomate obtenidos a través de un diseño de cruzamiento dialélico completo, siguiendo el método de Griffing, modelo 1 (Griffing, 1956). Índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*), contenido de sólidos solubles

(SS), metabolitos desconocidos 1 (Unk1) y 2 (Unk2). El número entre paréntesis a la derecha de los efectos indica los grados de libertad.

Variable	Cuadrados medios				Componentes genéticos
	GCA (4)	SCA (10)	recíproco (10)	error (121)	GCA/SCA
Diámetro	3,28***	0,07*	0,06*	0,03	8,50
Altura	3,12***	0,05*	0,04*	0,02	12,57
Forma	0,03***	0,00***	0,00 ^{ns}	0,00	1,29
Peso	2482,56***	103,03***	29,65*	14,46	2,79
Firmeza	203,85***	33,80***	8,71 ^{ns}	4,75	0,69
Vida poscosecha	1713,93***	199,58***	23,96 ^{ns}	27,27	0,98
a*/b*	0,51***	0,16***	0,00***	0,00	0,31
L*	52,12***	34,05***	0,28 ^{ns}	0,49	0,15
N° lóculos	1,05***	0,34***	0,09 ^{ns}	0,09	0,38
SS	1,04***	0,72***	0,17 ^{ns}	0,10	0,15
pH	0,23***	0,04***	0,02***	0,00	0,67
Acidez titulable	0,02***	0,017***	0,00 ^{ns}	0,00	0,29
Fructosa	2523,51***	1797,36***	768,11***	201,53	0,15
Glucosa	4650,90***	4737,00***	1532,60**	529,90	0,10
Sacarosa	15,22***	7,20***	0,43 ^{ns}	0,61	0,22
Galactosa	74,55***	9,44 ^{ns}	9,74 ^{ns}	5,52	1,76
Xilosa	0,02 ^{ns}	0,03*	0,04**	0,01	0,06
Manosa	1,09***	0,38**	0,23 ^{ns}	0,14	0,39
Citrato	341,31***	126,21**	66,29 ^{ns}	35,13	0,34
Malato	27,78***	32,56***	0,59 ^{ns}	0,67	0,09
Succinato	0,26***	0,42***	0,01 ^{ns}	0,01	0,06
Piruvato	1,51***	2,41***	0,24*	0,11	0,06
Fumarato	0,07***	0,02*	0,01 ^{ns}	0,01	0,55
α-cetoglutarato	45,51***	27,30***	12,72**	4,01	0,18
Ácido <i>trans</i>-cinámico	0,78**	0,38*	0,03 ^{ns}	0,17	0,29
Ácido γ-aminobutírico	51,08***	35,09***	18,99**	5,16	0,15
Alanina	1,05 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,40	0,44
Asparagina	9,10**	4,53*	5,75**	1,72	0,26
Aspartato	15,21**	16,91***	6,00 ^{ns}	3,22	0,09
Glutamato	31,67**	45,53***	18,91*	8,13	0,06
Glutamina	18,44***	4,33*	4,76**	1,67	0,63
Isoleucina	0,18*	0,17*	0,19**	0,06	0,11
Tirosina	4,49***	1,59**	1,31*	0,49	0,36
Fenilalanina	0,32 ^{ns}	0,64***	0,38**	0,13	0,04

Treonina	0,77**	0,39*	0,63**	0,18	0,28
Triptófano	0,01**	0,01**	0,00 ^{ns}	0,00	0,16
Valina	0,29***	0,12**	0,12**	0,04	0,32
Metanol	20,57***	16,22***	6,62***	1,75	0,13
Unk 1	3,97***	0,59***	0,96***	0,13	0,84
Unk 2	0,00***	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00	2,77

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05; ns: p>0,05

La variación cuantitativa de las GCA entre las líneas parentales puede observarse en la Figura 12. Valores positivos indican que la línea parental evaluada contribuye con alelos y/o genes que incrementan la media del carácter. PP y GZ mostraron los mayores valores para diámetro, altura y peso comparados con Q, RIL17 y G. Además, Q, RIL17 y G exhibieron valores positivos para firmeza, SS, fructosa, piruvato y fumarato mientras que PP y GZ tuvieron valores negativos para estas variables. Q fue el genotipo con la mayor cantidad de metabolitos con GCA positiva (82% o 23/28), mientras que PP tuvo el 96% (27/28) de los metabolitos con GCA negativa.

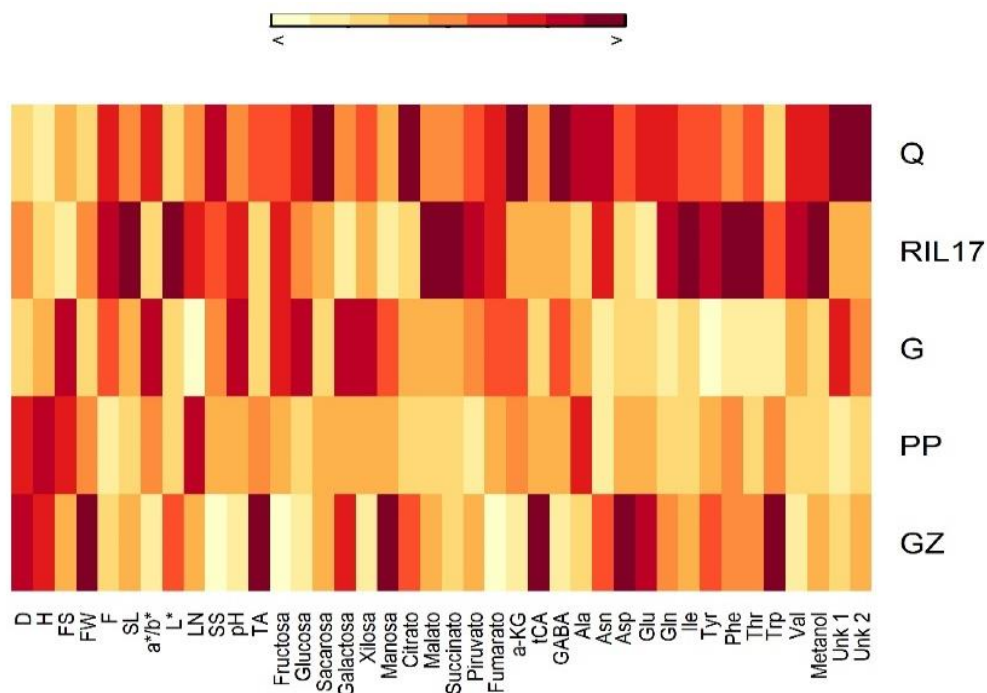


Figura 12. *Heatmap* con la variación cuantitativa de la aptitud combinatoria general de los genotipos parentales: Querubín FCA (Q), RIL17, Gema FCA (G), Purple Pear (PP), y Green Zebra (GZ). Peso de fruto (FW), altura (H), diámetro (D), índice de forma (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a*/b*), porcentaje de reflectancia (L*). α -cetoglutarato (a-KG), ácido

γ -aminobutírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1) y 2 (Unk2); los aminoácidos están representados por el código de tres letras

Los cruzamientos con la mayor (más positiva) y menor (más negativa) SCA entre los 20 híbridos incluidos en el análisis de los 40 caracteres se visualizan en la Figura 13. La mayoría de los híbridos se destacaron en al menos un carácter, ya sea positiva o negativamente, excepto por GZxQ, GZxPP y GxGZ. Los híbridos QxRIL17 y GZxRIL17 se distinguieron del resto por el mayor número de caracteres con la más alta SCA (ocho y nueve respectivamente). Cuando se comparó la SCA de híbridos recíprocos, se observaron diferencias entre los híbridos recíprocos. Por ejemplo, el híbrido QxGZ mostró nueve caracteres con la menor SCA, mientras que el recíproco GZxQ no tuvo el mismo comportamiento. Interessantemente, el híbrido QxRIL17 tuvo los valores más altos de SCA para la mayoría de los aminoácidos, mientras que su recíproco mostró un comportamiento opuesto (Anexo 4). Por otro lado, QxG y GxQ no mostraron tales variaciones para la SCA de metabolitos.

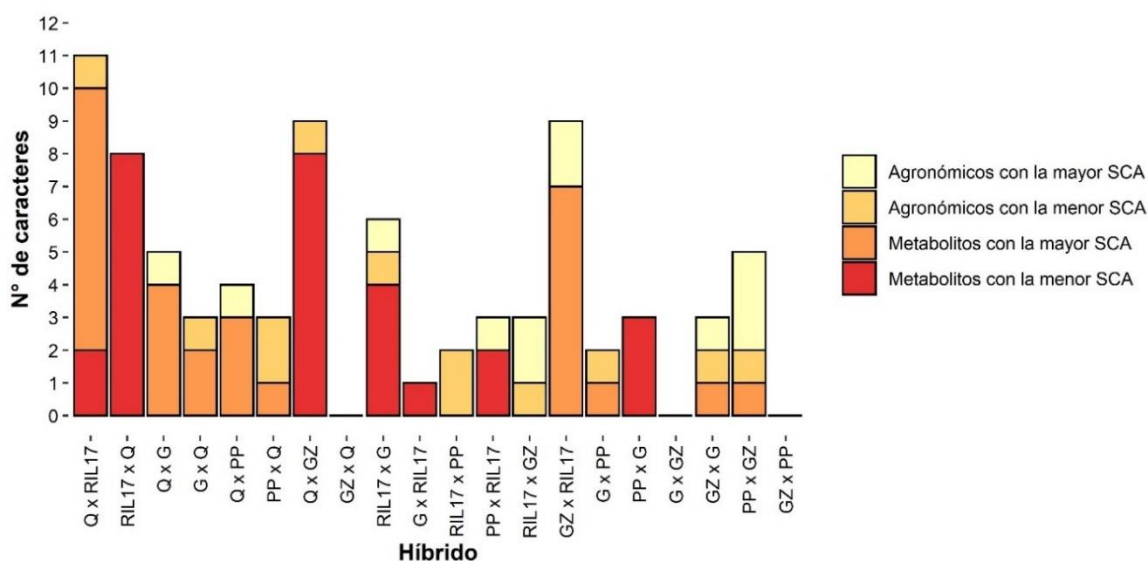


Figura 13. Número (Nº) de caracteres con la mayor o menor aptitud combinatoria específica (SCA) discriminado por híbrido. Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ). En los híbridos, el primer genotipo corresponde al parental femenino y el segundo al masculino.

Acciones génicas, heterosis y efectos recíprocos en caracteres agronómicos y metabolitos

Se estimó el modo de acción génica que rige cada carácter a partir de ANOVA por variable (40) y por cruzamiento (10 cruzamientos = 20 híbridos), considerando un $p < 0,05$. Se pudo estimar

la acción génica para el 51% de los casos (411/800), siendo el 49% (389/800) no significativo. Considerando solo los casos significativos, el modo de acción génica predominante fue la dominancia completa (196/411 = 48%), seguido por la sobredominancia (99/411 = 24%), el efecto paterno (36/411 = 9%), la dominancia parcial (31/411 = 8%), la aditividad (29/411 = 7%), y el efecto materno (20/411 = 5%) (Figura 14).

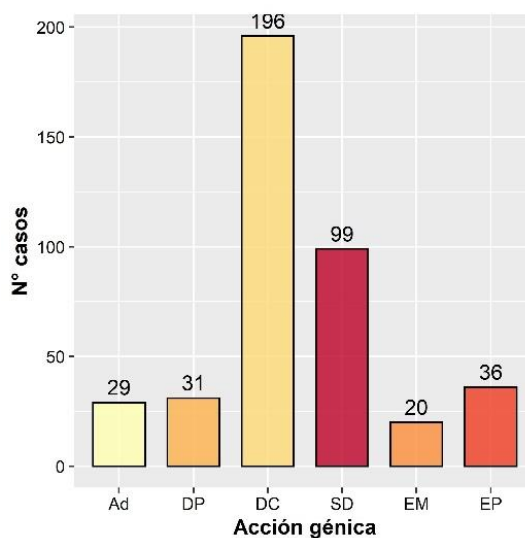


Figura 14. Número (N°) de casos significativos ($p < 0,05$) que presentaron cada tipo de acción génica: dominancia completa (DC), dominancia parcial (DP), aditividad (Ad), sobredominancia (SD), efecto materno (EM), efecto paterno (EP).

Posteriormente, los 40 caracteres evaluados fueron clasificados según su tipo en agronómicos y metabolitos para observar cuál fue el modo de acción génica predominante en cada grupo. Esta segunda clase se dividió en azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos y otros metabolitos. El total de casos posibles en cada grupo se obtuvo al multiplicar el número de híbridos (20) por el número de variables dentro de cada grupo: agronómicos (12), azúcares (6), aminoácidos (12), ácidos orgánicos (7), y otros (3). El grupo de variables al que se le pudo asignar la acción génica a un mayor número de casos fueron los caracteres agronómicos (150/240 = 63%), seguido por ácidos orgánicos (78/140 = 56%), aminoácidos (108/240 = 45%), otros (27/60 = 45%), y azúcares (48/120 = 40%). Tanto para caracteres agronómicos como para metabolitos, el tipo de acción génica predominante fue la dominancia completa (91 y 105 casos) (Figura 15, Anexo 5). Además, la sobredominancia fue la segunda más importante para los metabolitos (93 casos), mientras que entre los caracteres agronómicos fue la dominancia parcial (21 casos). Dentro de los metabolitos,

la sobredominancia fue la acción génica predominante para los azúcares y aminoácidos, mientras que para ácidos orgánicos y otros metabolitos predominó la dominancia completa.

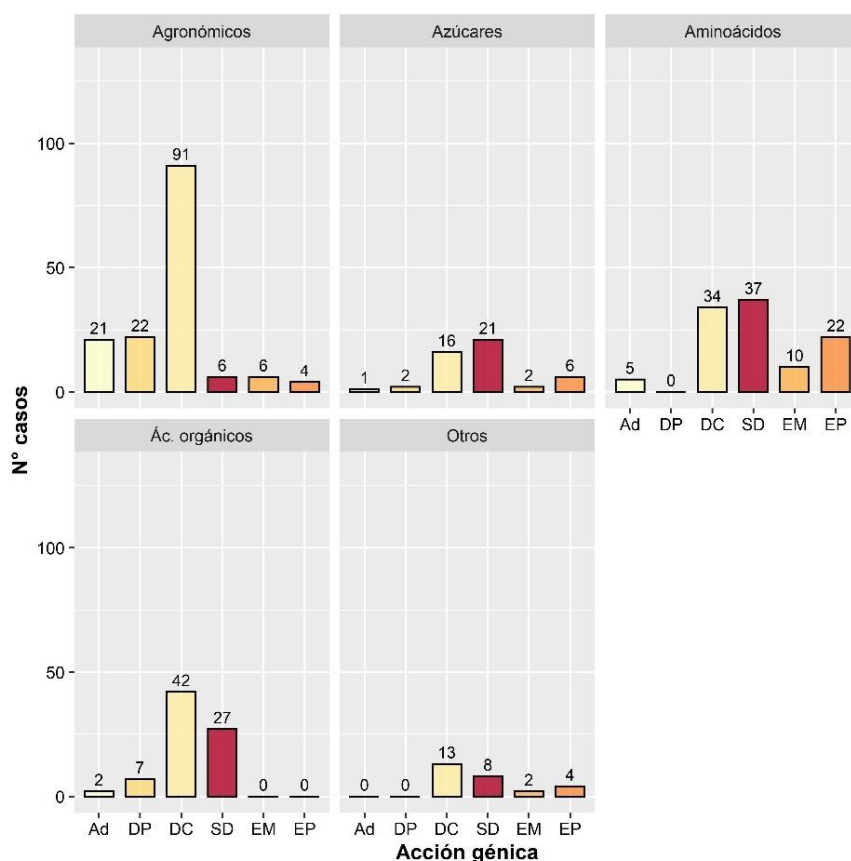


Figura 15. Número (Nº) de casos significativos que presentaron cada tipo de acción génica: aditividad (Ad), dominancia parcial (DP), dominancia completa (DC), sobredominancia (SD), efecto materno (EM), efecto paterno (EP), según tipo de variable.

Para analizar el comportamiento de los híbridos respecto a sus parentales, se estimaron dos tipos de heterosis: BPH y MPH. Considerando todos los casos posibles (10 F₁ + 10 F₁ recíprocas y 40 caracteres = 800 casos), el 11,8% (94/800) que exhibió BPH estadísticamente significativa (p<0,05) correspondió a metabolitos, mientras que solo un 0,9% de casos (7/800) fueron caracteres agronómicos (Figura 16A). Veintitrés metabolitos mostraron al menos un híbrido con BPH, siendo α -cetoglutarato el carácter con el mayor número de híbridos (10) con heterosis significativa, mientras que, para treonina, citrato, succinato y metabolito desconocido 1 solo se encontró un híbrido con BPH. Además, encontramos un híbrido con BPH para SS, dos para forma, y cuatro para a*/b*. Los aminoácidos fueron la clase con el mayor número de BPH (37/101

= 37%), seguido por ácidos orgánicos (28/101 = 28%), azúcares (21/101 = 21%), otros metabolitos (8/101 = 8%), y caracteres agronómicos (7/101 = 7%) (Figura 16B).

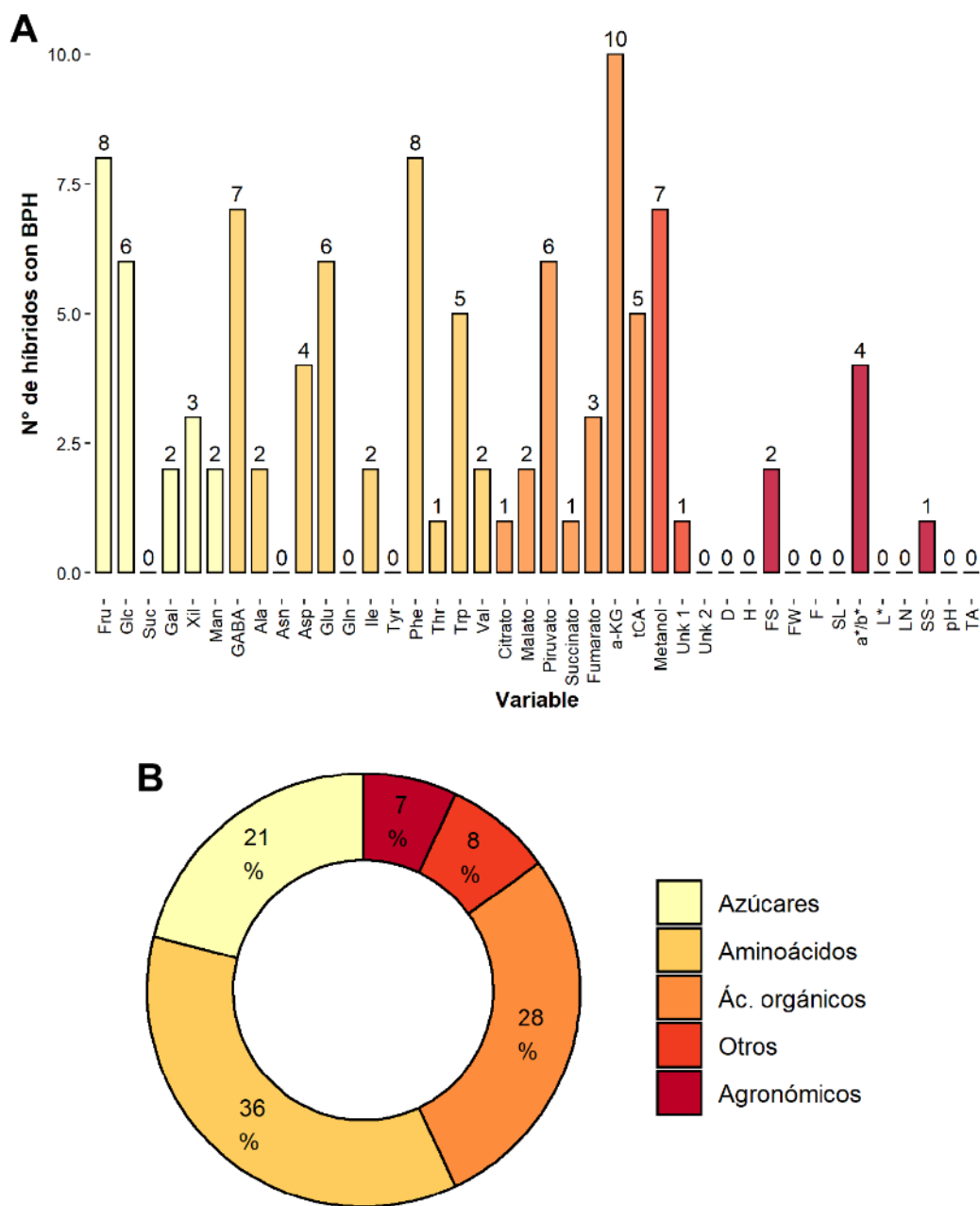


Figura 16. Casos de heterosis contra el mejor padre (BPH) significativos ($p < 0,05$) para los 12 caracteres agronómicos y 28 metabolitos medidos en 20 híbridos de tomate obtenidos a través de un diseño de cruzamientos dialéctico completo. (A) Número de híbridos con BPH para cada variable. (B) Porcentaje de BPH dentro de cada tipo de carácter. Peso de fruto (FW), altura (H), diámetro (D), forma (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de

reflectancia (L*). Fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), galactosa (Gal), xilosa (Xyl), manosa (Man), α -cetoglutarato (α -KG), ácido *trans*-cinámico (tCA), ácido γ -aminobutírico (GABA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras.

Cinco caracteres mostraron BPH negativa en al menos un híbrido, mientras que 23 tuvieron BPH positiva. En promedio, hubo un 52% de BPH para azúcares, 92% para aminoácidos, 73% para ácidos orgánicos, 66% para otros metabolitos y 250% para agronómicos (Figura 17, Anexo 6). El carácter a^*/b^* fue el que presentó mayor %BPH (365%), lo cual se atribuye a los híbridos recíprocos de los cruzamientos RIL17-PP y RIL17-GZ, dado que los padres desarrollan frutos color amarillo (RIL17, $a^*/b^*=-0,31$), verde estriado (GZ, $a^*/b^*=-0,14$) y marrón-rojizo (PP=0,64), mientras que los frutos de sus F_1 son rojos ($a^*/b^*=0,75 - 1$). Valina mostró BPH positiva y negativa, dependiendo del cruzamiento. Ambos híbridos obtenidos a partir del cruzamiento entre Q y RIL17 mostraron los mayores porcentajes de BPH para aminoácidos, mientras que el cruzamiento PPxGZ no mostró performance superior para ninguno de los caracteres analizados. Piruvato fue el metabolito con el mayor número de heterosis negativa, principalmente en el cruzamiento QxGZ y RIL17xGZ. Además, se observó un comportamiento diferencial para BPH entre algunos híbridos recíprocos. Por ejemplo, el híbrido QxPP tuvo el mayor valor medio (15,37) de contenido de galactosa, el cual fue significativamente mayor (174%, $p<0,05$) que el padre superior (valor medio: 5,6); sin embargo, su F_1 recíproca no mostró BPH (valor medio: 6,18).

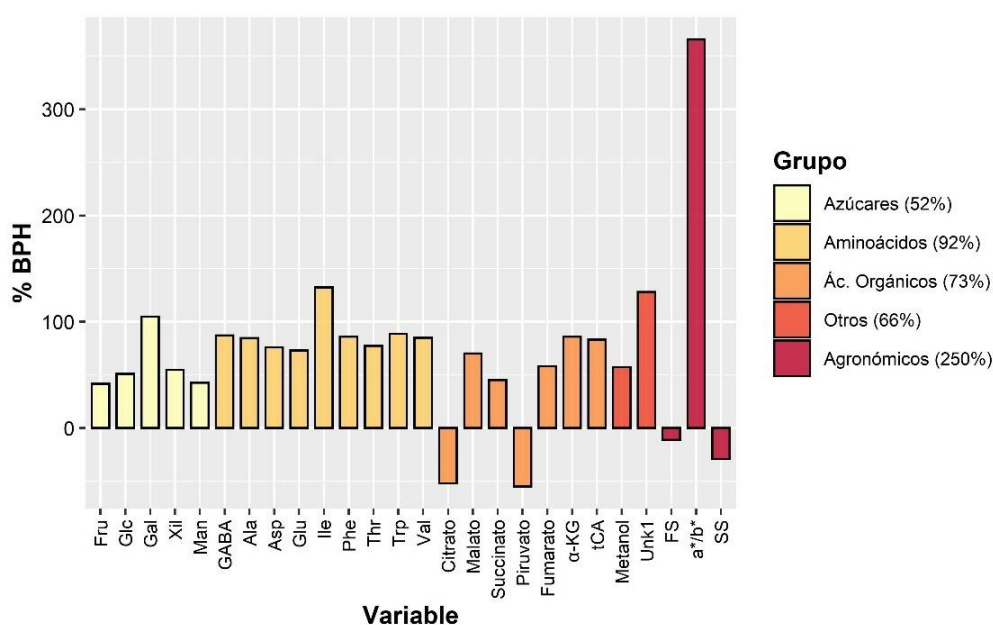
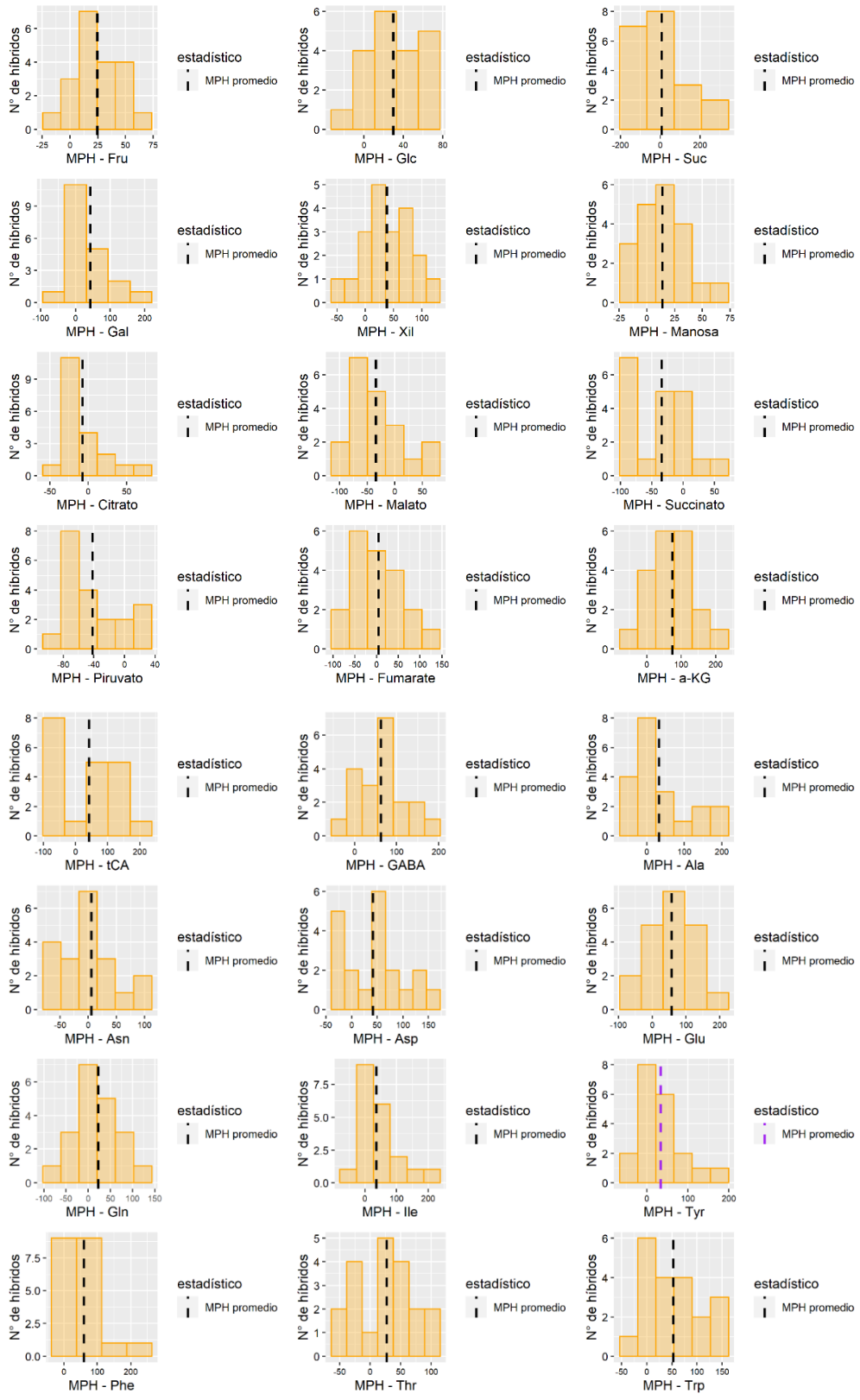


Figura 17. Porcentaje de heterosis respecto al padre superior (%BPH) promedio obtenido para cada uno de los caracteres que mostraron al menos un híbrido con heterosis significativa ($p < 0,05$). En la leyenda se detalla el %BPH promedio por grupo de carácter. Fructosa (Fru), glucosa (Glc), galactosa (Gal), xilosa (Xil), manosa (Man), α -cetoglutarato (α -KG), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1), forma de fruto (FS), índice de absorbancia (a^*/b^*), contenido de sólidos solubles (SS).

Como se mencionó anteriormente, además de la BPH se estimó la MPH al comparar el valor promedio de cada híbrido respecto a su padre medio. En este caso, el 14,6% (117/800) de los casos significativos ($p < 0,05$) encontrados correspondió a metabolitos y el 12% (96/800) a caracteres agronómicos (Anexo 6). El carácter agronómico a^*/b^* mostró el mayor número de híbridos con MPH (20), mientras que piruvato fue el metabolito con más híbridos (14) que superaron negativamente el valor medio de sus líneas parentales. Notablemente, los caracteres agronómicos tuvieron más casos significativos de MPH que BPH; sin embargo, se encontraron algunos híbridos que presentaron MPH para metabolitos. La Figura 18 muestra la distribución continua de la MPH de cada variable, indicando el valor medio de MPH para cada una. Los metabolitos citrato, malato, succinato y piruvato, junto con la mayoría de los caracteres agronómicos (altura, forma, firmeza, vida poscosecha, L^* , número de lóculos, SS y acidez titulable) exhibieron un valor medio de MPH negativo, mientras que la mayoría de los metabolitos mostraron valores medios de MPH positivos.



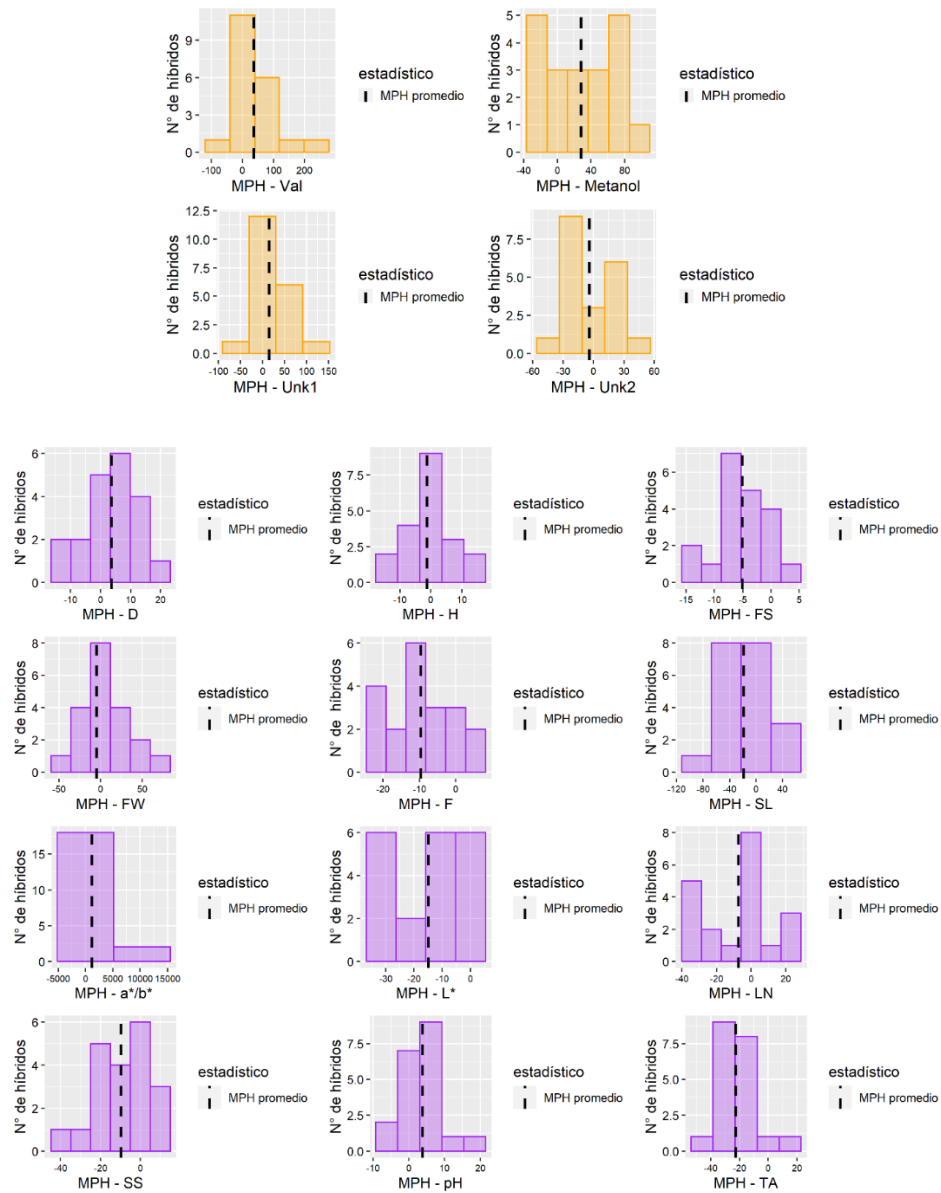


Figura 18. Histogramas representando la distribución continua de la heterosis respecto al padre medio (MPH), para cada variable analizada en los 20 híbridos. La línea de puntos vertical representa la MPH media del carácter. Peso de fruto (FW), altura de fruto (H), diámetro de fruto (D), forma de fruto (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*). Fructosa (Fru), glucosa (Glc), galactosa (Gal), xilosa (Xil), α -cetoglutarato (α -KG), ácido γ -amino butírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los amino ácidos están representados por el código de tres letras.

Se consideró efecto recíproco cuando, a partir del ANOVA por variable (40) y por cruzamiento (10), los valores medios de los híbridos recíprocos fueron estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Se encontró un 21% (83/400) de efecto recíproco teniendo en cuenta todos los casos potenciales. El 19% (76/400) correspondió a metabolitos y solo el 2% (7/400) fueron caracteres agronómicos (Figura 19A). La mayoría de los metabolitos (26/28) mostraron al menos un cruzamiento con diferencias entre los híbridos recíprocos. Fenilalanina, treonina y α -cetoglutarato fueron los metabolitos con el mayor número de cruzamientos con efecto recíproco (6/10), mientras que sacarosa, xilosa, succinato, triptófano y metabolito desconocido 2 mostraron significancia en solo un cruzamiento. Dentro de los caracteres agronómicos, firmeza, vida poscosecha, número de lóculos, a*/b*, y SS mostraron un cruzamiento con efecto recíproco, mientras que pH fue estadísticamente diferente en dos cruzamientos. Los aminoácidos fueron el tipo de metabolitos con el mayor porcentaje ($38/83 = 46\%$) de efecto recíproco, seguido por ácidos orgánicos ($17/83 = 21\%$), azúcares ($14/83 = 17\%$), otros metabolitos incluyendo metanol, metabolito desconocido 1 y 2 ($7/83 = 8\%$), y caracteres agronómicos ($7/83 = 8\%$) (Figura 19B).

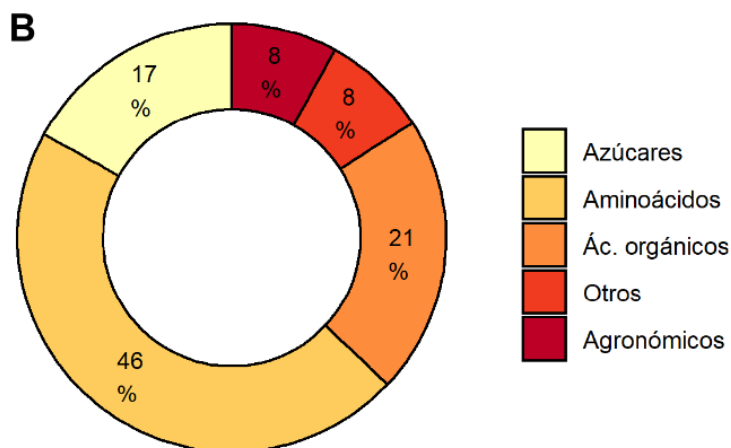
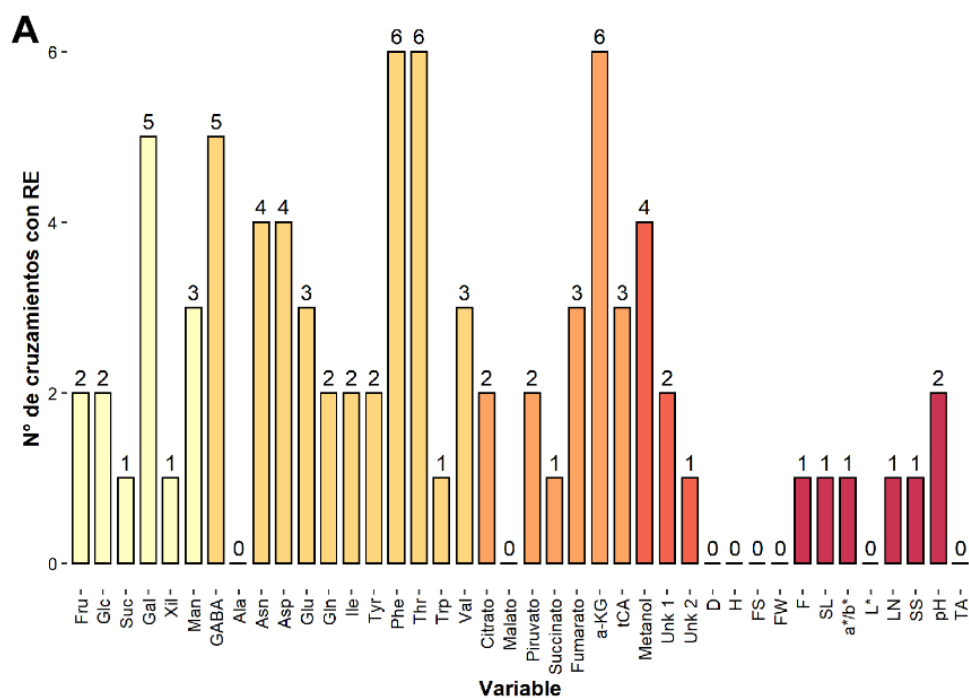


Figura 19. Casos de efecto recíproco (RE) significativos ($p < 0,05$) para los 12 caracteres agronómicos y 28 metabolitos medidos en 20 híbridos de tomate obtenidos a través de un diseño de cruzamientos dialélico completo. (A) Número de cruzamientos con RE para cada variable. (B) Porcentaje de RE dentro de cada tipo de carácter (agronómicos, azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, otros). Peso de fruto (FW), altura (H), diámetro (D), forma (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*). Fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), galactosa (Gal), xilosa (Xyl), manosa (Man), α -cetoglutarato (a-KG), ácido *trans*-cinámico (tCA), ácido γ -aminobutírico (GABA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras.

Análisis de las correlaciones entre caracteres agronómicos y metabolitos

En primera instancia, se estudiaron las r_p para evaluar las relaciones entre los caracteres estudiados utilizando los datos por planta de los cinco genotipos parentales y los 20 híbridos generados a partir del cruzamiento dialélico completo en invernadero. La red de r_p y los valores de los coeficientes de correlación entre todas las variables están representados en la Figura 20 y el Anexo 7, respectivamente. Un total de 181 correlaciones fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Solo 31 (17%) fueron correlaciones negativas mientras que 150 (83%) fueron positivas. Además, 25 tuvieron un valor absoluto de r_p igual o mayor a 0,7. Los caracteres agronómicos estuvieron principalmente correlacionados entre ellos, mientras que los metabolitos mostraron mayormente correlaciones positivas. Peso y altura fueron los caracteres agronómicos que más correlacionaron con otros agronómicos (6), mientras que el ácido γ -aminobutírico y glutamato fueron los metabolitos correlacionados con más metabolitos (19). Además, se encontraron correlaciones positivas y negativas entre diferentes tipos de variables. Glucosa, ácido γ -aminobutírico, metabolito desconocido 1 y α -cetoglutarato fueron los metabolitos que correlacionaron con más caracteres agronómicos (diámetro, altura, peso y a^*/b^*), mientras que altura fue el carácter agronómico que correlacionó con más metabolitos (α -cetoglutarato, fructosa, glucosa, ácido γ -aminobutírico, metanol, metabolito desconocido 1 y 2). Además, se estudiaron las correlaciones entre padres y entre híbridos (Anexo 7). Dieciocho correlaciones fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$) cuando solo se analizaron padres y 186 cuando se evaluaron los híbridos. Doce correlaciones fueron consistentes entre los tres análisis ($p < 0,001$).

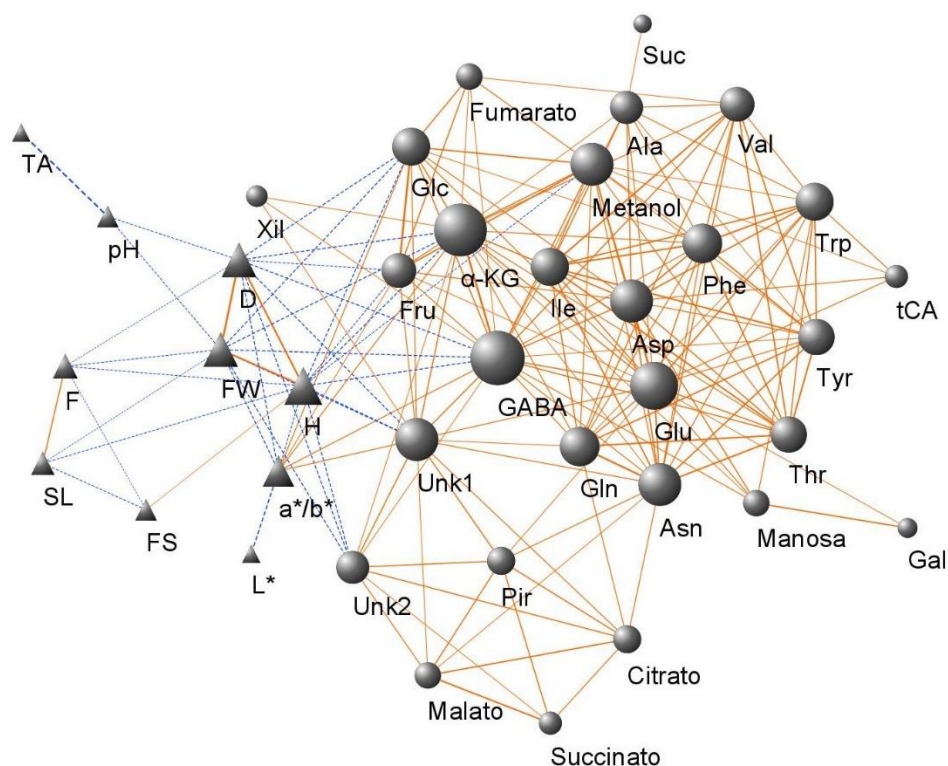


Figura 20. Red de correlaciones fenotípicas entre todos los caracteres agronómicos y metabolitos medidos en frutos de tomate de los 25 genotipos evaluados en invernadero, considerando un $p < 0,001$. Los caracteres agronómicos están representados por triángulos y los metabolitos por círculos. Las líneas sólidas y punteadas representan correlaciones fenotípicas positivas y negativas respectivamente. El grosor de las líneas que conectan dos variables está relacionado con la intensidad de la correlación. El tamaño de los nodos es proporcional al número de conexiones. Peso de fruto (FW), altura (H), diámetro (D), índice de forma (FS), firmeza (F), vida poscosecha (SL), acidez titulable (TA), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*). Fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), xilosa (Xyl), galactosa (Gal), piruvato (Pir), α -cetoglutarato (α -KG), ácido *trans*-cinámico (tCA), ácido γ -aminobutírico (GABA), metabolito desconocido 1 (Unk1) y 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras.

Un grupo de caracteres correlacionados que llamó la atención comprendió los caracteres: firmeza, vida poscosecha, número de lóculos, forma y galactosa (Figura 21, Anexo 7). Todas las correlaciones tuvieron un $p < 0,05$, excepto por vida poscosecha con número de lóculos cuyo $p = 0,0637$.

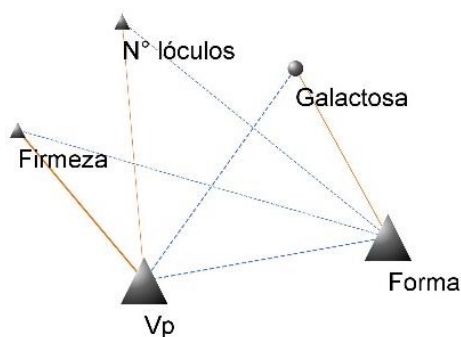


Figura 21. Red de correlaciones fenotípicas entre vida poscosecha (Vp), forma, firmeza, número (N°) de lóculos y galactosa, medidos en frutos de tomate de los 25 genotipos evaluados en invernadero. Los caracteres agronómicos están representados por triángulos y el metabolito galactosa por círculos. Las líneas sólidas y punteadas representan correlaciones fenotípicas positivas y negativas respectivamente. El grosor de las líneas que conectan dos variables está relacionado con la intensidad de la correlación. El tamaño de los nodos es proporcional al número de conexiones.

Análisis del efecto de los genes FAS y LC en caracteres de calidad de fruto

Frutos representativos de las tres NILs (LA1589fas, LA1589lc, LA1589lc+fas) desarrolladas en el fondo genético de LA1589, junto con el padre recurrente LA1589 se observan en la Figura 22. A partir de los resultados de las correlaciones fenotípicas, se evaluaron los caracteres firmeza, vida poscosecha, número de lóculos, forma y galactosa, en plantas de tres NILs (LA1589fas, LA1589lc, LA1589lc+fas) desarrolladas en el fondo genético de LA1589 y diferentes en su constitución genética para los genes *FAS* y *LC* que controlan el número de lóculos en tomate, junto con el genotipo LA1589. Solo se encontraron diferencias entre los valores medios del número de lóculos entre los cuatro genotipos, siendo LA1589lc+fas el que se diferenció por presentar mayor valor medio de este carácter (4,55) (Figura 23).

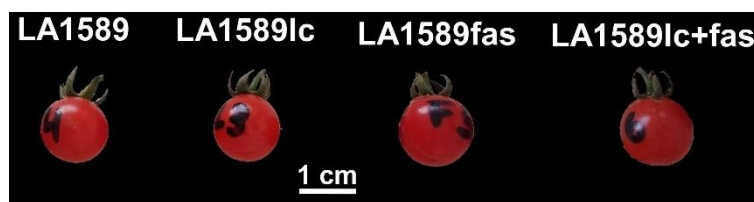


Figura 22. Frutos al estado rojo maduro representativos de las tres NILs (LA1589fas, LA1589lc, LA1589lc+fas) desarrolladas en el fondo genético de LA1589, junto con el padre recurrente LA1589.

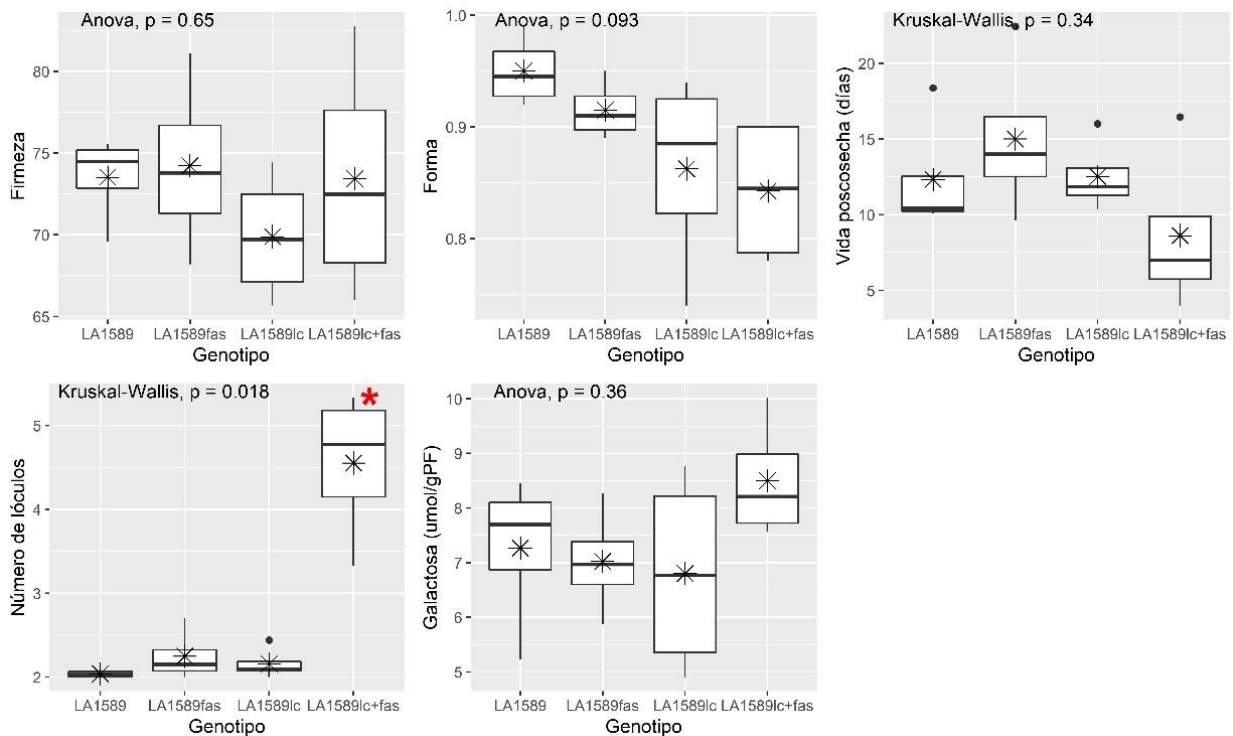


Figura 23. Gráfico de cajas que muestra la variabilidad entre los genotipos LA1589, LA1589fas, LA1589lc y LA1589lc+fas, para los cinco caracteres de fruto evaluados. El asterisco rojo señala el genotipo que mostró diferencias significativas ($p < 0,05$)

Posteriormente se analizaron las r_p entre los cuatro genotipos y los cinco caracteres, encontrando r_p significativas entre firmeza y vida poscosecha ($r_p = 0,50$ y $p = 0,05$), y entre forma y número de lóculos ($r_p = -0,50$ y $p = 0,05$).

Análisis de interacciones génicas para seleccionar genotipos para estudiar sus perfiles de expresión génica

Se contabilizó el número de caracteres con sobredominancia, efecto materno, paterno y recíproco para cada híbrido (Figura 24). Los cruzamientos Q-RIL17 y Q-G fueron los que presentaron un mayor número de variables con sobredominancia, comprendiendo a los híbridos Qx17 (12), RIL17xQ (10), QxG (10) y GxQ (8) (Figura 24A). Además, el cruzamiento con mayor número de caracteres con efecto materno fue RIL17-PP y el que presentó más efecto paterno fue RIL17-GZ, mientras que Q-RIL17 y G-PP no manifestaron ninguno de los dos efectos parentales. Al analizar el efecto recíproco (Figura 24B), las combinaciones G-RIL17 y RIL17-GZ fueron las

que mostraron más caracteres agronómicos y metabolitos con este fenómeno (14), seguidas por G-GZ (12) y RIL17-PP (11).

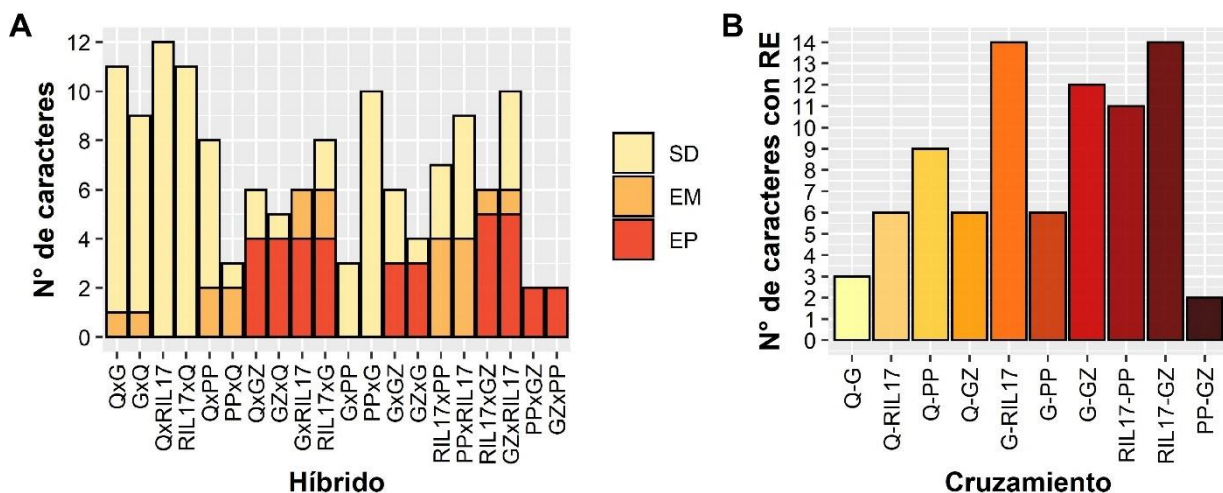


Figura 24. Visualización de los resultados de acciones génicas. (A) Número (Nº) de caracteres con sobredominancia (SD), efecto materno (EM) y efecto paterno (EP) discriminado por híbrido. En los híbridos, el primer genotipo corresponde al parental femenino y el segundo al parental masculino. (B) N° de caracteres con efecto recíproco (RE) por cruzamiento.

A partir de estos resultados se seleccionaron cuatro cruzamientos (incluyendo genotipos parentales y ambas F₁ recíprocas) por ser aquellos en los que se encontró mayor número de caracteres con sobredominancia, efectos recíprocos y/o parentales (maternos y paternos). Los cruzamientos seleccionados fueron: Q-RIL17, Q-G, RIL17-PP y G-GZ.

CARACTERIZACIÓN TRANSCRIPTÓMICA POR cDNA-AFLP DE CUATRO CRUZAMIENTOS SELECCIONADOS E INTEGRACIÓN CON OTRAS ÓMICAS

Polimorfismos de transcriptos detectados en cuatro cruzamientos seleccionados

Se extrajo buena cantidad y calidad de ARN de todas las muestras a analizar. Se logró obtener el perfil transcriptómico de los 13 genotipos seleccionados a partir de cuatro combinaciones de cebadores: Apo11-Mse37 (A), Apo12-Mse37 (C), Apo13-Mse37 (E) y Apo13-Mse38 (F). El polimorfismo detectado en uno de los geles de acrilamida realizados se visualiza en la Figura 25.

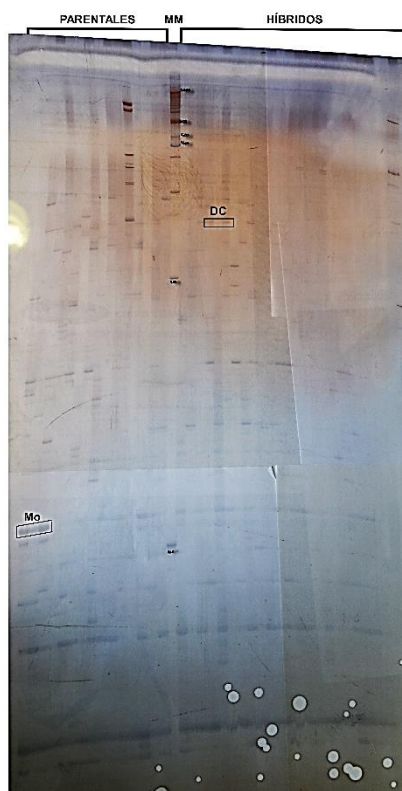


Figura 25. Electroforesis en gel de poliacrilamida usando la técnica cDNA-AFLP. Marcador molecular (MM), fragmentos monomórficos en un genotipo (Mo), fragmentos con dominancia completa en un híbrido (DC)

Para cada cruzamiento se determinó el número de fragmentos amplificados. El cruzamiento Q-G fue el que más fragmentos amplificó (44), seguido por Q-RIL17 (43), G-GZ (35) y RIL17-PP (29). Cuando los cuatro genotipos del mismo cruzamiento presentaron el mismo fragmento, se consideró monomórfico. El cruzamiento Q-G fue el que presentó mayor porcentaje de monomorfismo (14% - 6/44 TDF), seguido por RIL17-PP (10% - 3/29), Q-RIL17 (9% - 4/43) y G-

GZ (3% - 1/35 TDF). Posteriormente, se estimó el tipo de acción génica de cada TDF polimórfico comparando el modo de expresión entre los híbridos y sus padres (Figura 26). En tres de los cuatro cruzamientos (Q-G, RIL17-PP y G-GZ) el tipo de acción génica predominante fue sobredominancia, seguido por dominancia completa, efecto paterno, y efecto materno. El cruzamiento entre Q y RIL17 fue similar a los anteriores, con la única excepción de que se encontró el mismo porcentaje de efecto materno que paterno. En cuanto al porcentaje de sobredominancia, se encontraron resultados similares entre G-GZ (65,71% - 23/35) y RIL17-PP (58,62% - 17/29), y entre Q-RIL17 (48,84% - 21/43) y Q-G (43,18% - 19/44). El cruzamiento entre G y GZ fue el que menos porcentaje de dominancia completa presentó (17,14% - 6/35), mientras que los otros tres fueron similares (RIL17-PP: 27,59% - 8/29; Q-RIL17: 32,56% - 14/43, Q-G: 31,82% - 14/44). Respecto al porcentaje de efecto paterno, el mayor fue G-GZ (14,29% - 5/35), seguido por Q-G (9,09% - 4/44), Q-RIL17 (4,65% - 2/43) y RIL17-PP (3,45% - 1/29). Solo se encontró efecto materno en los cruzamientos entre Q y G (2,72% - 1/44) y entre Q y RIL17 (4,65% - 2/43). Además, se estimó la presencia de efecto recíproco en cada TDF al comparar el perfil transcriptómico de híbridos recíprocos. El cruzamiento G-GZ fue el que más fragmentos con efecto recíproco amplificó (68,57% - 24/35), seguido por Q-G (40,90% - 18/44), Q-RIL17 (37,21% - 16/43), y RIL17-PP (34,28% - 10/29).

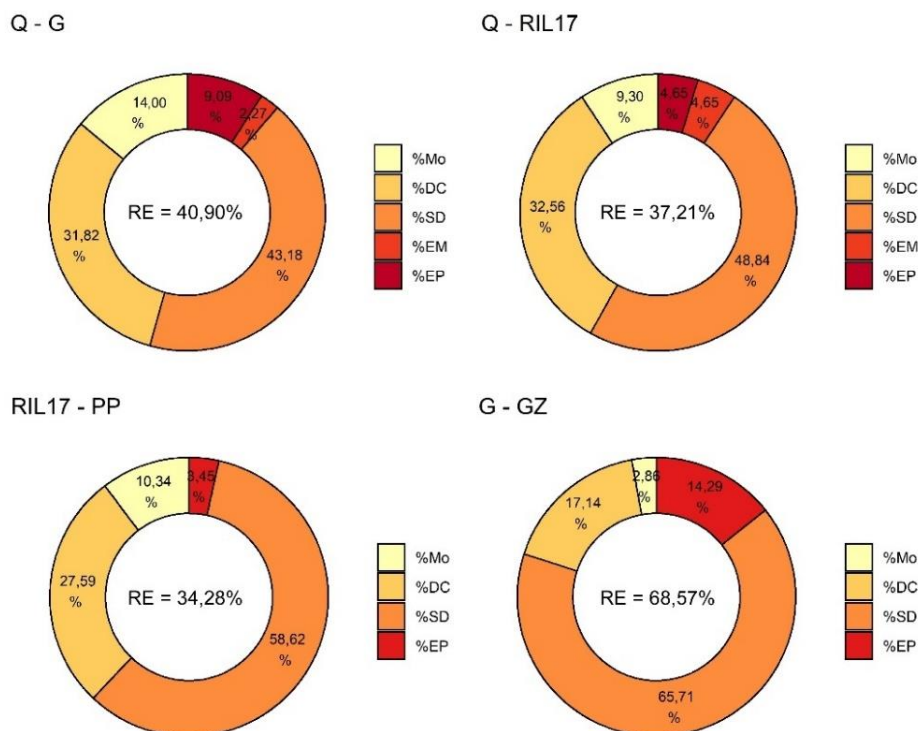


Figura 26. Acciones génicas y efecto recíproco (RE) estimados en los fragmentos polimórficos detectados, expresados en porcentaje respecto al número total de fragmentos obtenido por cruzamiento. Dominancia completa (DC), sobredominancia (SD), efecto materno (EM), efecto paterno (EP). Monomórfico (Mo).

Análisis de la congruencia entre datos de diferentes ómicas

El Análisis de Procrustes Generalizado incluyó datos de variables agronómicas, metabólicas y transcriptómicas de los 13 genotipos seleccionados para cDNA-AFLP (Figura 27). Las dos primeras componentes explican el 42% de la variabilidad de los datos. La PC1 separó a los híbridos obtenidos a partir del cruzamiento entre las RILs exclusivamente, de aquellos híbridos resultantes de cruzar una RIL con uno de los cultivares criollos estadounidenses. Por otro lado, la PC2 diferenció a los genotipos parentales Q, RIL17 y G de PP y GZ. Además, se destaca la manifestación de heterosis de los híbridos QxG, QxRIL17 y principalmente RIL17xQ dada su dispersión respecto a sus líneas parentales. Los tres tipos de variables están representados por las configuraciones/individuos parciales. Este análisis permitió visualizar el grado de consenso entre los tres tipos de variables que fue del 83,9% (Tabla 5). Los individuos medios representan la configuración consenso obtenida del promedio de los individuos parciales (configuraciones individuales transformadas). Cuanto mayor sea la dispersión de las configuraciones parciales respecto al consenso, mayor es la diferencia entre ambas caracterizaciones. Se puede ver que los genotipos parentales (homocigotas) tuvieron un consenso mayor que sus respectivos híbridos (heterocigotas). La RIL17 y GZ fueron los genotipos que presentaron una mayor concordancia entre ambas caracterizaciones, mientras que GxQ fue el más discrepante (Tabla 6).

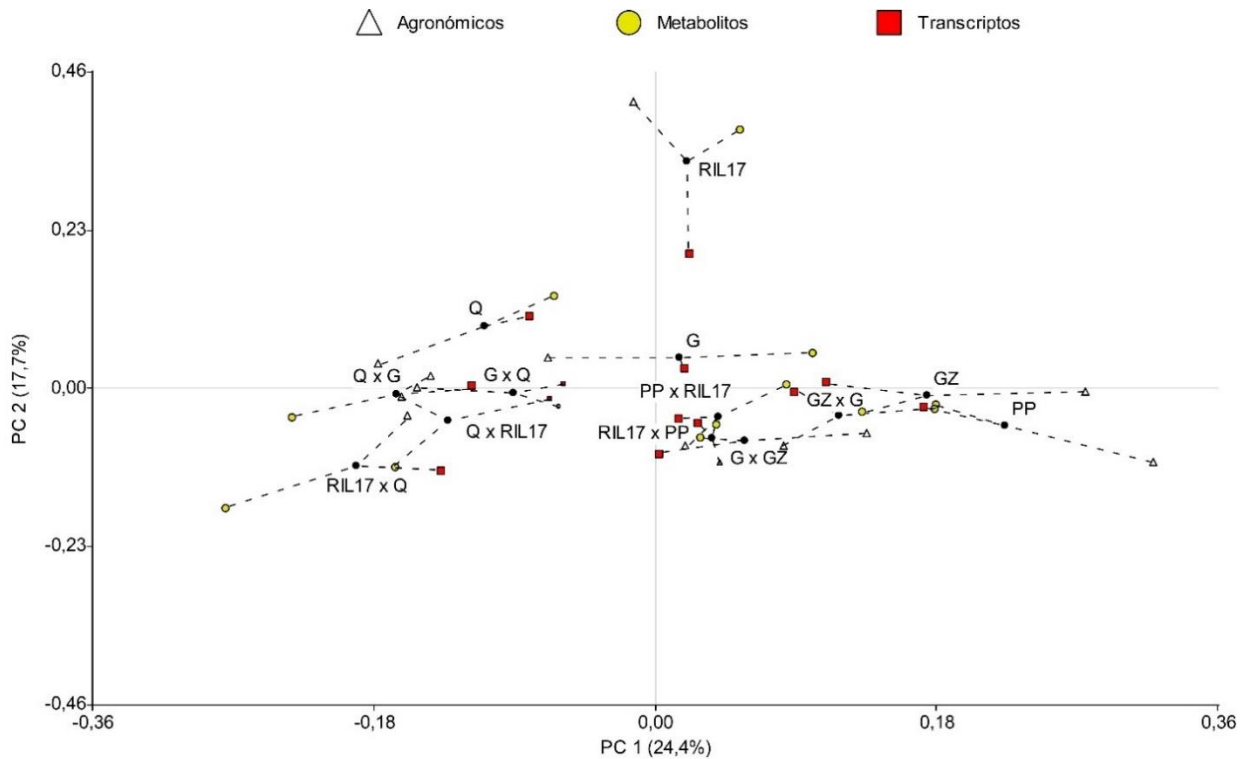


Figura 27: Análisis de Procrustes Generalizado entre datos agronómicos, metabólicos y transcriptómicos (consenso = 84%). Se incluyeron los datos medios estandarizados (media cero, varianza uno) de los 12 caracteres agronómicos, 28 metabolitos y transcriptos medidos en los 13 genotipos utilizados para cDNA-AFLP. Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ). En los híbridos, el primer genotipo es el parental femenino y el segundo el masculino. La configuración consensual está representada por círculos negros. PC: componente principal

Tabla 5: Suma de cuadrado por grupo del Análisis de Procrustes Generalizado entre datos agronómicos, metabólicos y transcriptómicos.

	Consenso	residuo	Total	Proporción Consenso
Grupo1: Agronómicos	0,765	0,194	0,960	0,797
Grupo2: Metabolitos	0,946	0,113	1,059	0,893
Grupo3: Transcriptos	0,805	0,176	0,981	0,820
Total	2,517	0,483	3,000	0,839

Tabla 6: Análisis de la Varianza asociado al Análisis de Procrustes Generalizado. Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), Green Zebra (GZ), Purple Pear (PP). En los híbridos, el primer genotipo es el parental femenino y el segundo el masculino

	Consenso	residuo	Total	Proporción Consenso
Q	0,262	0,035	0,298	0,881
QxRIL17	0,110	0,041	0,151	0,731
QxG	0,173	0,033	0,205	0,841
RIL17	0,386	0,038	0,424	0,912
RIL17xQ	0,281	0,059	0,341	0,826
RIL17xPP	0,107	0,029	0,136	0,786
G	0,158	0,037	0,196	0,809
GxQ	0,088	0,040	0,128	0,689
GxGZ	0,137	0,034	0,170	0,801
PP	0,276	0,037	0,313	0,880
PPxRIL17	0,116	0,031	0,148	0,788
GZ	0,306	0,029	0,335	0,913
GZxG	0,116	0,040	0,156	0,744
Total	2,517	0,483	3,000	0,839

Selección de un cruzamiento para su análisis transcriptómico por RNA-seq

Se seleccionó un cruzamiento, incluyendo parentales e híbridos recíprocos, para llevar a cabo la secuenciación de su transcriptoma mediante la técnica RNA-Seq. La elección se realizó basándose en el fenotipo de los frutos desarrollados además de los resultados obtenidos de heterosis, efecto recíproco, acciones génicas y aptitudes combinatorias. En primera instancia, hubo dos cruzamientos prometedores (Q-RIL17 y Q-G) debido a que demostraron la mayor cantidad de caracteres con heterosis y se detectaron casos de efecto recíproco y efectos parentales. El cruzamiento elegido fue Q-G, por un lado, debido a que los cuatro genotipos incluidos (Q, G, QxG y GxQ) desarrollan frutos rojos, mientras que la RIL17 produce frutos amarillos. Además, Q-G mostró un alto número de metabolitos y transcritos con sobredominancia en ambos híbridos recíprocos (10/28 metabolitos y 19/44 TDFs), se observó la ocurrencia de efecto recíproco (3/28 metabolitos y 18/44 TDFs), efecto materno (1/28 metabolitos y 1/44 TDFs) y efecto paterno (4/44 TDFs), mientras que para Q-RIL17 no se detectó ningún carácter agronómico o metabolito con efecto parental. Además, Q fue el genotipo con la mayor cantidad de metabolitos (23/28) con GCA positiva y QxG fue el híbrido con el mayor valor medio

y SCA para fructosa y glucosa, y mostró MPH y BPH significativas ($p < 0,05$) y positivas para estos metabolitos. Esto es interesante debido a que muestra que esa combinación de líneas parentales puede ser efectivamente usada para explotar ambos tipos de heterosis para dichos caracteres.

CARACTERIZACIÓN DEL CRUZAMIENTO QUERUBÍN FCA – GEMA FCA POR RNA-SEQ E INTEGRACIÓN CON DATOS DE METABOLÓMICA

Expresión génica diferencial entre dos líneas parentales endocriadas y sus híbridos recíprocos

Para evaluar la expresión génica diferencial se extrajo ARN a partir de mesocarpo de frutos al estado rojo maduro, de tres plantas de cada uno de los cuatro genotipos evaluados (Q, G, QxG y GxQ). A partir de la secuenciación del ARN por RNA-seq, se generaron aproximadamente 560 millones de lecturas (84 *gigabytes*) considerando las 12 muestras (tres réplicas biológicas de cuatro genotipos). Luego de remover las lecturas de baja calidad y las secuencias de los adaptadores, se conservaron las lecturas de alta calidad (99,43%) para los análisis siguientes. Se continuó con el alineamiento contra el genoma de referencia de *S. lycopersicum* ITAG 4.0, logrando un promedio de mapeo del 93% (Q: 93,3%, G: 94,7%, QxG: 88,3%, GxQ: 95,8%). Posteriormente, se filtraron los genes con baja expresión por lo que se retuvieron 17.887 genes en cada muestra los cuales fueron usados para el análisis de expresión diferencial. Se realizó un análisis de escalamiento multidimensional para observar el grado de similitud entre las muestras (Figura 28). Este análisis estadístico permitió diferenciar los genotipos evaluados, mientras que las réplicas biológicas de cada uno de ellos tuvieron una variación esperable debido a la influencia del ambiente en la expresión génica.

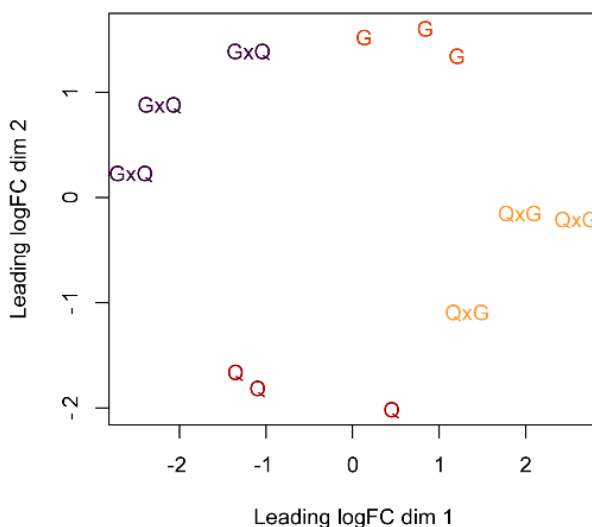


Figura 28. Análisis de escalamiento multidimensional incluyendo los 17.887 genes detectados en cada genotipo. Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), F₁ Querubín FCA x Gema FCA (QxG), F₁ Gema FCA x Querubín FCA (GxQ)

Para validar los datos obtenidos por RNA-seq, se evaluó la expresión de nueve genes elegidos al azar usando la técnica de qRT-PCR, y los resultados fueron comparados con los datos obtenidos con la técnica RNA-seq (Figura 29). Los niveles de expresión relativa de los genes incluidos en el análisis fueron consistentes entre ambas metodologías, demostrando la confiabilidad de los datos aquí presentados.

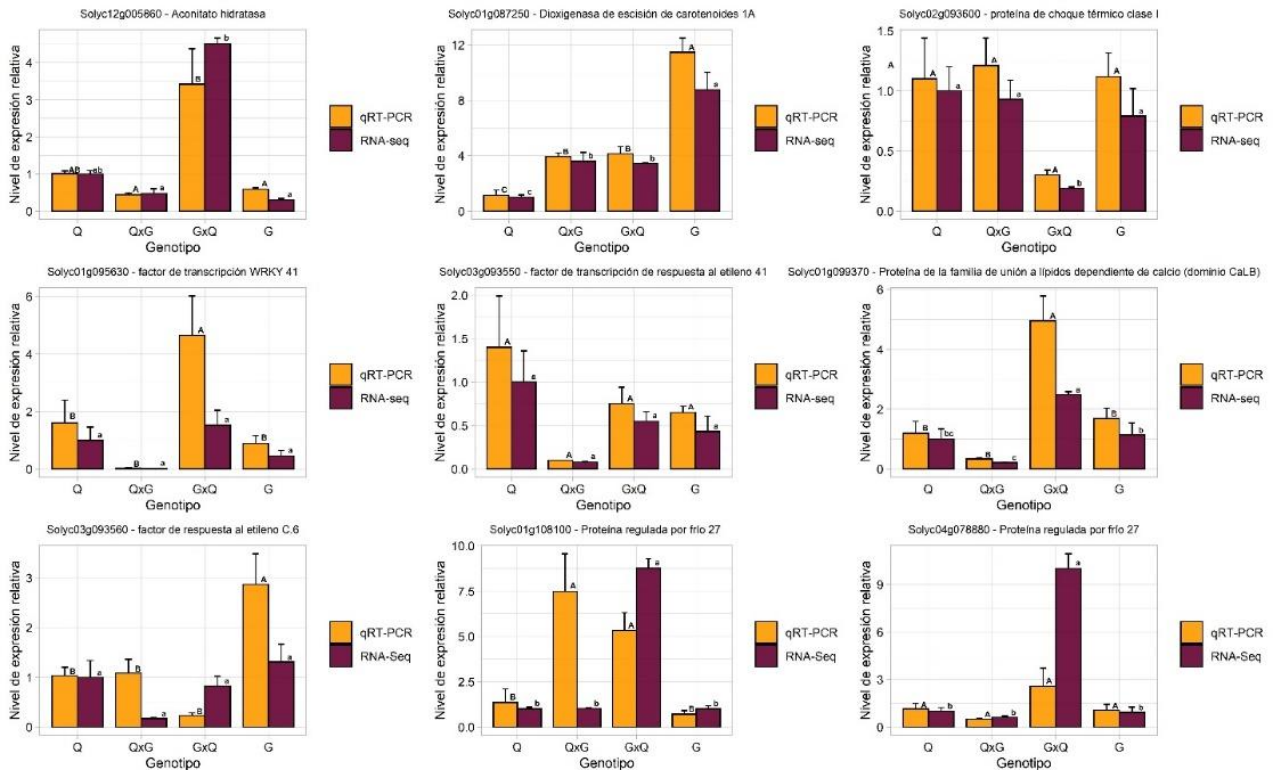


Figura 29. Validación de los resultados de RNA-seq mediante qRT-PCR. Cada gráfico de barras contiene los niveles de expresión relativos de las dos líneas parentales (Q y G) y los híbridos recíprocos (QxG y GxQ) para cada *locus*. Colores más oscuros representan datos de RNA-seq mientras que colores más claros indican datos de qRT-PCR. Las líneas verticales sobre cada barra simbolizan el error estándar. Se indican los resultados de la comparación de medias realizada a través de ANOVA para ambos tipos de datos; letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$). Letras en minúscula fueron usadas para RNA-seq y letras mayúsculas para qRT-PCR.

Posteriormente, se comparó la expresión génica global de los cuatro genotipos por comparaciones de a pares (Q vs G, QxG vs GxQ, QxG vs Q, QxG vs G, GxQ vs Q, GxQ vs G). Usando un $FDR < 0,01$ y $\log_2FC \geq 1$, se pudieron identificar 1549 DEGs (Figura 30A). Las mayores diferencias se encontraron entre los híbridos recíprocos (771) seguido por la comparación entre

GxQ vs Q (618). Además, se encontraron 250 DEGs entre los padres. Considerando que usar un criterio más estricto permitiría encontrar genes altamente diferenciales que expliquen las bases moleculares de la BPH y el efecto recíproco, se realizó un análisis de expresión génica diferencial utilizando un $FDR < 0,001$ y $\log_2FC \geq 2$ (Figura 30B, Anexo 8). En este caso, las líneas parentales difirieron en un menor número de genes (20). En comparación a G, Q mostró 14 DEGs infra-regulados y seis sobre-regulados. Al comparar ambos híbridos con sus padres, GxQ mostró un número mayor de DEGs (38 vs Q y 12 vs G) que QxG (8 vs Q y ninguno contra G). Sin embargo, cuando se contrastaron las dos F_1 entre sí se obtuvieron 157 DEGs, de los cuales 152 estuvieron infra-regulados y cinco sobre-regulados en QxG respecto a GxQ. Dado que los resultados de expresión diferencial siguieron la misma tendencia con ambos niveles de corte, se continuaron los análisis usando los resultados del más estricto. En resumen, se retuvieron 200 DEGs incluyendo todas las comparaciones y usando un $FDR < 0,001$ y $\log_2FC \geq 2$. A partir de los datos de las medias estandarizadas (media cero, varianza uno) de cada uno de los 200 DEGs detectados en los cuatro genotipos se realizó un *heatmap* con agrupamiento jerárquico (Figura 30C). Este gráfico permitió observar la variabilidad de los datos y agrupó a ambas líneas parentales, mientras que GxQ fue el genotipo más distinto principalmente contra su F_1 recíproca.

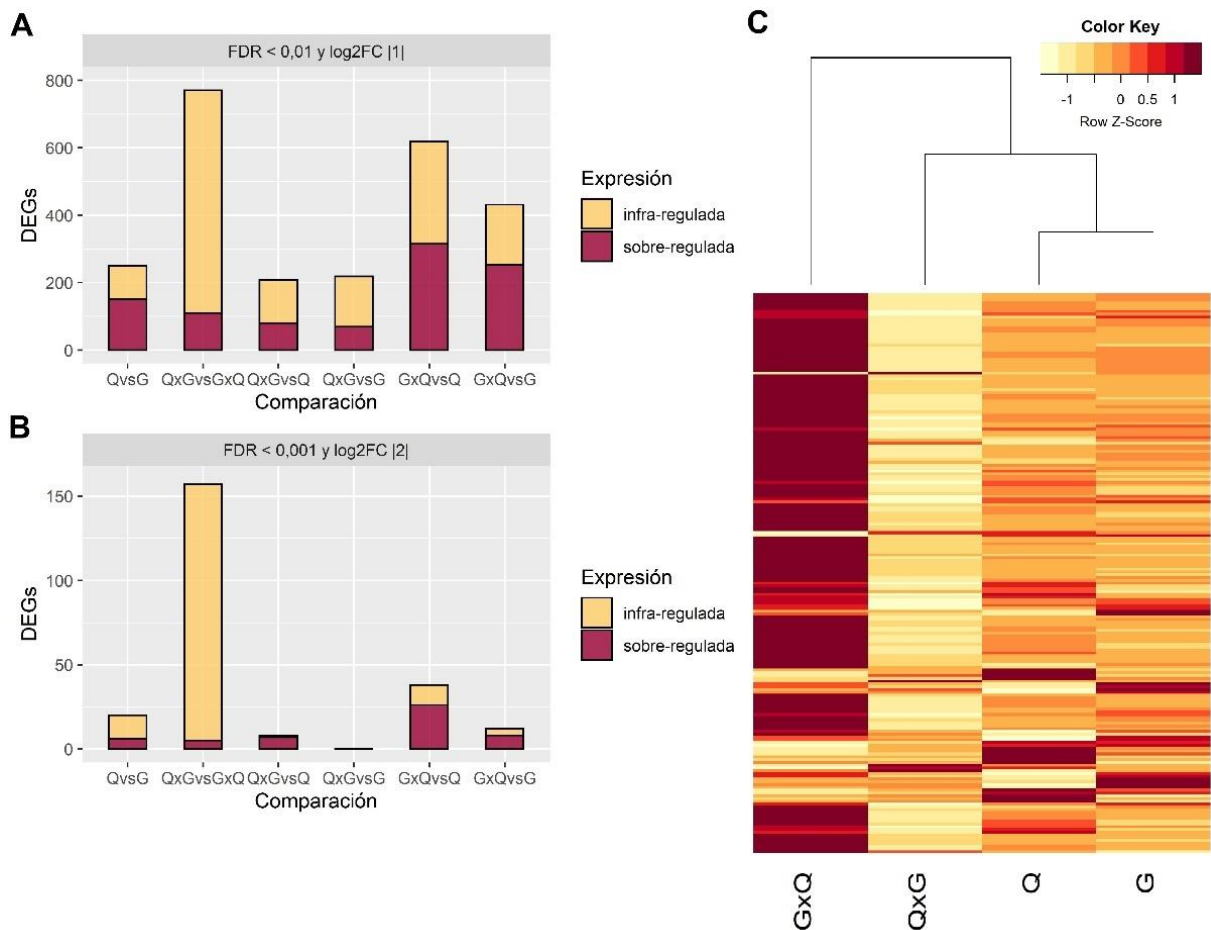


Figura 30. Gráfico de barras representando la divergencia en la expresión génica entre las seis comparaciones de dos líneas parentales de tomate (Q y G) e híbridos (QxG y GxQ), considerando (A) un FDR<0,01 y log₂FC |1|; (B) FDR<0,001 y log₂FC |2|. (C) *Heatmap* de la variación cuantitativa de los valores medios de los 200 DEGs entre las seis comparaciones con agrupamiento jerárquico. Colores más oscuros y más claros representan sobre e infra-regulación respectivamente.

La distribución de los 200 DEGs a lo largo de los 12 cromosomas de tomate se muestra en la Figura 31. El mayor número de genes (37) estuvo localizado en el cromosoma 1, seguido por el cromosoma 6 (27) y el cromosoma 2 (24), mientras que el menor número (5) estuvo en el cromosoma 11. La mayoría de los DEGs estuvieron ubicados en las partes distales de los cromosomas, con muy pocos en las regiones pericentroméricas, tales como los *loci* *Solyc08g041860.1* (proteína tipo matriz repetitiva de serina/arginina), *Solyc09g031920.1* (proteínas de la embriogénesis tardía, LEA-14), y *Solyc09g056450.4* (Ubiquitina transferasa E3 tipo RING).

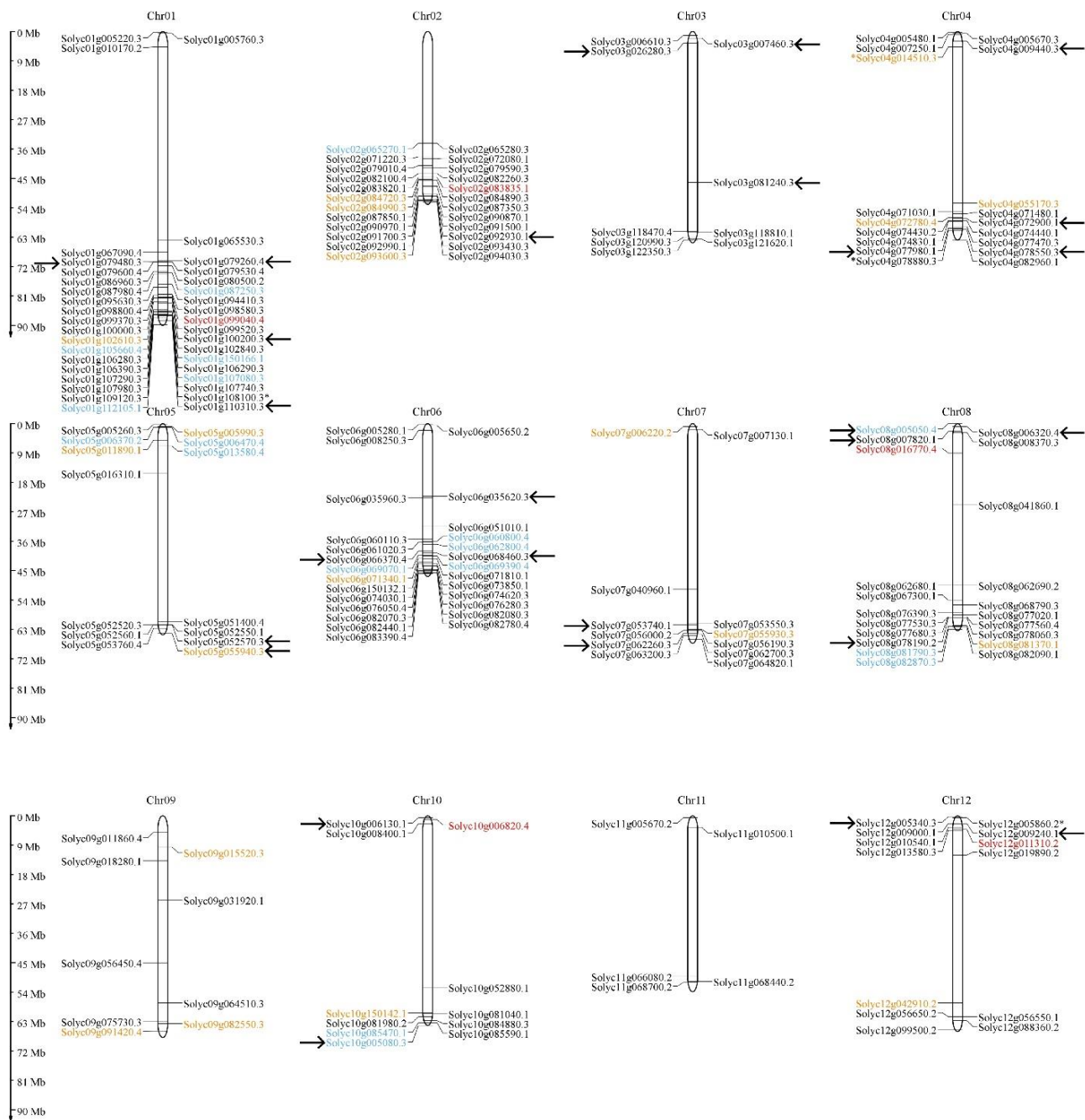


Figura 31. Distribución de los 200 genes expresados diferencialmente entre las dos líneas de tomate (Q y G) y los dos híbridos (QxG y GxQ) a través de los 12 cromosomas (Chr) de tomate. La escala a la izquierda muestra el largo de cada cromosoma, en megabases (Mb). Los *loci* con colores diferentes representan el genotipo que tuvo la mayor expresión: Q (naranja), G (celeste), QxG (rojo), GxQ (negro). El asterisco contiguo al nombre del *locus* indica que ese genotipo tuvo la mayor expresión significativa (FDR<0,001 y log₂FC>2) comparado con el resto de los genotipos. Las flechas marcan los loci que corresponden a factores de transcripción.

Análisis de enriquecimiento funcional

De los 200 DEGs, 168 (84%) estuvieron anotados en la base de datos. El análisis de enriquecimiento funcional resultó en 15 grupos de GO relacionados a Procesos Biológicos (PB), uno a Función Molecular (FM) y uno a Componente Celular (CC) (Figura 32). Dentro de PB, el término más representado (FDR<0,00001) fue “respuesta a estímulos”, ya sea endógeno o exógeno. Dentro de “respuesta a estímulo endógeno” se encontraron 79 DEGs, por ejemplo, *Solyc01g087250.3* (*Dioxigenasa de escisión de carotenoides 1A*), *Solyc03g120990.3* (*Enzima mállica*), *Solyc12g005860.2* (*Aconitato hidratasa*) y *Solyc10g005080.3* (*Hipocótulo alargado tardío*). El término “respuesta a estímulos exógenos” estuvo compuesto por 83 DEGs, como por ejemplo, *Solyc06g060800.4* y *Solyc01g105660.4* (*proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de 2-oxoglutarato (2OG) y Fe(II)*), *Solyc05g005990.3* (*proteína NRT1/PTR FAMILIA 1.1*) y *Solyc02g084890.3* (*proteína 4 de resistencia a enfermedades tipo RPP13*). Un total de 27 factores de transcripción (FTs) estuvieron incluidos dentro del término FM, la mayoría relacionados a respuesta de la planta a estreses bióticos y abióticos, pero además asociados a procesos de crecimiento y desarrollo, y factores sensibles al etileno (ERFs, *ethylene-responsive factors*). Entre ellos, cuatro genes codificaron para ERFs (*Solyc07g053740.1*, *Solyc12g009240.1*, *Solyc08g078190.2*, *Solyc10g006130.1*), tres codificaron factores de transcripción GRAS (*Solyc01g100200.3*, *Solyc06g035620.3*, *Solyc12g005340.3*), cinco fueron factores de transcripción WRKY (*Solyc08g006320.4*, *Solyc01g079260.4*, *Solyc06g066370.4*, *Solyc06g068460.3*, *Solyc04g078550.3*), un gen relacionado a la respuesta a brasinoesteroides (*Solyc07g062260.3*), y un gen codificó para un factor de transcripción R2R3MYB (*Solyc02g092930.1*). Interesantemente, 25 de los 27 FTs estuvieron expresados diferencialmente entre ambos híbridos recíprocos, indicando la presencia de efecto recíproco. Los otros dos *loci* de FTs fueron diferentes comparando GxQ con ambas líneas parentales (Anexo 8).

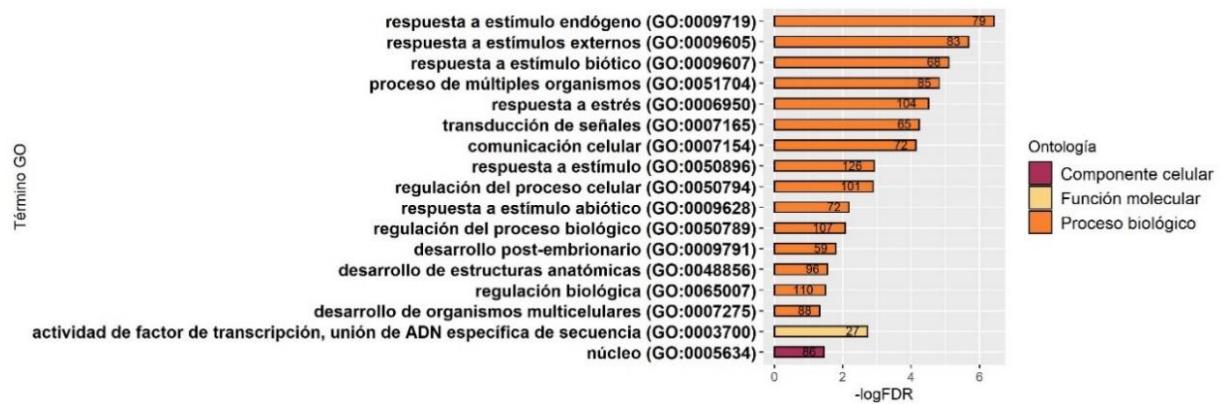


Figura 32. Términos GO obtenidos a partir del análisis de enriquecimiento funcional de los 200 genes expresados diferencialmente a partir las seis comparaciones incluyendo Q, G, QxG y GxQ, usando un $FDR < 0,0001$ y $\log_2FC \geq 2$

Variabilidad fenotípica de las dos líneas parentales y sus híbridos recíprocos a partir de datos de secuenciación del ARN y de metabolitos

En primera instancia, se realizó un Análisis de Procrustes Generalizado para visualizar la concordancia de los dos grupos de datos (Figura 33). Las dos primeras componentes explican el 80,3% de la variabilidad de los datos. La PC1 separó a QxG del resto de los genotipos, mientras que la PC2 distinguió las líneas parentales de los híbridos. Se evidenció similitud entre genotipos parentales, pero discrepancia de los híbridos respecto a sus padres, así como la presencia de efecto recíproco. Los resultados obtenidos del análisis mostraron un alto consenso (82,1%) entre las configuraciones de las matrices de datos transcriptómicos y metabólicos (Tabla 7). Al igual que en la sección anterior donde se evaluó la concordancia entre perfiles transcriptómicos obtenidos por cDNA-AFLP, metabolitos y caracteres agronómicos, los genotipos parentales tuvieron un consenso mayor que los híbridos (Tabla 8).

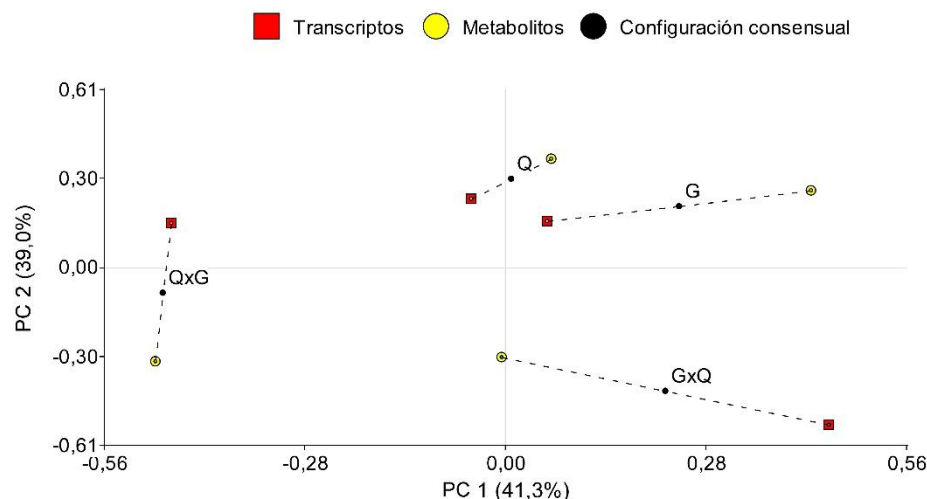


Figura 33. Análisis de Procrustes Generalizado entre datos transcriptómicos y metabólicos (consenso = 82%). Se incluyeron datos de los 200 genes diferencialmente expresados y 13 metabolitos diferenciales medidos en dos líneas parentales de tomate (Q y G) e híbridos (QxG y GxQ).

Tabla 7. Sumas de cuadrado por grupo del Análisis de Procrustes Generalizado entre datos transcriptómicos y metabólicos

	Consenso	residuo	Total	Proporción Consenso
Grupo1: Transcriptos	0,821	0,179	1,000	0,821
Grupo2: Metabolitos	0,821	0,179	1,000	0,821
Total	1,642	0,358	2,000	0,821

Tabla 8. Análisis de la Varianza asociado al Análisis de Procrustes Generalizado. Querubín FCA (Q), Gema FCA (G). En los híbridos, el primer genotipo corresponde al parental femenino y el segundo al masculino.

	Consenso	residuo	Total	Proporción Consenso
Q	0,333	0,017	0,350	0,951
G	0,348	0,074	0,422	0,825
QxG	0,489	0,121	0,610	0,801
GxQ	0,472	0,146	0,618	0,764
Total	1,642	0,358	2,000	0,821

Posteriormente, se realizó un PCA para mostrar la variabilidad fenotípica de los cuatro genotipos incluyendo los valores por planta de cada DEG (200) y DM (13) (Figura 34; Anexos 9

y 10). Las PC1 y PC2 explicaron el 67% y 13% de la variabilidad de los datos, respectivamente. La PC1 estuvo positivamente correlacionada principalmente con *Solyc02g072080.1* (*Ubiquitina transferasa E3 tipo RING* – N° 41), *Solyc04g005480.1* (*similar a la proteína 1 relacionada con la nodulina* – N° 71), y *Solyc06g066370.4* (*factor de transcripción WRKY* – N° 113), y negativamente con el metabolito desconocido 1, *Solyc10g006130.1* (*EAR motif SIERF36* – N° 172), y *Solyc02g083835.1* (*Proteína chaperona DnaJ* – N° 47). Esta PC permitió distinguir GxQ (en valores positivos) de los otros genotipos, indicando potencial BPH y efecto recíproco para las principales variables que más contribuyen a esta componente (para ver la lista completa ver Anexos 9 y 10). Por otro lado, la PC2 estuvo positivamente correlacionada con *Solyc01g102610.3* (*Reducción férrica oxidasa 6* – N° 23), *Solyc07g055930.3* (*Hexosiltransferasa* – N° 135), y *Solyc08g081370.1* (*Proteína de la superfamilia RING/U-box* - N° 159) y negativamente con *Solyc06g069390.4* (*D-aminoacil-ARNt desacilasa* – N° 116), *Solyc06g060800.4* (N° 110) y *Solyc01g105660.4* (N° 25) ambas codificantes de una proteína de la superfamilia oxidasas dependientes de 2-oxoglutarato (2OG) y Fe(II). La PC2 distinguió Q (en valores positivos) de los otros tres genotipos (en valores negativos), mostrando un comportamiento particular de este genotipo para las variables que más contribuyen a esta PC (para ver la lista completa ver Anexo 9 y 10). Los genotipos QxG y G co-localizaron en el mismo cuadrante mientras que GxQ y Q tuvieron un comportamiento opuesto. Similar al Análisis de Procrustes Generalizado, este análisis multivariado demostró la presencia de BPH, efecto recíproco y diferencias entre líneas parentales e híbridos.

Figura 34. Variabilidad fenotípica de dos genotipos parentales de tomate (Q y G) y sus híbridos (QxG y GxQ) de acuerdo a los 200 genes expresados diferencialmente (DEGs) y los 13 metabolitos diferenciales (DMs). (A) Variabilidad de las tres replicas biológicas de los cuatro genotipos evaluados en invernadero; (B) Distribución de los valores medios estandarizados de los 13 DMs (cuadrados) y 200 DEGs (círculo) medidos en frutos de tomate. Fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), xilosa (Xil), α -cetogluturato (α -KG), ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2), los aminoácidos están representados por el código de tres letras.

Redes de correlación fenotípica entre genes expresados diferencialmente y metabolitos diferenciales entre las líneas parentales e híbridos

El análisis de r_p entre los 200 DEGs y los 11 DMs conocidos, así como su representación a través de una red permitió estudiar las relaciones entre las variables (Figura 35 y Anexo 11). Se encontraron 120 r_p significativas ($p < 0,05$), estando 41 genes correlacionados con los 11 metabolitos conocidos. Las r_p fueron automáticamente agrupados en dos redes por el programa.

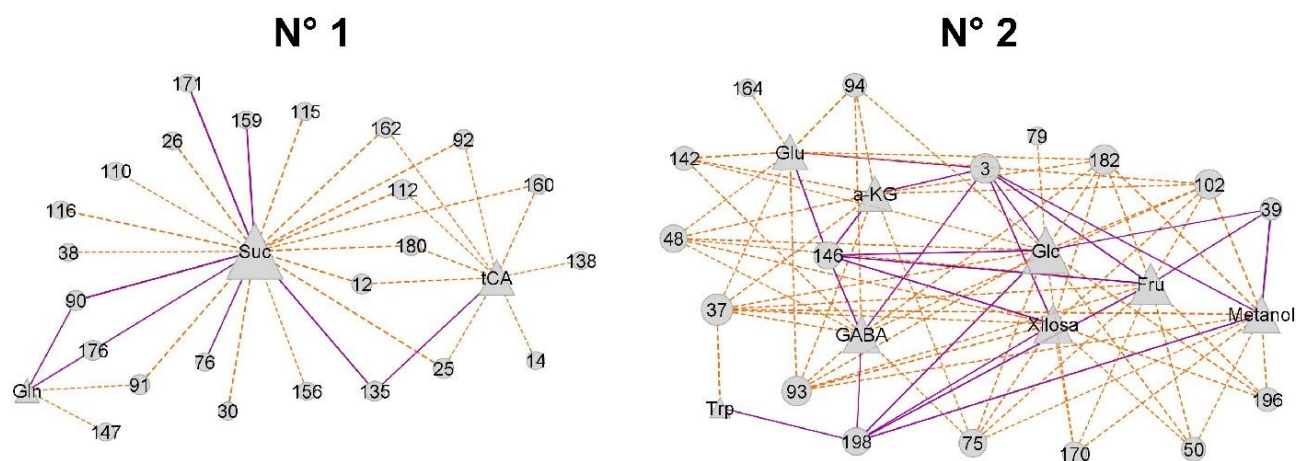


Figura 35. Redes de correlación fenotípica (r_p) ($p < 0,05$) entre los genes expresados diferencialmente y los metabolitos diferenciales conocidos medidos en tres réplicas biológicas de dos genotipos parentales de tomate y sus híbridos ($n = 12$), evaluados en invernadero. Los transcritos están representados por círculos y números, y los metabolitos por triángulos. Líneas sólidas y punteadas representan r_p positivas y negativas respectivamente. El grosor de la línea que conecta dos caracteres está relacionado con la intensidad de la r_p . El tamaño de los nodos es proporcional al número de conexiones. Fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), α -cetogluturato (α -KG), ácido γ -aminobutírico (GABA), los aminoácidos están representados por el código de tres letras. Ver Anexo 11

La primera red incluyó nueve r_p positivas y 26 negativas, de las cuales 19 (54%) mostraron r_p fuertes con un valor absoluto igual o mayor a 0,7. Esta red estuvo integrada por sacarosa, ácido *trans*-cinámico y glutamina, junto con 24 DEGs. Algunos de los genes incluidos están

relacionados con procesos biosintéticos o catabólicos de pigmentos y flavonoides, tales como la *dioxigenasa de escisión de carotenoides 1A* (*Solyc01g087250.3* – N° 12), *proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de 2-oxoglutarato (2OG) y Fe(II)* (*Solyc01g105660.4* – N° 25 - y *Solyc06g060800.4* – N° 110), procesos catabólicos de aminoácidos (*D-aminoacil-ARNt desacilasa* - *Solyc06g069390.4* – N° 116) y procesos biosintéticos de pectinas de la pared celular (*Hexosiltransferasa* - *Solyc07g055930.3* – N° 135).

La segunda red comprendió 22 r_p positivas y 63 negativas, entre las cuales 36 (42%) fueron r_p fuertes con un valor absoluto igual o mayor a 0,7. Esta red incluyó los metabolitos metanol, fructosa, glucosa, xilosa, glutamato, α -cetoglutarato, ácido γ -aminobutírico y triptófano, junto con 17 DEGs. En ellos están los *loci* que codifican para la *Metilesterasa 1* (*Solyc02g065280.3* – N° 39), la *beta-galactosidasa 6* (*Solyc02g084720.3* – N° 48), la *Manano endo-1,4-beta-manosidasa* (*Solyc02g084990.3* – N° 50) los cuales están involucrados en procesos metabólicos de carbohidratos, la *glutamina sintasa* (*Solyc04g014510.3* – N° 75) la cual actúa en la biosíntesis de glutamina, una *Sulfotransferasa* (*Solyc05g011890.1* – N° 93) y el factor de transcripción MYC2 (*Solyc08g005050.4* – N° 142) los cuales están asociados a la vía biosintética de flavonoides, y además el gen que codifica para una Serina decarboxilasa (*Solyc08g016770.4* – N° 146) la cual participa en el metabolismo del aminoácido serina.

El *locus Solyc01g112105.1*, el cual codifica para una monooxigenasa que contiene flavina (localizado en la segunda red de correlación e identificado por el N° 6), correlacionó con el mayor número de metabolitos (8), siendo todas correlaciones negativas. Dentro de los metabolitos, sacarosa correlacionó con el mayor número de genes (21), de los cuales 15 mostraron correlaciones negativas, tales como *Solyc01g087250.3* (*dioxigenasa de escisión de carotenoides 1A* – N° 12) y *Solyc01g105660.4* (*proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de 2-oxoglutarato (2OG) y Fe(II)* – N° 25), mientras que seis fueron correlaciones positivas como *Solyc07g055930.3* (*Hexosiltransferasa* – N° 135) y *Solyc05g005990.3* (*Proteína FAMILIA NRT1/PTR 1.1* – N° 90).

Acciones génicas de transcriptos y metabolitos

Para la estimación y comparación de acciones génicas se tuvieron en cuenta aquellos transcriptos y metabolitos incluidos en ambas redes de correlación. Como se mencionó anteriormente, la primera red comprendió 24 DEGs y tres metabolitos. La mayoría de esos DEGs estuvieron diferencialmente expresados entre Q y G, por ejemplo, *Solyc01g087250.3* (*dioxigenasa de escisión de carotenoides 1A*), *Solyc06g060800.4* y *Solyc01g105660.4* (*proteína*

de la superfamilia de oxigenasa dependiente de 2-oxoglutarato (2OG) y Fe(II)), Solyc06g069390.4 (*D-aminoacil-ARNt desacilasa*), Solyc07g055930.3 (*Hexosiltransferasa*), Solyc01g107080.3 (*Proteína de la familia de aciltransferasa tipo HXXXD*), Solyc05g005990.3 (*Proteína FAMILIA NRT1/ PTR 1.1*), y Solyc02g065270.1 (*Metilesterasa 1*). Nueve genes mostraron un modo de acción génica aditiva en ambos híbridos, mientras que seis loci Solyc06g069070.1 - *Inhibidor bifuncional/proteína de transferencia de lípidos/proteína de superfamilia de albúmina 2S de almacenamiento de semilla*, Solyc06g069390.4 - *D-aminoacil-ARNt desacilasa*, Solyc08g077680.3 - *Proteína tipo KIP1*, Solyc10g085470.1 - *Proteína desconocida*, Solyc04g055170.3 - *anexina p35*, y Solyc08g082870.3 - *Proteína de la superfamilia de plegamiento de Rossmann que se une a NAD (P)* mostraron acción génica aditiva en QxG, pero acción génica no aditiva (dominancia completa de G) en GxQ. Los genes Solyc01g105660.4 - *proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de 2-oxoglutarato (2OG) y Fe(II)*, Solyc02g065270.1 - *Metilesterasa 1*, y Solyc05g006370.2 - *Proteína desconocida* mostraron dominancia completa de G en ambos híbridos, mientras que Solyc10g150142.1 - *Proteína que contiene el dominio BED con dedos de zinc RICESLEEPER 2* y Solyc09g091420.4 - *Inosina trifosfato pirofosfatasa* fueron los únicos dos loci con dominancia de Q en ambas F₁. Además, el gen Solyc08g081790.3 - *Proteína dirigente* estuvo influido por dominancia completa de G en uno de los híbridos y dominancia parcial en el recíproco. En cuanto a los metabolitos, los tres incluidos en la primera red de correlación (sacarosa, glutamina y ácido *trans*-cinámico) fueron los únicos diferentes entre los padres. En ambos híbridos, el contenido de glutamina fue similar a Q (dominancia completa) y sacarosa mostró dominancia parcial hacia los menores valores. Además, QxG mostró sobredominancia positiva para ácido *trans*-cinámico, mientras que en GxQ este metabolito fue regido por dominancia completa de Q.

La segunda red de correlación estuvo integrada por 17 DEGs y ocho metabolitos. En este caso, se encontraron pocos genes diferentes entre las líneas parentales, por ejemplo, Solyc04g014510.3 - *glutamina sintetasa*. Cuatro genes mostraron sobredominancia negativa en ambos híbridos (Solyc05g011890.1 - *Sulfotransferasa*, Solyc05g055940.3 - *Proteína PHR1- LIKE 1*, Solyc09g082550.3 - *Transportador de Sulfato*, Solyc10g005080.3 - *Hipocótilo alargado tardío*), mientras que se encontró sobredominancia positiva en ambas F₁ para el gen Solyc12g056650.2 - *Proteína GIGANTEA*. Además, se encontró sobredominancia negativa y positiva para cuatro (Solyc01g112105.1 - *Monooxigenasa que contiene flavina*, Solyc02g084720.3 - *beta-galactosidasa 6*, Solyc02g084990.3 - *Manano endo-1,4-betamanosidasa*, Solyc12g042910.2 - *ADN fotoliasa*) y un (Solyc01g010170.2 - *betaglucosidasa 40*) DEGs respectivamente en GxQ,

mientras que los genes *Solyc05g013580.4* (Proteína de la familia beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa) y *Solyc08g005050.4* (factor de transcripción MYC2) mostraron sobredominancia negativa solo en QxG. Además, ambos híbridos mostraron dominancia completa de Q para la expresión del gen *Solyc02g065280.3* (Metilesterasa 1) y dominancia completa de G para el locus *Solyc08g016770.4* (Serina decarboxilasa). Por último, los loci *Solyc04g014510.3* (glutamina sintasa) y *Solyc04g072780.4* (FCS-Like Zinc finger 5) mostraron dominancia completa de G en QxG, pero sobredominancia negativa en GxQ. Interesantemente, todos los metabolitos incluidos en esta red de correlaciones (fructosa, glucosa, xilosa, α -cetogluturato, ácido γ -aminobutírico, glutamato, triptófano y metanol) exhibieron sobredominancia positiva en ambas F₁, mientras que no hubo diferencias entre las líneas parentales.

En resumen y como se puede observar en la Figura 36, en la primera red de correlaciones se pudo estimar el modo de acción génica de los DEGs a 42 de los 48 casos posibles, obtenido multiplicando 24 genes por los dos híbridos. En esta red, la principal acción génica encontrada para los DEGs fue aditividad, dado que 24 de los 48 casos posibles (50%), mostraron este tipo de acción génica. El resto de las acciones génicas fueron dominancia completa (17/48, 35,42%) y dominancia parcial (1/48, 2,08%). En cuanto a los DMs, se pudo estimar la acción génica a los seis casos posibles (tres metabolitos x dos híbridos), predominando dominancia completa (3/6, 50%), seguida por dominancia parcial (2/6, 33%) y sobredominancia (1/6, 17%). En la segunda red se pudo asignar un modo de acción génica a 25 de los 34 casos posibles para los DEGs y a todos los metabolitos. En este caso, la acción génica predominante fue sobredominancia tanto para los DEGs (19/34, 55,88%) como para los DMs (16/16, 100%). Además, se encontraron seis casos (6/34, 17,65%) de dominancia completa para los genes.

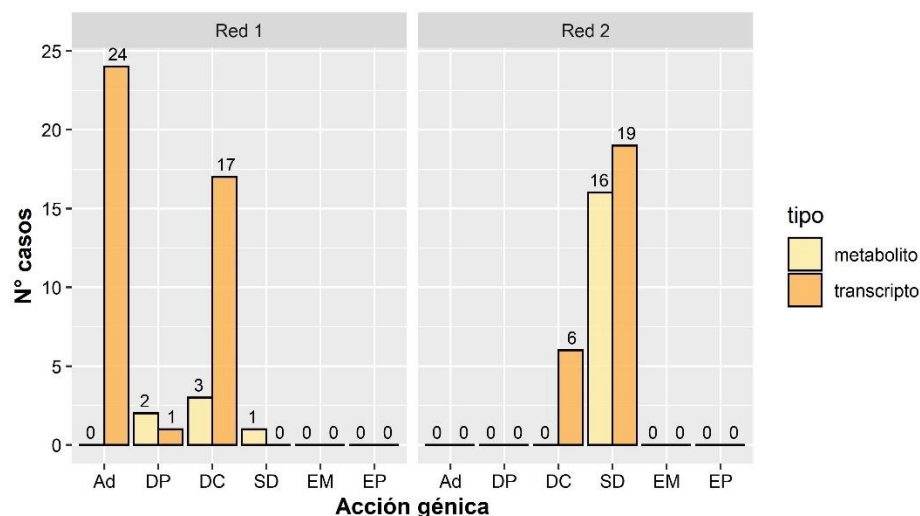


Figura 36. Número (N°) de casos encontrados de cada acción génica discriminado por tipo de variable: metabolitos (más claro) y transcritos (más oscuro); separado por red de correlación 1 y 2. Aditividad (Ad), dominancia completa (DC), dominancia parcial (DP), sobredominancia (SD), efecto materno (EM), efecto paterno (EP).

Genes detectados en el pan-genoma de tomate

Las lecturas que no alinearon al genoma de referencia (aproximadamente 7%) fueron comparadas con los datos disponibles del pan-genoma y, luego del filtrado, se detectaron 176 genes. Entre ellos, 13 genes estuvieron diferencialmente expresados incluyendo todas las comparaciones (Anexo 12). Interesantemente, cuatro de ellos pertenecieron a secuencias de *S. pimpinellifolium*: *TomatoPan027960* (*dedo de Zinc*), *TomatoPan028520* (*similar a la zeatina O-glucosiltransferasa*), *TomatoPan065840* (*UDP-glucosa iridoide similar a la glucosiltransferasa*) y *TomatoPan030130* (*GTPase Era*). Otros cinco DEGs correspondieron a *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*: *TomatoPan005770* (*UDP glicosiltransferasa*), *TomatoPan041430* (*L-galactosa deshidrogenasa*), y *TomatoPan056960* (*F-box At1g65770 isoforma X1*), *TomatoPan016720* (*similar a la subunidad 1A del complejo 2 3 relacionado con la actina*) y *TomatoPan017960* (*PREDICHA: proteína no caracterizada LOC109236025*). Los cuatro genes restantes fueron reportados como accesiones de *S. cheesmaniae* y *S. lycopersicum*. Un total de 10 genes (10/13 = 77%) estuvieron expresados diferencialmente entre las líneas parentales. Se pudo estimar el modo de acción génica a 23 de los 26 casos posibles, obtenido multiplicando 13 genes por los dos híbridos. Cuatro genes mostraron acción génica aditiva, cuatro exhibieron dominancia completa de G y dos tuvieron dominancia completa de Q en ambos híbridos. Además, se encontró sobredominancia positiva en dos *loci* y efecto recíproco en tres.

DISCUSIÓN

Diversas características del fruto de tomate inciden en la decisión de un consumidor sobre la compra y aceptación de una variedad particular de fruto. Actualmente, las que más influyen son las relacionadas a la morfología o aspecto físico (tamaño, color, forma), y al sabor de los frutos. El consumidor actual es muy crítico sobre la falta de sabor de los frutos de tomate comerciales. Caracteres tales como el contenido de sólidos solubles, la acidez titulable y los niveles de metabolitos solubles y compuestos volátiles son muy importantes para la definición de calidad y la selección de un material para su comercialización. Es por ello que los programas de mejoramiento se empezaron a enfocar en lograr la calidad demandada por el consumidor, sin disminuir el rendimiento requerido por los productores y la vida poscosecha del fruto demandada por la cadena de comercialización.

Actualmente, los genotipos híbridos son preferidos frente a las líneas homocigotas en diferentes cultivos debido a su mejor adaptabilidad y comportamiento en diferentes ambientes. El valor fenotípico del híbrido está determinado tanto por los efectos aditivos de cada alelo, es decir, su contribución *per se* al carácter, como por los efectos no aditivos generados por las interacciones entre alelos del mismo gen o entre distintos genes, por ejemplo, dominancia y epistasis.

El análisis dialélico completo consiste en elegir p líneas parentales las cuales son cruzadas en todas las direcciones, logrando un máximo de p^2 combinaciones (Griffing, 1956), incluyendo autofecundaciones e híbridos recíprocos. Este tipo de diseño se utiliza para estudiar aptitudes combinatorias generales y específicas, heterosis, efectos recíprocos y acciones génicas. En este trabajo de Tesis se seleccionaron cinco líneas parentales las cuales fueron cruzadas siguiendo un diseño de cruzamientos dialélico completo, dando como resultado 20 híbridos.

Variabilidad agronómica y metabólica de las cinco líneas parentales y su relación con las aptitudes combinatorias generales

Una manera de obtener genotipos con calidad superior, sin perjudicar la vida poscosecha, es utilizando germoplasma de origen silvestre. Se ha comprobado que la introgresión de alelos de especies silvestres emparentadas con el tomate cultivado permite la expansión de la base genética, lo cual redundará en el mejoramiento de la calidad del fruto (Rodríguez et al., 2010; López et al., 2015; Tieman et al., 2017; Gao et al., 2019). Numerosas poblaciones de RILs han sido obtenidas a partir de cruzamientos entre *S. lycopersicum* y *S. pimpinelifolium* (Rodríguez et al.,

2006b; Capel et al., 2015; Rambla et al., 2017; Zhang et al., 2018). En este trabajo, tres RILs (Q, G y la RIL17) previamente evaluadas para caracteres agronómicos de planta y fruto (Rodríguez et al., 2006a,b) y metabolitos de fruto (López et al., 2015) se utilizaron como líneas parentales junto con dos cultivares criollos estadounidenses (PP y GZ). Cuando se analizaron los caracteres agronómicos y el contenido de metabolitos solubles de fruto se observó una amplia variabilidad fenotípica entre las RILs y los cultivares criollos estadounidenses. Ésto está de acuerdo con investigaciones previas que informaron un mejoramiento del contenido de metabolitos y caracteres de calidad de fruto al cruzar el tomate cultivado con un silvestre emparentado (Marchionni Basté et al., 2010; López et al., 2015; Cambiaso et al., 2019a). Las RILs evaluadas fueron similares para diámetro, altura y peso de fruto, sin embargo, la RIL17 tuvo la mayor vida poscosecha y el mayor contenido de malato y piruvato. Comparadas con los cultivares estadounidenses, las RILs produjeron frutos más pequeños y de menor peso. Resultados similares fueron encontrados cuando se evaluaron las GCA de las líneas parentales. La GCA refiere al comportamiento promedio de una línea en combinaciones híbridas, indicando la contribución potencial de dicha línea al valor medio de un carácter por el efecto *per se* de sus genes. En este trabajo de Tesis, se encontró que PP y GZ tuvieron los valores más altos de GCA para los caracteres relacionados a tamaño de fruto (diámetro, altura, peso), indicando que estos genotipos tienden a incrementar el valor medio de estos caracteres. Por otro lado, Q, G y la RIL17 tuvieron los valores más bajos, generando una disminución del tamaño del fruto. Esto se explica debido a que la incorporación de alelos silvestres genera una reducción en el peso del fruto (Rodríguez et al., 2005; Pereira da Costa et al., 2009). Bueno (2018) realizó la caracterización genotípica mediante marcadores moleculares de ADN de los cinco genotipos parentales aquí evaluados y demostró que PP es el único genotipo con el alelo cultivado de los genes *FAS* (Rodríguez et al., 2011) y *FW3.2* (Chakrabarti et al., 2013), y el alelo silvestre del *locus LC* (Muños et al., 2011), los cuales están asociados al tamaño, peso y número de lóculos del fruto. Estos resultados sugieren que hay otros genes desconocidos involucrados en la expresión de fenotipos con alto peso de fruto en estos genotipos parentales.

Influencia genotípica y ambiental en la expresión de los caracteres agronómicos y metabolitos de fruto

Un aspecto importante a considerar en los programas de mejoramiento enfocados en caracteres de calidad de fruto es que éstos poseen herencia cuantitativa, por lo que su fenotipo está altamente influenciado por el ambiente. Analizar el efecto genotipo, ambiente, y $G \times E_n$ es

importante dado que pueden afectar la correcta selección de genotipos prometedores (Panthee et al., 2012; Zhao y Xu, 2012). Por ejemplo, Panthee et al. (2012) evaluaron el contenido de licopeno, vitamina C, sólidos solubles y acidez titulable, en 42 variedades de tomate cultivadas en tres ambientes. Los autores encontraron efecto genotipo, ambiente y $G_e \times E_n$ significativo ($p < 0,05$) para todos los caracteres, excepto para vitamina C que no se vio afectada por la interacción. Además, Samaniego et al. (2020) evaluaron la influencia del ambiente en compuestos fitoquímicos en 11 cultivares de papa (*S. tuberosum*) cultivados en tres ambientes, y encontraron efectos genotipo, ambiente y $G_e \times E_n$ significativos. Sin embargo, el genotipo explicó la mayor variación de los caracteres analizados. D'Esposito et al. (2017) evaluaron tres cultivares de tomate en dos localidades y demostraron que, dentro de los metabolitos, tanto aminoácidos como azúcares fueron los más afectados por el ambiente. En este trabajo, se obtuvieron resultados diferenciales ya que para sólidos solubles solo hubo efecto ambiente significativo ($p = 0,0009$) y para acidez titulable solo se encontró efecto genotipo significativo ($p < 0,0001$). Respecto a los metabolitos, se observó que los aminoácidos fueron fuertemente afectados por el ambiente mientras que los azúcares no. Estos resultados demuestran que la influencia del ambiente no solo depende del carácter evaluado, sino también de los genotipos estudiados y del ambiente testeado. Interesantemente, fructosa es el azúcar que más influye en el gusto dulce del fruto de tomate (Tiemán et al., 2012) y solo se encontró efecto genotipo para este metabolito, lo cual puede ser útil a la hora de realizar mejoramiento para este carácter.

La caracterización fenotípica de los genotipos parentales demostró que, a nivel general, el genotipo fue el componente más importante en la expresión de los caracteres evaluados, lo que permitió la evaluación de la población de híbridos y líneas parentales en un solo ambiente.

Impacto de las combinaciones alélicas de los híbridos sobre la heterosis y su relación con la aptitud combinatoria específica

Muchas veces los híbridos incrementan la variabilidad más allá de lo observado en las líneas parentales, debido a la combinación alélica generada por los cruzamientos (Springer y Stupar, 2007). En este trabajo de Tesis se detectó una mayor variación fenotípica en los híbridos comparados con sus parentales, principalmente a nivel metabólico. Al comparar el fenotipo de los híbridos con sus respectivos padres es posible evaluar la presencia de heterosis, la cual puede tener lugar debido a que los híbridos tienen más interacciones regulatorias que confieren una mayor adaptabilidad a diferentes ambientes, comparados con las líneas homocigotas (Andorf et

al., 2010). Aunque la heterosis es más frecuente en especies alógamas como el maíz que en especies autógamas como el tomate (Liu et al., 2020), en este trabajo se encontraron caracteres de fruto con heterosis. Recientemente, Kumar et al. (2020) publicaron un artículo de revisión donde informan heterosis en caracteres de *S. melongena*, tales como rendimiento, altura de planta, peso de fruto, contenido de ácido ascórbico, contenido total de fenólicos y precocidad. Butcher et al. (2013) encontraron heterosis positiva para los metabolitos capsaicina y capsaicinoides totales y heterosis negativa para quercetina y luteolina en *Capsicum annuum*. Además, se ha informado la existencia de heterosis en tomate para producción de biomasa, rendimiento y calidad de fruto (Krieger et al., 2010; Marchionni Basté et al., 2010; Solieman et al., 2013). Se ha reportado la existencia de heterosis para metabolitos en maíz y *Arabidopsis*, pero no hay muchos antecedentes en tomate (Schauer et al., 2008; Meyer et al., 2012; Fernie y Tohge, 2017). Dos tipos de heterosis pueden ser evaluadas: heterosis respecto al padre medio (MPH) y respecto al padre más extremo (BPH). La primera es más utilizada desde el punto de vista de la genética cuantitativa, mientras que la segunda es más importante cuando se llevan a cabo programas de mejoramiento vegetal. En este trabajo, se encontró una alta incidencia de ambos tipos de heterosis. Tres caracteres agronómicos de fruto (de 12) y 23 metabolitos (de 28) mostraron al menos un híbrido con BPH significativa. *S. pimpinellifolium* ha sido propuesto como una fuente de alto contenido de fructosa y glucosa (Beckles et al., 2012; Quinet et al., 2019), lo cual estuvo en concordancia con el mayor contenido, la MPH y la BPH encontrados para estos metabolitos en los híbridos PPxRIL17, QxG, QxRIL17 y RIL17xQ. Se logró un incremento significativo ($p < 0,05$) de los valores medios de la mayoría de los metabolitos en al menos un 50%, excepto por citrato y piruvato que tuvieron valores medios negativos para MPH y BPH, mientras que sacarosa, malato y succinato tuvieron valores medios negativos solo para MPH. Recientemente, Li et al. (2020) evaluaron heterosis en maíz y encontraron MPH positiva para sacarosa, piruvato y malato, los cuales están involucrados en la fotosíntesis y el metabolismo de los azúcares; mientras que metabolitos relacionados a la vía de la fotorrespiración, tales como la glutamina, tuvieron MPH negativa. Los autores argumentaron que los híbridos fueron más eficientes en la fotosíntesis, lo que les otorga una ventaja sobre sus líneas parentales. El material vegetal generado por Bueno (2018) y evaluado en este trabajo tuvo valores medios altos para la mayoría de los metabolitos, principalmente fructosa, glucosa, citrato, malato y varios aminoácidos, comparados con otros híbridos presentados por Ingallina et al. (2020). Recientemente, Bajpai et al. (2019) encontraron MPH en metabolitos primarios y secundarios en tejidos vegetativos y reproductivos de *Brassica juncea*. Los autores mencionaron la posibilidad

de utilizar metabolitos primarios, principalmente aminoácidos, como biomarcadores heteróticos, lo cual estuvo en coincidencia con Fernandez et al. (2016), quienes propusieron el uso de metabolitos como biomarcadores para predecir el desempeño de la planta.

En relación con la ocurrencia de heterosis y el desempeño de los híbridos se encuentra la SCA. Ésta se define como la desviación que presenta la progenie de una cruce determinada con respecto al comportamiento promedio de sus líneas parentales, y su estudio permite seleccionar las mejores combinaciones híbridas. Una alta correspondencia entre heterosis y SCA es esperable debido a que ambos fenómenos están relacionados con la presencia de acciones génicas no aditivas en el híbrido (Shamsuddin, 1985). En este trabajo de Tesis, se encontraron algunos cruzamientos con heterosis y con la mayor SCA para el carácter evaluado; por ejemplo, QxG fue el híbrido con el mayor valor medio y SCA para fructosa y glucosa, y mostró MPH y BPH significativas ($p < 0,05$) y positivas para estos metabolitos. Resultados similares se encontraron para α -cetoglutarato, ácido γ -aminobutírico y ácido *trans*-cinámico en el híbrido QxPP. Además, QxRIL17 y QxGZ tuvieron los menores valores medios, MPH y la SCA más negativa para forma y fumarato respectivamente. Esto es interesante debido a que muestra que esas combinaciones de líneas parentales pueden ser efectivamente usadas para explotar ambos tipos de heterosis. Los resultados demuestran que las combinaciones alélicas de estas líneas parentales y las acciones génicas no aditivas generadas en esos cruzamientos permiten obtener híbridos con mejor desempeño que sus líneas parentales.

El fenotipo de los híbridos para caracteres agronómicos y metabolitos de fruto es afectado por efectos recíprocos

Varios estudios han sido conducidos en especies vegetales para evaluar la presencia de efectos recíprocos, principalmente en caracteres agronómicos, pero se conoce poco de este fenómeno a nivel metabólico. Mukanga et al. (2010) investigaron el comportamiento de 10 familias de hermanos completos de maíz cruzadas siguiendo un diseño de cruzamiento dialélico completo para determinar la resistencia a la podredumbre de espiga, y encontraron efectos recíprocos altamente significativos. Además, se han encontrado diferencias entre híbridos recíprocos de *Arabidopsis* para tamaño de semilla, un carácter asociado a efecto materno (Nanda et al., 2019). En estudios previos, Smith et al. (2008) informaron efectos recíprocos en tomate para absorción de agua y destacaron que la existencia de efectos recíprocos debe ser probada debido a que podría haber una ventaja (o desventaja) de acuerdo a la dirección del cruzamiento de dos líneas.

Li et al. (2014) encontraron diferencias entre híbridos recíprocos para peso y forma de fruto en tomate. En este trabajo se encontró efecto recíproco para caracteres agronómicos y metabolitos. El análisis dialélico completo permitió, además, estimar los efectos recíprocos de cada variable a través de todos los cruzamientos. Cinco caracteres agronómicos (diámetro, altura, peso, a^*/b^* y pH), tres azúcares (fructosa, glucosa, xilosa), dos ácidos orgánicos (piruvato y α -cetoglutarato), nueve aminoácidos (ácido γ -aminobutírico, asparagina, glutamato, glutamina, isoleucina, tirosina, fenilalanina, treonina, valina), metanol y el metabolito desconocido 1 mostraron efecto recíproco significativo, representando el 53% de los caracteres evaluados. En particular, cuando se analizaron los cruzamientos de a uno, seis caracteres agronómicos (firmeza, vida poscosecha, a^*/b^* , número de lóculos, pH y SS) y la mayoría de los metabolitos (26 de los 28), con excepción de alanina y malato, mostraron efecto recíproco significativo en al menos un cruzamiento. La mitad de los caracteres evaluados (20) mostró resultados consistentes entre los dos tipos de análisis, otorgándole robustez a los resultados obtenidos para ellos. Debido a la divergencia de los genotipos parentales, estos resultados podrían ser detectados también en otros cruzamientos de tomate más allá de los genotipos incluidos en estos análisis.

Los híbridos recíprocos son genéticamente idénticos, por lo que las diferencias fenotípicas entre ellos pueden ser debido a efectos maternos (Santure y Spencer, 2006; Wolf y Wade, 2016) y/o paternos (Rando, 2012; Crean y Bonduriansky, 2014), herencia citoplasmática (Rajcan et al., 2002; Nagata, 2010), o impronta genómica (Köhler et al., 2012; Rodrigues y Zilberman, 2015; Satyaki y Gehring, 2017). Los efectos maternos o paternos, genéticos o no genéticos, implican que las características o el ambiente donde crecen los parentales influyen en el fenotipo que expresa su descendencia vía mecanismos distintos a la herencia de los alelos (Santure y Spencer, 2006; Crean y Bonduriansky, 2014). Wolf y Wade (2016) mencionan que la selección en la descendencia lleva a una selección indirecta de los genes con efecto materno. La herencia citoplasmática es causada por una distribución asimétrica de los plastidios y mitocondria durante la microgametogénesis o durante la fecundación. Aproximadamente el 80% de las angiospermas exhiben herencia materna de organelas (Zhang et al., 2003), habiéndose reportado este fenómeno en tomate (Greiner et al., 2015). Además, se han informado polimorfismos en las secuencias genómicas de las organelas. Moner et al. (2020) declararon que la presencia de diversidad funcional en el genoma de cloroplastos en el pool génico de arroz puede tener implicancias en el desempeño del cultivo. En tomate, se han informado polimorfismos de nucleótido único (SNPs, *single nucleotide polymorphisms*) en secuencias genómicas organelares,

mientras que se han encontrado variantes estructurales y varios SNPs entre genomas mitocondriales de tomates cultivados y especies silvestres de tomate (Kim y Lee, 2018). Estos polimorfismos podrían contribuir a la diferencia fenotípica entre híbridos recíprocos. La impronta genómica es un efecto epigenético por el cual un alelo es expresado por sobre otro, dependiendo del rol sexual del padre que contribuye con el alelo (Köhler et al., 2012). Es un sistema complejo regulado por marcas epigenéticas que incluyen modificación de histonas y metilación del ADN (Satyaki y Gehring, 2017). Gimenez et al. (2021) demostraron que la identidad epigenética mostrada por los híbridos recíprocos explica las diferencias fenotípicas entre ellos, indicando que la metilación del ADN puede ser uno de los mecanismos involucrados en el efecto del origen del padre (POEs, *parent-of-origin effects*). Los resultados discutidos hasta este momento sugieren la presencia de efectos citoplasmáticos y epigenéticos controlando la expresión de caracteres de fruto, principalmente contenido de aminoácidos, fenómenos que no han sido informados en metabolitos de tomate.

Relación entre heterosis, efecto recíproco y distancias genéticas

Un paso crítico en los programas de mejoramiento vegetal es la selección de las líneas parentales (Kaushik et al., 2018). Existen diferentes puntos de vista en cuanto a la asociación entre las distancias genéticas entre las líneas parentales y la heterosis lograda en los híbridos (Ajmone Marsan et al., 1998; Kaushik et al., 2018; Singh y Gupta, 2019; Liu et al., 2020). En este trabajo, los híbridos con el mayor número de caracteres con BPH significativa ($p < 0,05$) fueron QxRIL17, RIL17xQ y QxG. En estos cruzamientos, las líneas parentales Q, RIL17 y G son genéticamente cercanas, dado que pertenecen al mismo origen genético (Rodríguez et al., 2006a; Bueno, 2018). PP y GZ también tienen una distancia genética cercana, sin embargo, no se detectó BPH significativa ($p > 0,05$) en las F_1 PPxGZ y GZxPP. Estos hallazgos coinciden con Nie et al. (2019) y Kaushik et al. (2018) quienes postulan que la heterosis de la F_1 no puede ser predicha por la distancia genética entre las líneas parentales. Como se mencionó previamente, los genotipos Q, RIL17 y G son RILs derivadas de un cruzamiento interespecífico entre el tomate cultivado y el silvestre, mientras que PP y GZ son cultivares criollos estadounidenses. Estas RILs presentan bloques génicos de *S. lycopersicum* y de *S. pimpinellifolium* combinados al azar (Cambiaso et al., 2019a). La fijación de diferentes frecuencias alélicas entre estas RILs para los genes relacionados a los caracteres analizados podría explicar el alto nivel de heterosis lograda por los híbridos. Además, no se detectó ninguna relación entre los efectos recíprocos y las distancias genéticas entre las líneas parentales, dado que los cruzamientos GxRIL17 y RIL17xGZ

tuvieron los mayores números de caracteres con diferencias fenotípicas entre híbridos recíprocos. Resultados similares fueron obtenidos por Gimenez et al. (2021), quienes reportaron que el efecto recíproco no está relacionado con la distancia genética entre las líneas parentales.

Acciones génicas involucradas en la expresión de caracteres agronómicos y metabolitos de fruto

A partir del análisis dialélico se obtuvo información sobre la herencia de los caracteres evaluados, basándose en el fenotipo de los híbridos comparado con el de sus parentales. El valor del híbrido está determinado por el efecto aditivo de cada alelo que interviene en la expresión del carácter, junto con las interacciones intra o intergénicas (dominancia, epistasis). La mayoría de los caracteres agronómicos y metabolitos evaluados tuvieron GCA y SCA significativas, indicando la existencia de acciones génicas aditivas y no aditivas respectivamente en la expresión de los mismos. Se estimó el tipo de acción génica (aditiva y no aditiva) predominante en un carácter analizando la relación GCA/SCA. La mayoría de los caracteres estuvo principalmente influenciada por acciones génicas no aditivas, con excepción de diámetro, altura, forma, peso, galactosa y el metabolito desconocido 2 en los que fue más importante la aditividad. López et al. (2015) estudiaron las acciones génicas de 60 metabolitos (de los cuales 17 fueron medidos usando $^1\text{H-NMR}$) y 12 caracteres agronómicos de fruto del híbrido F_1 obtenido a partir del cruzamiento entre el cv Caimanta de *S. lycopersicum* y la accesión LA0722 de *S. pimpinellifolium*. La principal acción génica encontrada para los caracteres agronómicos fue dominancia completa, seguida de aditividad, mientras que para los metabolitos también predominó dominancia completa, pero hubo un caso de sobredominancia (ácido γ -aminobutírico) y uno de aditividad (fructosa). Vale destacar que las tres RILs utilizadas en este trabajo de Tesis se originaron a partir de la mencionada F_1 . Dado que López et al. (2015) encontraron que el metabolito ácido γ -aminobutírico estuvo determinado por sobredominancia, la existencia de heterosis en los híbridos QxG, GxQ y GxRIL17 puede deberse a este tipo de acción génica. En contraposición, en este trabajo también se encontró heterosis para glutamato en QxG, GxQ, QxRIL17, RIL17xQ y GxRIL17, sin embargo, López et al. (2015) reportaron dominancia completa para este aminoácido, lo cual puede sugerir la existencia de epistasis en la determinación de su fenotipo heterótico.

Al comparar los resultados del análisis dialélico con los obtenidos a partir de ANOVA por cruzamiento y por variable, se encontró que diámetro y peso fueron determinados principalmente

por la acción génica aditividad, mientras que en el resto de los caracteres agronómicos fue mayor la dominancia completa. Sin embargo, para altura, forma y firmeza de fruto también hubo algunos cruzamientos que manifestaron aditividad. En el caso de los metabolitos, predominaron las acciones génicas de tipo no aditiva: dominancia parcial, dominancia completa y sobredominancia, habiendo muy pocos caracteres y cruzamientos en los que se observó aditividad. Estos resultados señalan que para los caracteres morfológicos de fruto predominan acciones génicas aditivas, pero pueden encontrarse discrepancias de acuerdo al cruzamiento seleccionado, con poco éxito de conseguir híbridos que superen a sus parentales. Por otro lado, para el resto de los caracteres sería posible explotar los efectos no aditivos de los genes y, principalmente para metabolitos, generar híbridos que tengan un mejor comportamiento que sus padres. Resultados similares fueron encontrados por Bineau et al. (2022) quienes reportaron que el modo de herencia de la mayoría de los caracteres evaluados dependió del cruzamiento analizado, con excepción de peso de fruto, el cual estuvo determinado por aditividad en 11 de los 14 híbridos F₁ evaluados.

Relevancia de las correlaciones fenotípicas entre caracteres agronómicos y metabolitos de fruto

En programas de mejoramiento es importante el estudio del desempeño de los genotipos, pero también puede ser relevante la correlación entre diferentes caracteres. Aquí se detectó un gran número de correlaciones entre caracteres agronómicos, entre metabolitos y entre ambos tipos de caracteres, medidos en la población de los 25 genotipos incluidos en el análisis dialélico completo. Además, se espera que haya un gran número de correlaciones entre metabolitos debido a la complejidad de las vías metabólicas presentes en plantas (Quinet et al., 2019). Estudiar las correlaciones entre datos moleculares y fenotipos visibles permite incrementar el conocimiento sobre las relaciones existentes en caracteres, procesos biológicos y sus regulaciones, y provee la posibilidad de desarrollar biomarcadores (Camacho et al., 2005; Panthee et al., 2013; Alonso et al., 2015).

Doce r_p fueron significativas ($p < 0,001$) entre todos los genotipos evaluados en el análisis dialélico (25), entre los híbridos (20) y entre los padres (5). Por ejemplo, firmeza correlacionó positivamente con vida poscosecha, diámetro y altura con peso de fruto, fructosa con glucosa, mientras que pH tuvo una correlación negativa con acidez titulable, indicando que estas relaciones entre caracteres son independientes del contexto genético que se considere (homocigotas, heterocigotas, o ambos). Similar a lo que ya se ha informado en López et al. (2015),

en este trabajo se encontró una correlación alta y positiva entre firmeza y vida poscosecha, tanto al analizar los datos de los genotipos resultantes del cruzamiento dialélico completo ($r_p=0,48-0,83$, $p<0,0001$) como al evaluar las tres NILs de *fas* y *lc* con el genotipo silvestre LA1589 ($r_p=0,50$ y $p=0,05$). Además, en la primera población se encontró una correlación negativa entre vida poscosecha y galactosa, pero no así en la segunda. Previamente, Zhang et al. (2018) propusieron la posibilidad de que exista una relación entre vida poscosecha y galactosa debido a la actividad del factor de transcripción *SIFSR* (*FRUIT SHELF-LIFE REGULATOR*, regulador de la vida poscosecha de fruto). Este factor de transcripción afecta positivamente la expresión de genes que codifican para enzimas que degradan la pared celular, incrementando el ablandamiento del fruto y, por lo tanto, disminuyendo la vida poscosecha y liberando galactosa contenida en las pectinas (Smith et al., 2002; Wang et al., 2018, 2019). Sin embargo, los resultados de ambas poblaciones indican que muchas veces las correlaciones fenotípicas entre variables cuantitativas son específicas de la población o incluso del ambiente que se evalúa. Además, se encontró correlación negativa entre número de lóculos y forma de fruto en ambas poblaciones ($r_p=-0,31$, $p<0,01$ y $r_p=-0,50$ y $p=0,05$), lo cual coincide con análisis previos que muestran que frutos más achatados (menor índice de forma) tienen un mayor número de lóculos que los frutos alargados (Rodríguez et al., 2011; Chu et al., 2019). Estudios previos detectaron una correlación negativa entre contenido de azúcar y tamaño de fruto, lo cual está relacionado con el proceso de domesticación del tomate que llevó a un incremento en el tamaño del fruto, pero con bajo contenido de azúcar (Tieman et al., 2017). En este trabajo se encontraron resultados similares, ya que peso de fruto estuvo negativamente correlacionado con SS ($r_p=-0,35$, $p<0,01$), fructosa ($r_p=-0,41$, $p<0,01$) y glucosa ($r_p=-0,45$, $p<0,001$).

Análisis transcriptómico como herramienta para comprender los fenotipos de caracteres de calidad de fruto

La técnica cDNA-AFLP ha sido ampliamente utilizada en diversos organismos para evaluar el perfil de expresión génica a nivel del genoma completo y detectar diferencias entre tratamientos, sin necesidad de conocer previamente información de secuencias génicas (Vuylsteke et al., 2007; Vriezen et al., 2008; Frank et al., 2009; Gamalath et al., 2009; Pereira da Costa et al., 2018; Zhang et al., 2020). Además, es una herramienta que permite evaluar la regulación génica de caracteres a través de la correlación del perfil de expresión génica con la expresión del carácter de interés (Stölting et al., 2009). En este trabajo, se analizó el perfil transcriptómico por cDNA-AFLP de cuatro cruzamientos seleccionados en base a su desempeño para caracteres agronómicos y

metabolitos de fruto. Los mismos fueron Q-RIL17, Q-G, RIL17-PP y G-GZ. El cruzamiento Q-G fue el que presentó menor porcentaje de polimorfismo, mientras que para G-GZ se encontró el mayor porcentaje. Este resultado puede explicarse debido a que Q y G son dos genotipos muy cercanos genéticamente, mientras que G y GZ son los dos genotipos parentales más distantes (Bueno, 2018). Al comparar el efecto recíproco de los TDFs con el de los caracteres agronómicos y metabolitos, se observó que el cruzamiento entre G y GZ fue el que presentó mayor efecto recíproco para los tres tipos de variables. Además, el mismo cruzamiento fue el que mostró más caracteres con efecto paterno (cinco TDFs y tres metabolitos). En cuanto a la presencia de sobredominancia, a diferencia de lo que se observó para caracteres agronómicos y metabolitos, G-GZ fue el que amplificó más TDFs con este tipo de acción génica, seguido por Q-RIL17 y Q-G que, a su vez, fueron los cruzamientos que manifestaron más sobredominancia (y BPH) para caracteres agronómicos y metabolitos. Posteriormente, se compararon las matrices de datos agronómicos, metabólicos y transcriptómicos de los 13 genotipos, y se encontró un grado de consenso alto, el cual fue mayor en genotipos homocigotas que en heterocigotas. Esto puede deberse a que en los híbridos hay interacciones génicas más numerosas y más complejas que en las líneas endocriadas.

Cuando se evalúan muchos genotipos el análisis de la expresión génica por cDNA-AFLP representa un método alternativo más económico y factible que RNA-Seq (Pereira da Costa et al., 2018), aunque a la vez demanda mucho tiempo y mano de obra. Sin embargo, principalmente se utiliza como técnica cualitativa al determinar la presencia o ausencia de un TDF, y es muy difícil calcular un nivel de expresión diferencial entre muestras basándose en la intensidad del fragmento amplificado. Una técnica más eficiente y que permite cuantificar el nivel de expresión de una gran cantidad de genes entre un número diverso de muestras es RNA-Seq. Es por ello que, en este trabajo, se llevó a cabo cDNA-AFLP para integrar los datos con los obtenidos para caracteres agronómicos y metabolitos, y seleccionar las dos líneas parentales y los dos híbridos resultantes de un cruzamiento, cuyo transcriptoma fue secuenciado y analizado para detectar expresión génica diferencial por RNA-Seq. El cruzamiento seleccionado fue entre Q y G ya que fue el que más fragmentos amplificó, entre los que se encontró heterosis, dominancia completa, dominancia materna y paterna, y efecto recíproco. Además, este cruzamiento mostró diez metabolitos con heterosis, tres con efecto recíproco, uno con efecto materno y resultados comparables con las SCA.

El análisis transcriptómico usando la técnica de secuenciación de nueva generación llamada RNA-seq permitió detectar más de 17.000 genes en cada muestra analizada, correspondiente a aproximadamente el 51% del total de genes que codifican proteínas en el genoma de referencia. Considerando todas las comparaciones se encontraron diferencias en la expresión de 200 genes, las cuales fueron mayoritarias entre híbridos recíprocos. Como se esperaba para transcriptoma de frutos rojo maduro, se encontraron algunos DEGs relacionados al proceso de maduración de tomate, tales como transcritos de genes que codifican para FT del tipo ERFs, β -galactosidasas, endo-1,4-beta-manosidasas y metilesterasas (Quinet et al., 2019). Al analizar la distribución de los 200 DEGs a lo largo de los 12 cromosomas de tomate, se observó que el mayor número de genes estuvo localizado en las regiones distales, lo cual es esperable debido a la alta tasa de recombinación en estas zonas comparadas con las largas regiones pericentroméricas de los cromosomas de tomate (Sim et al., 2012; Cabodevila et al., 2021). Interesantemente, el cromosoma 2 fue el único que no presentó DEGs en su extremo superior, lo cual puede deberse a la falta de polimorfismo entre los genotipos parentales. Como se explicó previamente, Q y G son líneas endocriadas derivadas de un cruzamiento interespecífico entre el cv Caimanta de *S. lycopersicum* y la accesión LA0722 del antecesor silvestre *S. pimpinellifolium* (Rodríguez et al., 2006a). Recientemente, Cambiaso et al. (2019b) reportaron que el extremo superior del cromosoma 2 y la región central del cromosoma 3 han sido heredadas de la especie silvestre y fijadas en el genoma cultivado durante el proceso de domesticación. Notablemente, los cromosomas 1 y 2 son los que concentran un mayor número de DEGs, principalmente en el extremo distal inferior, en concordancia con resultados previos donde se reporta que en regiones similares de estos cromosomas se detectaron varios QTLs relacionados con la calidad del fruto (Causse et al., 2002).

Además, a partir del alineamiento contra el pan-genoma de tomate de aquellas secuencias ausentes en la referencia, se evidenció la presencia de genes silvestres en los materiales aquí evaluados, no solo de la accesión LA0722 del antecesor *S. pimpinellifolium*, sino también de otras accesiones de la misma especie e, incluso, de otras especies. Esto da indicio de la introgresión de genes silvestres en el genoma cultivado que se logró a partir del cruzamiento interespecífico inicial, lo cual permitió incrementar la variabilidad del cultivo.

Los híbridos recíprocos fueron los genotipos con mayores diferencias transcripcionales

Si bien las líneas parentales presentaron pocas diferencias, lo cual es esperable debido a que ambas son líneas endocriadas derivadas del mismo cruzamiento interespecífico, la mayor divergencia se encontró entre los híbridos recíprocos. En el cruzamiento inicial, el parental femenino fue Caimanta mientras que el parental masculino fue la accesión LA0722 de la especie silvestre, por lo cual se espera que las RILs tengan el mismo citoplasma heredado de Caimanta. Teniendo en cuenta ésto, la diferencia entre híbridos recíprocos es probable que suceda debido a la impronta genómica, es decir, algunos genes pueden ser expresados de manera diferencial en híbridos recíprocos de acuerdo al rol sexual del genotipo parental que aporta el alelo (Köhler et al., 2012; Rodrigues y Zilberman, 2015; Satyaki y Gehring, 2017; Gimenez et al., 2021). Gimenez et al. (2021) evaluaron caracteres agronómicos de fruto en híbridos recíprocos obtenidos a partir de tres cruzamientos, entre los cuales están Q-G y PP-GZ y encontraron que el primero fue el que tuvo mayor efecto recíproco y mayor polimorfismo epigenético entre los híbridos.

Un total de 157 DEGs fueron diferentes entre los híbridos recíprocos, de los cuales 25 (16%) codifican para FTs, sugiriendo que los frutos al estado rojo maduro aún tienen un transcriptoma altamente regulado. Entre ellos, la familia WRKY fue la más representada (5 de 25), seguida por ERFs (4 de 25). Ambas familias de FTs están involucradas en las respuestas de la planta a estreses bióticos y abióticos, y al desarrollo como, por ejemplo, al proceso de maduración del fruto (Huang et al., 2012; Müller y Munné-Bosch, 2015; Cheng et al., 2016; Bai et al., 2018; Jia et al., 2022). Cinco *loci* (*Solyc01g079260.4* - *SIWRKY 23*, *Solyc04g078550.3* - *SIWRKY 7*, *Solyc06g066370.4* - *SIWRKY 31*, *Solyc06g068460.3* - *SIWRKY 40*, *Solyc08g006320.4* - *SIWRKY 11*) estuvieron infra-regulados en QxG comparado con GxQ. Kissoudis (2016) silenció un *SIWRKY23* en plantas de tomate y encontró una interacción cruzada entre la respuesta a estreses bióticos y abióticos. Además, la invasión de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* y *Pseudomonas syringae* (Huang et al., 2012) aumenta la expresión de *SIWRKY23*. Algo similar se observó para *SIWRKY21* luego de la infección de *Phytophthora infestans* y *Botrytis cinerea* (Liu et al., 2014; Li et al., 2015). Se conoce que las especies silvestres de tomate, tales como *S. pimpinellifolium*, tienen genes que confieren resistencia contra estreses bióticos y abióticos que pueden ser introgresados dentro del tomate cultivado para lograr el mejoramiento de este carácter (Bai y Lindhout, 2007; Liu et al., 2020). Li et al. (2015) demostraron que el gen *Solyc06g066370* de *S. pimpinellifolium* L3708 sobre-expresado en tabaco confirió resistencia a *Phytophthora*

nicotianae y tolerancia a estrés salino y sequía. Recientemente, Cambiaso et al. (2019b) encontraron y confirmaron por inoculación la resistencia de LA0722 de *S. pimpinellifolium* y la susceptibilidad de Q contra *Xanthomonas perforans*. Además, detectaron el alelo de resistencia VE-1 contra *Verticillium* sp. en la especie silvestre. Aquí, cuatro genes ERF (*Solyc07g053740.1 - Ethylene Response Factor F.4*, *Solyc08g078190.2 – Ethylenesponsive transcription factor 5*, *Solyc10g006130.1 - EAR motif SIERF36*, *Solyc12g009240.1 - Ethylene-responsive transcription factor*) estuvieron infra-regulados en QxG comparado con su F₁ recíproco. En estudios previos, el gen *Solyc07g053740.1* estuvo correlacionado negativamente con el nivel de compuestos fenólicos en fruto (Di Matteo et al., 2013; Ye et al., 2015), sugiriendo que QxG puede tener mayores niveles de estos metabolitos que el híbrido recíproco y, por lo tanto, más beneficios a la salud (Kumar y Goel, 2019). Los niveles de transcritos de 25 FTs (de 27) mostraron diferencias solo entre híbridos recíprocos, mientras que ninguno de los 27 FTs fue diferente entre los genotipos parentales, demostrando la presencia de impronta genómica en su expresión génica. Estos resultados sugieren que las F₁s pueden tener diferente desempeño frente a estreses. Por lo tanto, los programas de mejoramiento que apunten a mejorar la resistencia a enfermedades o tolerancia a sequía deberían considerar la selección del rol sexual de los genotipos femeninos y masculinos.

Profundización del conocimiento de las bases moleculares y genéticas de caracteres de calidad de fruto a través de la integración de ómicas

Los avances en genética molecular junto con enfoques ómicos y modelado computacional han hecho posible profundizar el conocimiento de las bases moleculares de caracteres de interés en numerosos cultivos. Estudios de asociación del genoma completo (GWAS, *Genome-wide association studies*), las tecnologías de secuenciación, fenotipado, y estudios que combinan el metaboloma con el proteoma son recursos útiles para comprender mejor la ocurrencia de heterosis (Fang y Luo, 2019; Li et al., 2020; Liu et al., 2020).

Al combinar un análisis global del transcriptoma de los cuatro genotipos (Q, G, QxG y GxQ) con datos metabólicos, se identificaron DEGs específicos asociados con metabolitos de fruto. A partir del cálculo de los coeficientes de r_p entre los DEGs y DMs medidos, se obtuvieron dos redes de correlación. Interesantemente, la primera incluyó los metabolitos sacarosa, glutamina y ácido *trans*-cinámico, los cuales fueron los únicos que difirieron entre las líneas parentales. Además, esta red incluyó 24 DEGs, de los cuales 19 estuvieron expresados diferencialmente (FDR<0,001

y \log_2FC ≥ 2) entre las líneas parentales. En contraste, la segunda red de correlación incluyó aquellos metabolitos que mostraron sobredominancia positiva, y por lo tanto BPH, en ambos híbridos (triptófano, glucosa, fructosa, xilosa, α -cetoglutarato, ácido γ -aminobutírico, glutamato y metanol), junto con 17 DEGs. La mayoría de esos genes (14) estuvieron diferencialmente expresados ($FDR < 0,001$ y $\log_2FC \geq 2$) entre GxQ y al menos un genotipo parental. Además, dos de ellos fueron diferentes entre QxG y Q. Los tres genes restantes difirieron entre los híbridos recíprocos. Estos resultados separaron dos fondos genéticos: genotipos homocigotas en la primera red y genotipos heterocigotas en la segunda red.

Cuando nos enfocamos en la primera red, sacarosa fue el metabolito que correlacionó ($p < 0,05$) con un mayor número de DEGs (21 de 24). Entre ellos, seis fueron correlaciones positivas y 15 fueron negativas. Además, este metabolito mostró dominancia parcial hacia los menores valores (G) en ambos híbridos, sugiriendo que, aunque las F_1 tuvieron valores fenotípicos entre las líneas parentales, G contribuyó con alelos dominantes que disminuyen el valor medio del carácter. Sacarosa es importante para el gusto dulce de los frutos e influye en la aceptación del consumidor (Xi et al., 2016; Tikunov et al., 2020). Entre los DEGs identificados, el gen *Solyc01g087250.3* (N° 12), el cual codifica para la dioxigenasa de escisión de carotenoides 1A, presentó correlación negativa ($r_p < 0,80$ y $p < 0,01$) con sacarosa y acción génica aditiva en ambos híbridos. En correspondencia con esto, G tuvo el mayor nivel de expresión de este gen en contraste con Q el cual mostró el menor nivel. Esta enzima actúa en el proceso catabólico de carotenoides, a partir del cual derivan los volátiles apocarotenoides (geranial, sulcatona, y β -ionona), involucrados en el sabor del fruto (Simkin et al., 2004; Vogel et al., 2010, Ilg et al., 2014; Zou et al., 2018), y correlacionan positivamente con dulzor (Tiemann et al., 2012). Otro metabolito incluido en la primera red de correlación fue el ácido *trans*-cinámico, el cual mostró dominancia completa de Q en el híbrido GxQ y sobredominancia positiva en QxG, demostrando la presencia de efecto recíproco. Además, este metabolito estuvo correlacionado positivamente ($p < 0,05$) con un DEG y negativamente con nueve. El ácido *trans*-cinámico es sintetizado por la enzima Fenilalanina amonio-liasa, la primera de la vía general de los fenilpropanoides y cataliza la eliminación no oxidativa de amonio desde la L-fenilalanina a ácido *trans*-cinámico. En plantas, la vía de los fenilpropanoides provee productos metabólicos suplementarios tales como flavonoides, lignina, ácido cafeico, ácido ferúlico y la fitohormona ácido salicílico (El Houari et al., 2021). El ácido *trans*-cinámico correlacionó negativamente ($r_p = -0.61$ y $p < 0,05$) con el gen *Solyc01g105660.4* (N° 25), que codifica una oxigenasa dependiente de Fe(II) y 2-oxoglutarato (2OG) (2-ODDs) y mostró

dominancia completa de G en ambos híbridos. Hasta el momento, este *locus* no ha sido funcionalmente caracterizado. Sin embargo, según Farrow y Fanchini (2014), una posible función de las enzimas 2-ODDs está relacionada a la biosíntesis de flavonoides, por lo que es esperable encontrar una correlación negativa con ácido *trans*-cinámico. Además, este metabolito correlacionó negativamente ($r_p=-0,58$ y $p<0,05$) con el gen *Solyc07g062260.3* (*BES1/BZR1* – N° 138), el cual estuvo expresado diferencialmente entre híbridos recíprocos. En *Arabidopsis*, *BZR1* representa una clase de factor de transcripción específico de plantas, siendo *BES1* su homólogo más cercano. *BES1/BZR1* participan en la vía de señalización de Brasinosteroides (BR) (Li et al., 2018), por lo tanto, influye en diferentes mecanismos involucrados en crecimiento y desarrollo vegetal. La aplicación exógena de BRs incrementa la actividad de enzimas relacionadas al metabolismo secundario en diversas especies tales como el tomate, la uva y la albahaca (Ahammed et al., 2012; Xi et al., 2013).

En cuanto a la segunda red, todos los metabolitos y la mayoría de los DEGs mostraron sobredominancia en al menos un híbrido. Glucosa ($r_p=0,62$) y fructosa ($r_p=0,77$) correlacionaron positivamente ($p<0,05$) con el *locus Solyc01g010170.2* el cual codifica para una β -glucosidasa 40 y mostró sobredominancia positiva en GxQ. Recientemente, Ye et al. (2019) sugirió a este gen como candidato para los niveles de glucosa y fructosa en dos ambientes. El híbrido GxQ tuvo el mayor contenido de glucosa y fructosa, el mayor valor absoluto del transcripto de este gen y tuvo una expresión mayor que G (FDR=0,002 y $\log_2FC=1,72$) y Q (FDR=0,0004 y $\log_2FC=2,19$), reforzando la relación entre los azúcares y este *locus*. Otro gen incluido en la segunda red de correlación fue *Solyc04g014510.3* (glutamina sintetasa – N° 75), el cual mostró dominancia completa de G en QxG y sobredominancia negativa en el híbrido GxQ. Uno de los metabolitos que correlacionaron con este gen fue glutamato ($r_p=-0,52$ y $p=0,08$). La enzima glutamina sintasa cataliza la condensación de glutamato y amonio para formar glutamina, por lo cual podría esperarse una correlación negativa entre los niveles del transcripto y de glutamato. Triptófano es un aminoácido esencial que los seres humanos no son capaces de sintetizar y necesita ser incorporado con el alimento. Los cultivos se consideran deficientes en este metabolito por lo cual es deseable encontrar genes involucrados en sus vías metabólicas que puedan ser explotados en programas de mejoramiento (Galili et al., 2016; Pott et al., 2021). En este trabajo de Tesis, se encontró correlación negativa ($r_p=-0,76$ y $p=0,01$) entre este metabolito y el *locus Solyc01g112105.1*, que codifica una monooxigenasa que contiene flavina. Aunque este gen aún no ha sido funcionalmente caracterizado, las monooxigenasas que contienen flavinas actúan en

la vía de biosíntesis de auxinas, donde el triptófano es un precursor, por lo que es esperable una correlación negativa entre ellos. Aquí, se encontró sobredominancia (y BPH) positiva para triptófano en ambos híbridos y sobredominancia negativa del gen en GxQ, reforzando la relación.

No es sencillo encontrar relaciones claras entre transcriptos y metabolitos a diferencia de las correlaciones entre transcriptos y proteínas, ya que cada transcripto codifica una proteína, pero el nivel de un metabolito puede ser afectado por varios genes, interacciones génicas, y sus relaciones pueden variar entre diferentes experimentos (Cavill et al., 2016). Sin embargo, en este trabajo se encontraron genes correlacionados con metabolitos que influyen en el sabor del fruto de tomate (sacarosa, glucosa, fructosa) o que son precursores de compuestos benéficos para la salud (ácido *trans*-cinámico y triptófano).

En resumen, la primera red de correlación incluyó genes principalmente con acción génica aditiva y metabolitos con acción génica no aditiva (dominancia completa, dominancia parcial y sobredominancia), siendo los únicos tres metabolitos diferencialmente acumulados entre los genotipos parentales. Por otro lado, en la segunda red de correlación, los DEGs y DMs incluidos mostraron principalmente sobredominancia. Según las búsquedas bibliográficas realizadas solo hay un estudio reciente en donde se analizan las acciones génicas relacionadas con los transcriptos y metabolitos en frutos de tomate (Bineau et al., 2022). Los autores encontraron genes correlacionados con metabolitos secundarios, pero destacan que el modo de acción génica que rige ambos tipos de caracteres depende del cruzamiento considerado. Esto sugiere que el modo de herencia es particular de cada cruzamiento, dado que las interacciones entre los genomas son particulares y específicas. Algunas investigaciones en otros cultivos han propuesto que las acciones génicas no aditivas (sobredominancia y dominancia completa) podrían controlar la presencia de heterosis (Zhang et al., 2015; Chen et al., 2018; Howlader et al., 2020), mientras que otros autores reportaron que genes expresados aditivamente pueden estar positivamente asociados con este fenómeno biológico (Guo et al., 2006; Swanson-Wagner et al., 2006; Hu et al., 2016). Dado que los niveles de metabolitos están controlados por varios genes, es decir, tienen herencia cuantitativa, no es esperable encontrar similares acciones génicas entre los transcriptos y metabolitos de una manera lineal y simple. Sin embargo, los análisis multivariados y las redes de correlación demostraron que los fenotipos para contenido metabólico están altamente explicados por el nivel de transcriptos y ambos se separaron en dos fondos genéticos distintos: genotipos homocigotas y genotipos heterocigotas.

CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados de este trabajo permitieron responder con éxito a los objetivos planteados al inicio.

Al analizar los 25 genotipos incluidos en el análisis dialélico completo, se demostró que el cruzamiento de las cinco líneas parentales permitió incrementar la variabilidad fenotípica observada en la población de híbridos. Se obtuvieron genotipos híbridos con caracteres agronómicos (en menor medida) y metabolitos (en mayor medida) con heterosis. Entre ellos, hubo híbridos con heterosis y altos valores medios de metabolitos primarios relacionados al sabor del tomate, tales como fructosa, glucosa, malato, glutamato, y otros metabolitos precursores de compuestos benéficos a la salud, tales como fenilalanina, triptófano y ácido *trans*-cinámico.

Los caracteres agronómicos diámetro, altura, forma y peso de fruto tuvieron los valores más altos del índice GCA/SCA y el mayor número de casos significativos con aditividad. El resto de los caracteres agronómicos y los metabolitos estuvieron mayormente influenciados por acciones génicas no aditivas, con una alta presencia de sobredominancia en metabolitos, lo cual además se relacionó con el bajo índice de GCA/SCA, MPH y BPH lograda por híbridos resultantes del dialélico. Estos resultados demuestran que los caracteres relacionados a la morfología del fruto están determinados principalmente por el valor aditivo de los genes de las líneas parentales, mientras que para caracteres agronómicos relacionados a color, parámetros bioquímicos y metabolitos de fruto influyen las interacciones entre alelos de un mismo *locus* o entre distintos *loci*.

Se evidenció una gran cantidad de asociaciones entre caracteres agronómicos, metabólicos y entre ambos. Las correlaciones entre firmeza y vida poscosecha de fruto (positiva), y entre forma y número de lóculos (negativa) fueron validadas utilizando dos poblaciones distintas, demostrando la robustez de las mismas.

Como se esperaba para transcriptoma de frutos rojo maduro, se encontraron algunos DEGs relacionados al proceso de maduración de tomate y, además, el 16% de los DEGs fueron FTs sugiriendo que los frutos al estado rojo maduro aún tienen un transcriptoma altamente regulado. El contenido metabólico de los frutos de los genotipos Q, G, QxG y GxQ estuvo explicado por el nivel de expresión de los transcriptos y ambos permitieron separarlos en dos fondos genéticos: genotipos homocigotas y genotipos heterocigotas. Las acciones génicas no aditivas encontradas para sacarosa, ácido *trans*-cinámico y glutamina pueden explicarse debido a la presencia de epistasis, dado que estos metabolitos correlacionaron principalmente con transcriptos con acción

génica aditiva. Por otro lado, el fenotipo de los híbridos con heterosis se explicó por transcriptos con acción génica no aditiva, con alta frecuencia de sobredominancia, siendo la teoría de la sobredominancia la que explicaría la heterosis encontrada para metabolitos. Además, se encontraron genes correlacionados con metabolitos que influyen en el sabor del tomate (fructosa, glucosa y sacarosa) y precursores de compuestos benéficos para la salud (ácido *trans*-cinámico y triptófano).

Se demostró el impacto de seleccionar un cultivar como femenino o masculino en un cruzamiento, sobre el perfil agronómico, metabólico o transcriptómico del híbrido. Se hipotetiza la existencia de impronta genómica, efectos parentales y/o herencia citoplasmática en aquellos caracteres agronómicos y metabólicos con efecto recíproco, medidos en la población constituida por los 20 híbridos. Por otro lado, dado que G y Q son dos RILs obtenidas a partir de un cruzamiento interespecífico entre el cv Caimanta como parental femenino y la accesión LA0722 como parental masculino, se espera que ambas RILs tengan el mismo citoplasma. Es por ello que la diferencia entre híbridos recíprocos puede ocurrir debido a la impronta genética, no solo a nivel del contenido de metabolito sino también para la expresión de genes relacionados a estreses bióticos y abióticos, y maduración de frutos.

Los resultados presentados en este trabajo demuestran la importancia de la dirección del cruzamiento en el desempeño del híbrido F_1 en cuanto a la presencia de efecto recíproco y BPH, y contribuyen a profundizar la comprensión de sus bases moleculares en cultivos vegetales. Además, se evidencia la posibilidad de mejorar la variabilidad de los atributos a través de la generación de híbridos y de explotar heterosis para caracteres agronómicos y metabolitos de fruto. Estos conocimientos podrían ser considerados por genetistas y mejoradores de plantas, específicamente para mejorar el sabor y contenido nutricional del fruto de tomate, así como para obtener híbridos que tengan un comportamiento superior contra estreses bióticos y abióticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abriata LA. 2012. Utilization of NMR spectroscopy to study biological fluids and metabolic processes: two introductory activities. *Concepts in Magnetic Resonance Part A* 40, 171–178.
- Ahamed GJ, Gao CJ, Ogwen JO, Zhou YH, Xia XJ, Mao WH, Shi K, Yu JQ. 2012. Brassinosteroids induce plant tolerance against phenanthrene by enhancing degradation and detoxification in *Solanum lycopersicum* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 28-36.
- Ajmone Marsan P, Castiglioni P, Fusari F, Kuiper M, Motto M. 1998. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 96, 219–227.
- Alonso A, Marsal S, Julià A. 2015. Analytical methods in untargeted metabolomics: state of the art in 2015. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 3, 23.
- Andorf S, Selbig J, Altmann T, Poos K, Witucka-Wall H, Repsilber D. 2010. Enriched partial correlations in genome-wide gene expression profiles of hybrids (*A. thaliana*): a systems biological approach towards the molecular basis of heterosis. *Theoretical and Applied Genetics* 120, 249–259.
- Andrade Júnior VC, Maluf WR, Faria MV, Gandolfi Benites FR, Santos Júnior AM. 2005. Produção e qualidade de frutos de tomateiros portadores de alelos mutantes de madurecimento e coloração. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40, 555-561.
- Andrews S. 2010. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Bai Y, Lindhout P. 2007. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? *Annals of Botany* 10, 1085-1094.
- Bai Y, Sunarti S, Kissoudis C, Visser R, van der Linden CG. 2018. The Role of Tomato WRKY Genes in Plant Responses to Combined Abiotic and Biotic Stresses. *Frontiers in Plant Science* 9, 801.
- Bajpai PK, Reichelt M, Augustine R, Gershenzon J, Bisht NC. 2019. Heterotic patterns of primary and secondary metabolites in the oilseed crop *Brassica juncea*. *Heredity* 123, 318–336.
- Baker S, García S, García M. 2021. Jóvenes De Familias Migrantes Y Transición Agroecológica En El Cinturón Hortícola De La Plata, Argentina. *Eutopía. Revista De Desarrollo Económico Territorial*, nº 19 (junio), 97 - 118.
- Baldauf JA, Vedder L, Schoof H, Hochholdinger F. 2020. Robust non-syntenic gene expression patterns in diverse maize hybrids during root development. *Journal of Experimental Botany* 71, 865–876.

- Baldwin EA, Scott JW, Shewmaker CK, Schuch W. 2000. Flavor Trivia and Tomato Aroma: Biochemistry and Possible Mechanisms for Control of Important Aroma Components, *HortScience* 35, 1013-1022.
- Barry CS, Giovannoni JJ. 2006. Ripening in the tomato *Green-ripe* mutant is inhibited by ectopic expression of a protein that disrupts ethylene signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 10, 7923-7928.
- Bauchet G, Causse M. 2012. Genetic Diversity in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives. In (Ed.), *Genetic Diversity in Plants*. IntechOpen.
- Beckles DM, Hong N, Stamova L, Luengwilai K. 2012. Biochemical factors contributing to tomato fruit sugar content: a review. *Fruits* 67, 49–64.
- Beecher GR. 1998. Nutrient content of tomatoes and tomato products. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 218, 98-100.
- Bellisle F. 1999. Glutamate and the UMAMI taste: sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. A review of the literature published in the last 10 years. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 23, 423–438.
- Bineau E, Rambla JL, Duboscq R, Corre M-N, Bitton F, Lugan R, Granell A, Plissonneau C, Causse M. 2022. Inheritance of Secondary Metabolites and Gene Expression Related to Tomato Fruit Quality. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 6163.
- Bueno RA. 2018. Caracterización agronómica y genética de híbridos obtenidos entre cinco cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L). Trabajo de tesis para optar al título de Magister en Genética Vegetal. Universidad Nacional de Rosario. URL: <http://hdl.handle.net/2133/18993>
- Butcher JD, Crosby KM, Yoo KS, Patil B, Jifon JL, Rooney WL. 2013. Heterosis in different F₁ *Capsicum annuum* genotypes for fruit traits, ascorbic acid, capsaicin, and flavonoids. *Scientia Horticulturae* 159, 72–79.
- Cabodevila VG, Cambiaso V, Rodríguez GR, Picardi LA, Pratta GR, Capel C, Lozano R, Capel J. 2021. A segregating population from a tomato second cycle hybrid allows the identification of novel QTL for fruit quality traits. *Euphytica* 217, 6.
- Camacho D, de la Fuente A, Mendes P. 2005. The origin of correlations in metabolomics data. *Metabolomics* 1, 53–63.
- Cambiaso V, Gimenez MD, Pereira da Costa JH, Vazquez DV, Picardi LA, Pratta GR, Rodríguez GR. 2019a. Selected genome regions for fruit weight and shelf life in tomato RILs discernible by markers based on genomic sequence information. *Breeding Science* 69, 447–454.
- Cambiaso V, Pratta GR, Pereira da Costa JH, Zorzoli R, Francis DM, Rodríguez GR. 2019b. Whole genome re-sequencing analysis of two tomato genotypes for polymorphism insight in cloned genes and a genetic map construction. *Scientia Horticulturae* 247, 58–66.

- Cambiaso V, Di Giacomo M, Balaban D, Brulé F, Ingaramo JI, Pereira da Costa JH, Rodríguez GR. 2022. Tomates zavalenses para las huertas urbanas y periurbanas de Argentina. *Agromensajes* 62, 30-31.
- Capel C, Fernández del Carmen A, Alba JM, Lima-Silva V, Hernández-Gras F, Salinas M, Boronat A, Angosto T, Botella MA, Fernández Muñoz R, Granell A, Capel J, Lozano R. 2015. Wide-genome QTL mapping of fruit quality traits in a tomato RIL population derived from the wild-relative species *Solanum pimpinellifolium* L. *Theoretical and Applied Genetics* 128, 2019–2035.
- Causse M, Saliba-Colombani V, Lecomte L, Duffé P, Rousselle P, Buret M. 2002. QTL analysis of fruit quality in fresh market tomato: a few chromosome regions control the variation of sensory and instrumental traits. *Journal of Experimental Botany* 53, 2089-2098.
- Cavill R, Jennen D, Kleinjans J, Briedé JJ. 2016. Transcriptomic and metabolomic data integration. *Briefings in Bioinformatics* 17, 891–901.
- Chakrabarti M, Zhang N, Sauvage C, Muños S, Blanca J, Cañizares J, Diez MJ, Schneider R, Mazourek M, McClead J, Causse M, Van Der Knaap E. 2013. A cytochrome P450 regulates a domestication trait in cultivated tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 110, 17125–17130.
- Chen L, Bian J, Shi S, Yu J, Khanzada H, Wassan GM, Zhu C, Luo X, Tong S, Yang X, Peng X, Yong S, Yu Q, He X, Fu J, Chen X, Hu L, Ouyang L, He H. 2018. Genetic analysis for the grain number heterosis of a super-hybrid rice WFYT025 combination using RNA-Seq. *Rice* 11, 37.
- Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor, *Bioinformatics* 34, i884–i890.
- Cheng Y, Jalalahammed G, Yu J, Yao Z, Ruan M, Ye Q, Li z, Wang r, Feng K, Zhou G, Yang Y, Diao W, Wan H. 2016. Putative WRKYs associated with regulation of fruit ripening revealed by detailed expression analysis of the WRKY gene family in pepper. *Scientific Reports* 6, 39000.
- Chen ZJ. 2013. Genomic and epigenetic insights into the molecular bases of heterosis. *Nature Reviews. Genetics* 14, 471–482.
- Chu YH, Jang JC, Huang Z, van der Knaap E. 2019. Tomato locule number and fruit size controlled by natural alleles of *lc* and *fas*. *Plant Direct* 3, e00142.
- Crean AJ, Bonduriansky R. 2014. What is a paternal effect? *Trends in ecology & evolution* 29, 554–559.
- D'Esposito D, Ferriello F, Molin AD, Diretto G, Sacco A, Minio A, Barone A, Cavella S, Tardella L, Giuliano G, Delledonne M, Frusciante L, Ercolano MR. 2017. Unraveling the complexity of

- transcriptomic, metabolomic and quality environmental response of tomato fruit. *BMC Plant Biology* 17, 66.
- D'Angelo M, Zanor, MI, Burgos E, Asprelli PD, Boggio SB, Carrari F, Peralta IE, Valle EM. 2019. Fruit metabolic and transcriptional programs differentiate among Andean tomato (*Solanum lycopersicum* L.) accessions. *Planta* 250, 1927–1940.
- Di Giacomo M, Luciani, MD, Cambiaso V, Zorzoli R, Rodríguez GR, Pereira da Costa JH. 2020. Tomato near isogenic lines to unravel the genetic diversity of *S. pimpinellifolium* LA0722 for fruit quality and shelf life breeding. *Euphytica* 216, 126.
- Di Matteo A, Ruggieri V, Sacco A, Rigano MM, Carriero F, Bolger A, Fernie AR, Frusciante L, Barone A. 2013. Identification of candidate genes for phenolics accumulation in tomato fruit. *Plant Science* 205–206, 87–96.
- Di Rienzo JA, Guzmán AW, Casanoves F. 2002. A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 7, 129–142.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2018. InfoStat versión 2018. <http://www.infostat.com.ar>
- El Houari I, Boerjan W, Vanholme B. 2021. Behind the Scenes: The Impact of Bioactive Phenylpropanoids on the Growth Phenotypes of Arabidopsis Lignin Mutants. *Frontiers in Plant Science* 12, 734070.
- Eshed, Y, Zamir D. 1995. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics* 141, 1147–1162.
- Fang C, Luo J. 2019. Metabolic GWAS-based dissection of genetic bases underlying the diversity of plant metabolism. *The Plant Journal* 97, 91–100
- Farrow SC, Facchini PJ. 2014. Functional diversity of 2-oxoglutarate/Fe(II)-dependent dioxygenases in plant metabolism. *Frontiers in Plant Science* 5, 524.
- Fernandez O, Urrutia M, Bernillon S, Giauffret C, Tardieu F, Le Gouis J, Langlade N, Charcosset A, Moing A, Gibon Y. 2016. Fortune telling: metabolic markers of plant performance. *Metabolomics* 12, 158.
- Fernie AR, Tohge T. 2017. The genetics of plant metabolism. *Annual Review of Genetics* 51, 287-310.
- Foolad MR. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics* 64358.
- Frank G, Pressman E, Ophir R, Althan L, Shaked R, Freedman M, Shen S, Firon N. 2009. Transcriptional profiling of maturing tomato (*Solanum lycopersicum* L.) microspores reveals

- the involvement of heat shock proteins, ROS scavengers, hormones, and sugars in the heat stress response. *Journal of Experimental Botany* 60, 3891–3908.
- Galili G, Amir R, Fernie AR. 2016. The Regulation of Essential Amino Acid Synthesis and Accumulation in Plants. *Annual Review of Plant Biology* 67, 153-78.
- Gamalath N, Sharma PN, Mori N, Nakamura C. 2009. Differential cDNA-AFLP screening of transcripts associated with brown planthopper resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Australian Journal of Crop Science* 3, 201-206.
- Gao L, Gonda I, Sun H, Ma Q, Bao K, Tieman DM, Burzynski-Chang EA, Fis TL, Stromberg KA, Sacks GL, Thannhauser TW, Foolad MJ, Diez MJ, Blanca J, Canizares J, Xu Y, van der Knaap E, Huang S, Klee HJ, Giovannoni JJ, Fei Z
- Gerszberg A, Hnatuszko-Konka K, Kowalczyk T, Kononowicz AK. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 120, 881–902.
- Gimenez MD, Vazquez DV, Trepas F, Cambiaso V, Rodríguez GR. 2021. Fruit quality and DNA methylation are affected by parental order in reciprocal crosses of tomato. *Plant Cell Reports* 40, 171-186.
- Giovannoni JJ. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. *The Plant Cell* 16 Suppl, S170–S180.
- Giovannucci E. 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute* 91, 317-331.
- Gower, J.C. 1975. Generalized procrustes analysis. *Psychometrika* 40, 33–51.
- Green GY, Pereira da Costa JH, Cambiaso V, Pratta GR, Zorzoli R, Rodríguez GR. 2016. Single and joint effect of the basal region of chromosome 2 and centromeric region of chromosome 8 on morphological and fruit quality traits in tomato. *Euphytica* 210, 327–339.
- Greiner S, Sobanski J, Bock R. 2015. Why are most organelle genomes transmitted maternally? *BioEssays* 37, 80–94.
- Griffing B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences* 9, 463–493.
- Guo M, Rupe MA, Yang X, Crasta O, Zinselmeier C, Smith OS, Bowen B. 2006. Genome-wide transcript analysis of maize hybrids: allelic additive gene expression and yield heterosis. *Theoretical and Applied Genetics* 113, 831–845.
- Hassan MA, Al-Sakkaf K, Shait Mohammed MR, Dallol A Al-Maghrabi J, Aldahlawi A, Ashoor A, Maamra M, Ragoussis J, Wu W, Khan MI, Al-Malki AL, Choudhry H. 2020. Integration of transcriptome and metabolome provides unique insights to pathways associated with obese breast cancer patients. *Frontiers in Oncology* 10, 804.

- Hochholdinger F, Hoecker N. 2007. Towards the molecular basis of heterosis. *Trends in Plant Science* 129, 427–432.
- Howlader J, Robin AHK, Natarajan S, Biswas MK, Sumi KR, Song CY, Park, Jong-In P, Ill-Sup N. 2020. Transcriptome analysis by RNA–Seq reveals genes related to plant height in two sets of parent-hybrid combinations in easter lily (*Lilium longiflorum*). *Scientific Reports* 10, 9082.
- Hu X, Wang H, Diao X, Liu Z, Li K, Wu Y, Liang Q, Wang H, Huang C. 2016. Transcriptome profiling and comparison of maize ear heterosis during the spikelet and floret differentiation stages. *BMC Genomics* 17, 959.
- Huang S, Gao Y, Liu J, Peng X, Niu X, Fei Z, Cao S, Liu Y. 2012. Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum*. *Molecular Genetics and Genomics* 287, 495–513.
- Ilg A, Bruno M, Beyer P, Al-Babili S. 2014. Tomato carotenoid cleavage dioxygenases 1A and 1B: Relaxed double bond specificity leads to a plenitude of dialdehydes, monoapocarotenoids and isoprenoid volatiles. *FEBS Open Bio* 4, 584–593.
- Ingallina C, Sobolev AP, Circi S, Spano M, Giusti AM, Mannina L. 2020. New hybrid tomato cultivars: an NMR-based chemical characterization. *Applied Sciences* 10, 1887.
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 2012. CENSO 2012 del Cinturón Hortícola de Rosario.
- Jia C, Wang Z, Wang J, Miao H, Zhang J, Xu B, Liu J, Jin Z, Liu J. 2022. Genome-Wide Analysis of the Banana WRKY Transcription Factor Gene Family Closely Related to Fruit Ripening and Stress. *Plants* 11, 662.
- Kassambara A, Mundt F. 2020. factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses. R package version 1.0.7. URL <https://CRAN.Rproject.org/package=factoextra>
- Kaushik P, Plazas M, Prohens J, Vilanova S, Gramazio P. 2018. Diallel genetic analysis for multiple traits in eggplant and assessment of genetic distances for predicting hybrids performance. *PLoS One* 13, e0199943.
- Kearsey MJ, Poony HS. 1996. The genetical analysis of quantitative trait. Chapman and Hall, Inc., London.
- Kim H, Lee J. 2018. Organellar genome analysis reveals endosymbiotic gene transfers in tomato. *PLoS One* 13, e0202279.
- Kim D, Langmead B, Salzberg S. 2015. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods* 12, 357–360.
- Kissoudis C. 2016. Genetics and regulation of combined abiotic and biotic stress tolerance in tomato. PhD Thesis, Wageningen University.

- Klee HJ, Tieman DM. 2018. The genetics of fruit flavour preferences. *Nature Reviews. Genetics* 19, 347–356.
- Köhler C, Wolff P, Spillane C. 2012. Epigenetic mechanisms underlying genomic imprinting in plants. *Annual Review of Plant Biology* 63, 331–352.
- Krieger U, Lippman ZB, Zamir D. 2010. The flowering gene *SINGLE FLOWER TRUSS* drives heterosis for yield in tomato. *Nature Genetics* 42, 459–463.
- Kruskal WH, Wallis WA. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47, 583–621.
- Kukurba KR, Montgomery SB. 2015. RNA Sequencing and Analysis. *Cold Spring Harbor protocols* 2015, 951–969.
- Kumar A, Sharma V, Jain BT, Kaushik P. 2020. Heterosis breeding in eggplant (*Solanum melongena* L.): gains and provocations. *Plants* 9, 403.
- Kumar N, Goel N. 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports* 24, e00370.
- Kwon MC, Kim YX, Lee S, Jung E., Singh D, Sung J, Lee CH. 2019. Comparative Metabolomics Unravel the Effect of Magnesium Oversupply on Tomato Fruit Quality and Associated Plant Metabolism. *Metabolites* 910, 231.
- Le S, Josse J, Husson H. 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25, 1-18. <http://hdl.handle.net/10.18637/jss.v025.i01>
- Li J, Sun Q, Yu N, Zhu J, Zou X, Qi Z, Ghani MA, Chen L. 2014. The role of small RNAs on phenotypes in reciprocal hybrids between *Solanum lycopersicum* and *S. pimpinellifolium*. *BMC Plant Biology* 14, 296.
- Li JB, Luan YS, Liu Z. 2015. Overexpression of *SpWRKY1* promotes resistance to *Phytophthora nicotianae* and tolerance to salt and drought stress in transgenic tobacco. *Physiologia Plantarum* 155, 248-266.
- Li QF, Lu J, Yu JW, Zhang CQ, He JX, Liu QQ. 2018. The brassinosteroid-regulated transcription factors *BZR1/BES1* function as a coordinator in multisignal-regulated plant growth. *BBA - Gene Regulatory Mechanisms* 1861, 561–571.
- Li Z, Zhu A, Song Q, Chen HY, Harmon FG, Chen ZJ. 2020. Temporal regulation of the metabolome and proteome in photosynthetic and photorespiratory pathways contributes to maize heterosis. *The Plant Cell* 32, 3706–3722.
- Liao Y, Smyth GK, Shi W. 2014. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics* 30, 923–930.

- Liberatti D, Rodriguez G, Zorzoli R, Pratta GR. 2013. Tomato second cycle hybrids differ from parents at three levels of genetic variation. *International Journal of Plant Breeding* 7, 1–7. [http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/Sample/IJPB_7\(1\)1-6o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/Sample/IJPB_7(1)1-6o.pdf).
- Lippman ZB, Zamir D. 2007. Heterosis: revisiting the magic. *Trends in Genetics* 23, 60–66.
- Liu B, Hong Y-B, Zhang Y-F, Li X-H, Huang L, Zhang H-J, Li D-Y, Song F-M. 2014. Tomato *WRKY* transcriptional factor *SIDRW1* is required for disease resistance against *Botrytis cinerea* and tolerance to oxidative stress. *Plant Science* 227, 145–156.
- Liu D, Yang L, Zhang Jz, Zhu Gt, Lü Hj, Lü Yq, Wang Yl, Cao X, Sun Ts, Huang Sw, Wu Yy. 2020. Domestication and breeding changed tomato fruit transcriptome. *Journal of Integrative Agriculture* 19, 120–132.
- Liu J, Li M, Zhang Q, Wei X, Huang X. 2020. Exploring the molecular basis of heterosis for plant breeding. *Journal of Integrative Plant Biology* 62, 287–298.
- Liu P, Luo J, Zheng Q, Chen Q, Zhai N, Xu S, Xu Y, Jin L, Xu G, Lu X, Xu G, Wang G, Shao J, Xu HM, Cao P, Zhou H, Wang X. 2020. Integrating transcriptome and metabolome reveals molecular networks involved in genetic and environmental variation in tobacco. *DNA Research* 27, dsaa006.
- López MG, Zanol MI, Pratta GR, Stegmayer G, Boggio SB, Conte M, Bermúdez L, Coluccio Leskow C, Rodríguez GR, Picardi LA, Zorzoli R, Fernie AR, Milone D, Asís R, Valle EM, Carrari F. 2015. Metabolic analyses of interspecific tomato recombinant inbred lines for fruit quality improvement. *Metabolomics* 11, 1416–1431.
- Marchionni Basté EM, Liberatti DR, Mahuad SL, Rodriguez GR, Pratta GR, Zorzoli R, Picardi LA. 2010. Diallel analysis for fruit traits among tomato recombinant inbred lines derived from an interspecific cross *Solanum lycopersicum* × *S. pimpinellifolium*. *Journal of Applied Horticulture* 12, 21–25.
- Martina M, Yury T, Ezio P, Arnaud GB. 2021. The Genetic Basis of Tomato Aroma. *Genes* 12, 226.
- McCarthy DJ, Chen Y, Smyth GK. 2012. Differential expression analysis of multifactor RNA-Seq experiments with respect to biological variation. *Nucleic Acids Research* 40 10, 4288-4297.
- Meli VS, Ghosh S, Parva TN, Chakraborty S, Datta A. 2010. Enhancement of fruit shelf life by suppressing N-glycan processing enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 2413-2418.
- Meyer RC, Witucka-Wall H, Becher M, Blacha A, Boudichevskaia A, Dörmann P, Fiehn O, Friedel S, Von Korff M, Lisec J, Melzer M, Repsilber D, Schmidt R, Scholz M, Selbig J, Willmitzer L, Altmann T. 2012. Heterosis manifestation during early Arabidopsis seedling development is characterized by intermediate gene expression and enhanced metabolic activity in the hybrids. *The Plant Journal* 71, 669–683.

- Miller JC, Tanksley SD. 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics* 80, 437–448.
- Miller M, Zhang C, Chen ZJ. 2012. Ploidy and Hybridity Effects on Growth Vigor and Gene Expression in *Arabidopsis thaliana* Hybrids and Their Parents. *G3: Genes, Genomes, Genetics* 2, 505–513.
- Moner AM, Furtado A, Henry RJ. 2020. Two divergent chloroplast genome sequence clades captured in the domesticated rice gene pool may have significance for rice production. *BMC Plant Biology* 20, 472.
- Moreira C, Echandi MA, Méndez CR. 2003. Heterosis y habilidad combinatoria en líneas de tomate para mesa con adaptación a altas temperaturas. *Revista de Agricultura Tropical* 33, 51-58.
- Mukanga M, Derera J, Tongoona P. 2010. Gene action and reciprocal effects for ear rot resistance in crosses derived from five tropical maize populations. *Euphytica* 174, 293–301.
- Müller M, Munné-bosch S. 2015. Ethylene Response Factors: A key regulatory hub in hormone and stress signaling. *Plant Physiology* 169, 32–41.
- Muños S, Ranc N, Botton E, Bérard A, Rolland S, Duffé P, Carretero Y, Paslier MCL, Delalande C, Bouzayen M, Brunel D, Causse M. 2011. Increase in tomato locule number is controlled by two single-nucleotide polymorphisms located near *WUSCHEL*. *Plant Physiology* 156, 2244–2254.
- Nagata N. 2010. Mechanisms for independent cytoplasmic inheritance of mitochondria and plastids in angiosperms. *Journal of Plant Research* 123, 193–199
- Nanda AK, El Habeti A, Hocart CH, Masle J. 2019. ERECTA receptor kinases play a key role in the appropriate timing of seed germination under changing salinity. *Journal of Experimental Botany* 70, 6417–6435.
- Nie Y, Ji W, Ma S. 2019. Assessment of heterosis based on genetic distance estimated using SNP in common wheat. *Agronomy* 9, 66.
- Osorio S, Alba R, Damasceno CMB, Lopez-Casado G, Lohse M, Zanon MI, Tohge T, Usadel B, Rose JKC, Fei Z, Giovannoni JJ, Fernie AR. 2011. Systems biology of tomato fruit development: Combined transcript, protein, and metabolite analysis of tomato transcription factor (*nor*, *rin*) and ethylene receptor (*Nr*) mutants reveals novel regulatory interactions. *Plant Physiology* 157, 405–425.
- Panthee DR, Cao C, Debenport SJ, Rodríguez GR, Labate JA, Robertson LD, Breksa III AP, van der Knaap E, McSpadden Gardener BB. 2012. Magnitude of genotype × environment interactions affecting tomato fruit quality. *HORTSCIENCE* 47, 721–726.

- Panthee DR, Labate JA, McGrath MT, Breksa AP, Robertson LD. 2013. Genotype and environmental interaction for fruit quality traits in vintage tomato varieties. *Euphytica* 193, 169–182.
- Pereira da Costa JH, Rodríguez GR, Pratta GR, Picardi LA, Zorzoli R. 2013. QTL detection for fruit shelf life and quality traits across segregating populations of tomato. *Scientia Horticulturae* 156, 47-53.
- Pereira da Costa JH, Rodríguez GR, Picardia LA, Zorzoli R, Pratta GR. 2018. Genome-wide expression analysis at three fruit ripening stages for tomato genotypes differing in fruit shelf life. *Scientia Horticulturae* 229, 125-131.
- Pereira da Costa JH, Cambiaso V, Picardi LA, Pratta GR, Rodríguez GR. 2021. Mejoramiento de la calidad del fruto por la incorporación de genes de especies silvestres en el tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Basic and Applied Genetics* 32, 41-50.
- Pott DM, Durán-Soria S, Osorio S, Vallarino JG. 2021. Combining metabolomic and transcriptomic approaches to assess and improve crop quality traits. *CABI Agriculture and Bioscience* 2, 1.
- Pratta GR, Zorzoli R, Picardi LA. 1996. Evaluación de caracteres de interés agronómico en especies del género *Lycopersicon*. *Horticultura Argentina* 15, 25-32
- Quinet M, Angosto T, Yuste-Lisbona FJ, Blanchard-Gros R, Bigot S, Martinez JP, Lutts S. 2019. Tomato fruit development and metabolism. *Frontiers in Plant Science* 10, 1554.
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Rajcan I, Kasha KJ, Kott LS, Beversdorf WD. 2002. Evaluation of cytoplasmic effects on agronomic and seed quality traits in two doubled haploid populations of *Brassica napus* L. *Euphytica* 123, 401–409.
- Rambla JL, Medina A, Fernández-Del-Carmen A, Barrantes W, Grandillo S, Cammareri M, López-Casado G, Rodrigo G, Alonso A, García-Martínez S, Primo J, Ruiz JJ, Fernández-Muñoz R, Monforte AJ, Granell A. 2017. Identification, introgression, and validation of fruit volatile QTLs from a red-fruited wild tomato species. *Journal of Experimental Botany* 68, 429–442.
- Rando OJ. 2012. Daddy issues: paternal effects on phenotype. *Cell* 151, 702–708.
- Rick CM y Chetelat RT. 1995. Utilization of related wild species for tomato improvement. *Acta Horticulturae* 412, 21-38.
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. 2010. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 26, 139-140.
- Rodrigues JA, Zilberman D. 2015. Evolution and function of genomic imprinting in plants. *Genes & Development* 29, 2517–2531.

- Rodríguez GR, Pratta GR, Zorzoli R, Picardi LA. 2006a. Recombinant lines obtained from an interspecific cross between *Lycopersicon* species selected by fruit weight and fruit shelf life. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 131, 651–656.
- Rodríguez GR, Pratta GR, Zorzoli R, Picardi LA. 2006b. Evaluación de caracteres de planta y fruto en líneas recombinantes autofecundadas de tomate obtenidas por cruzamiento entre *Lycopersicon esculentum* y *L. pimpinellifolium*. *Ciencia e Investigación Agraria* 33, 133–141.
- Rodríguez GR, Pratta GR, Liberatti DR, Zorzoli R, Picardi LA. 2010. Inheritance of shelf life and other quality traits of tomato fruit estimated from F₁'s, F₂'s and backcross generations derived from standard cultivar, *nor* homozygote and wild cherry tomato. *Euphytica* 176, 137–147
- Rodríguez GR, Muñoz S, Anderson C, Sim SC, Michel A, Causse M, McSpadden Gardener BB, Francis D, van der Knaap E. 2011. Distribution of *SUN*, *OVATE*, *LC*, and *FAS* in the tomato germplasm and the relationship to fruit shape diversity. *Plant Physiology* 156, 275–285.
- Rodríguez GR, Pereira da Costa JH, Pratta GR, Zorzoli R, Picardi LA. 2013. Recursos Genéticos y Genómicos para Mejorar la Calidad del Fruto en Tomate. *Agromensajes* 35, 30-34.
- Samaniego I, Espin S, Cuesta X, Arias V, Rubio A, Llerena W, Angós I, Carrillo W. 2020. Analysis of environmental conditions effect in the phytochemical composition of potato (*Solanum tuberosum*) cultivars. *Plants* 9, 815.
- Sambrook J, Fritsch E, y Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sánchez Aspeytia D, Borrego Escalante F, Zamora Villa VM, Murillo Soto MM, Benavides Mendoza A, Robledo Torres V. 2010. Efectos genéticos y heterosis de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en campo e invernadero para rendimiento y calidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1, 455-467.
- Sanetomo R, Hosaka K. 2011. Reciprocal differences in DNA sequence and methylation status of the pollen DNA between F₁ hybrids of *Solanum tuberosum* × *S. demissum*. *Euphytica* 182, 219–229.
- Santamaria P, Signore A. 2021. How has the consistency of the common catalogue of varieties of vegetable species changed in the last ten years? *Scientia Horticulturae* 277, 109805.
- Santure AW, Spencer HG. 2006. Influence of mom and dad: quantitative genetic models for maternal effects and genomic imprinting. *Genetics* 173, 2297–2316.
- Sato S, Tabata S, Hirakawa H. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485, 635-641.
- Satyaki PR, Gehring M. 2017. DNA methylation and imprinting in plants: machinery and mechanisms. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 52, 163–175.

- Sauvage C, Segura V, Bauchet G, Stevens R, Do PT, Nikoloski Z, Fernie AR, Causse M. 2014. Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. *Plant Physiology* 165, 1120–1132.
- Schauer N, Zamir D, Fernie AR. 2005. Metabolic profiling of leaves and fruit of wild species tomato: a survey of the *Solanum lycopersicum* complex. *Journal of Experimental Botany* 56, 297–307.
- Schauer N, Semel Y, Balbo I, Steinfath M, Repsilber D, Selbig J, Pleban T, Zamir D, Fernie AR. 2008. Mode of inheritance of primary metabolic traits in tomato. *The Plant Cell* 20, 509–523.
- Segers K, Declerck S, Mangelings D, Heyden YV, Eeckhaut AV. 2019. Analytical techniques for metabolomic studies: a review. *Bioanalysis* 11, 2297–2318.
- Semel Y, Nissenbaum J, Menda N, Zinder M, Krieger U, Issman N, Pleban T, Lippman Z, Gur A, Zamir D. 2006. Overdominant quantitative trait loci for yield and fitness in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 103, 12981–12986.
- Shamsuddin AKM. 1985. Genetic diversity in relation to heterosis and combining ability in spring wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 70, 306–308.
- Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, Amin N, Schwikowski B, Ideker T. 2003. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research* 13, 2498–2504.
- Shapiro SS, Wilk MB. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52, 591–611.
- Shoaie Baker, Susana, y Matías García. 2021. Jóvenes De Familias Migrantes Y Transición Agroecológica En El Cinturón Hortícola De La Plata, Argentina. *Eutopía. Revista De Desarrollo Económico Territorial* 19 (junio), 97–118.
- Sim SC, Durstewitz G, Plieske J, Wieseke R, Ganai MW, Van Deynze A, Hamilton JP, Buell CR, Causse M, Wijeratne S, Francis DM. 2012. Development of a large SNP genotyping array and generation of high-density genetic maps in tomato. *PLoS ONE* 7, e40563.
- Simkin AJ, Schwartz SH, Auldridge M, Taylor MG, Klee HJ. 2004. The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles β -ionone, pseudoionone, and geranylacetone. *The Plant Journal* 40, 882–892.
- Singh S, Gupta SK. 2019. Formation of heterotic pools and understanding relationship between molecular divergence and heterosis in pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.]. *PLoS One* 14, e0207463.
- Smith DL, Abbott JA, Gross KC. 2002. Down-regulation of tomato beta-galactosidase 4 results in decreased fruit softening. *Plant Physiology* 129, 1755–1762.

- Smith SM, Scott JW, Bartz JA, Sargent SA. 2008. Diallel Analysis of Fruit Water Absorption in Tomato, a Contributing Factor in Postharvest Decays. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133, 55–60.
- Solieman THI, El-Gabry MAH, Abido AI. 2013. Heterosis, potence ratio and correlation of some important characters in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Scientia Horticulturae* 150, 25–30.
- Soyk S, Benoit M, Lippman ZB. 2020. New horizons for dissecting epistasis in crop quantitative trait variation. *Annual Review of Genetics* 54, 287–307.
- Springer NM, Stupar RM. 2007. Allelic variation and heterosis in maize: how do two halves make more than a whole? *Genome Research* 17, 264–275.
- Stöltig KN, Gort G, Wüst C, Wilson AB. 2009. Eukaryotic transcriptomics in silico: Optimizing cDNA-AFLP efficiency. *BMC Genomics* 10, 565.
- Swanson-Wagner RA, Jia Y, DeCook R, Borsuk LA, Nettleton D, Schnable PS. 2006. All possible modes of gene action are observed in a global comparison of gene expression in a maize F₁ hybrid and its inbred parents. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 103, 6805-6810.
- The Tomato Genome Consortium. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485, 635–641.
- Tian Tian, Yue Liu, Hengyu Yan, Qi You, Xin Yi, Zhou Du, Wenying Xu, Zhen Su. 2017. agriGO v2.0: a GO analysis toolkit for the agricultural community. *Nucleic Acids Research* gkx382.
- Tieman D, Bliss P, McIntyre LM, Blandon-Ubeda A, Bies D, Odabasi AZ, Rodríguez GR, van Der Knaap E, Taylor MG, Goulet C, Mageroy MH, Snyder DJ, Colquhoun T, Moskowitz H, Clark DG, Sims C, Bartoshuk L, Klee HJ. 2012. The chemical interactions underlying tomato flavor preferences. *Current Biology* 22, 1035–1039.
- Tieman D, Zhu G, Resende MF Jr, Lin T, Nguyen C, Bies D, Rambla JJ, Beltran KSO, Taylor M, Zhang B, Ikeda H, Liu Z, Fisher J, Zemach I, Monforte A, Zamir D, Granell A, Kirst M, Huang A, Klee H. 2017. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor. *Science* 355, 391–394.
- Tieman DM, Zeigler M, Schmelz EA, Taylor MG, Bliss P, Kirst M, Klee HJ. 2006. Identification of loci affecting flavour volatile emissions in tomato fruits. *Journal of experimental botany* 57, 887–896.
- Tikunov YM, Roohanitaziani R, Meijer-Dekens F, Molthoff J, Paulo J, Finkers R, Capel I, Carvajal Moreno F, Maliepaard C, Nijenhuis-de Vries M, Labrie CW, Verkerke W, van Heusden AW, van Eeuwijk F, Visser RGF, Bovy AG. 2020. The genetic and functional analysis of flavor in commercial tomato: the *FLORAL4* gene underlies a QTL for floral aroma volatiles in tomato fruit. *The Plant Journal* 103, 1189–1204.

- Vogel JT, Tieman DM, Sims CA, Odabasi AZ, Clark DG, Klee HJ. 2010. Carotenoid content impacts flavor acceptability in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 2233-2240.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee TVD, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M, Keygene NV, Box PO. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Vriezen WH, Feron R, Maretto F, Keijman J, Mariani C. 2008. Changes in tomato ovary transcriptome demonstrate complex hormonal regulation of fruit set. *The New phytologist* 177, 60–76.
- Vuylsteke M, Peleman JD, van Eijk MJ. 2007. AFLP-based transcript profiling (cDNA-AFLP) for genome-wide expression analysis. *Nature Protocols* 2, 1399–1413.
- Wang D, Yeats TH, Uluisik S, Rose JKC, Seymour GB. 2018. Fruit softening: revisiting the role of pectin. *Trends in Plant Science* 23, 302–310.
- Wang D, Samsulrizal NH, Yan C, Allcock NS, Craigon J, Blanco-Ulate B, Ortega-Salazar I, Marcus SE, Bagheri HM, Perez-Fons L, Fraser PD, Foster T, Fray R, Paul Knox J, Seymour GB. 2019. Characterization of CRISPR mutants targeting genes modulating pectin degradation in ripening tomato. *Plant Physiology* 179, 544–557.
- Wang H, Paulo J, Kruijer W, Boer M, Jansen H, Tikunov Y, Usadel B, van Heusden S, Bovy A, van Eeuwijk F. 2015. Genotype–phenotype modeling considering intermediate level of biological variation: a case study involving sensory traits, metabolites and QTLs in ripe tomatoes. *Molecular BioSystems* 11, 3101–3110.
- Wang X, Gao L, Jiao C, Stravoravdis S, Hosmani PS, Saha S, Zhang J, Mainiero S, Strickler SR, Catala C, Martin GB, Mueller LA, Vrebalov J, Giovannoni JJ, Wu S, Fei Z. 2020. Genome of *Solanum pimpinellifolium* provides insights into structural variants during tomato breeding. *Nature Communications* 11, 5817.
- Warnes GR, Bolker B, Bonebakker L, Gentleman R, Liaw WHA, Lumley T, Maechler M, Magnusson A, Moeller S, Schwartz M, Venables B. 2020. gplots: Various R Programming Tools for Plotting Data. R package version 3.1.1. URL <https://CRAN.R-project.org/package=gplots>
- Wehner TC. 1999. Heterosis in vegetable crops. In: Coors JG, Pandey S, eds. The genetics and exploitation of heterosis in crops. Madison, WI: American Society of Agronomy, Inc. and Crop Science Society of America Inc., 387–397.
- Wolf JB, Wade MJ. 2016. Evolutionary genetics of maternal effects. *Evolution* 70, 827–839.
- Wu CL, Satomi Y, Walsh K. 2017. RNA-seq and metabolomic analyses of *Akt1*-mediated muscle growth reveals regulation of regenerative pathways and changes in the muscle secretome. *BMC Genomics* 18, 181.

- Xi W, Zheng H, Zhang Q, Li W. 2016. Profiling taste and aroma compound metabolism during apricot fruit development and ripening. *International Journal of Molecular Sciences* 17, 998.
- Xi ZM, Zhang ZW, Huo SS, Luan LY, Gao X, Ma LN, Fang YL. 2013. Regulating the secondary metabolism in grape berry using exogenous 24-epibrassinolide for enhanced phenolics content and antioxidant capacity. *Food Chemistry* 141, 3056-3065.
- Yaseen M. 2016. DiallelAnalysisR: diallel analysis with R. R package version 0.1.1. <https://CRAN.R-project.org/package=DiallelAnalysisR>
- Ye J, Hu T, Yang C, Li H, Yang M, Ijaz R, Ye Z, Zhang Y. 2015. Transcriptome profiling of tomato fruit development reveals transcription factors associated with ascorbic acid, carotenoid and flavonoid biosynthesis. *PLoS ONE* 10, e0130885.
- Ye J, Li W, Ai G, Li C, Liu G, Chen W, Wang B, Wang W, Lu Y, Zhang J, Li H, Ouyang B, Zhang H, Fei Z, Giovannoni JJ, Ye Z, Zhang Y. 2019. Genome-wide association analysis identifies a natural variation in basic helix-loop-helix transcription factor regulating ascorbate biosynthesis via D-mannose/L-galactose pathway in tomato. *PloS Genetics* 14, e1008149.
- Zanor MI, Rambla JL, Chaïb J, Steppa A, Medina A, Granell A, Fernie AR, Causse M. 2009. Metabolic characterization of loci affecting sensory attributes in tomato allows an assessment of the influence of the levels of primary metabolites and volatile organic contents. *Journal of Experimental Botany* 60, 2139–2154
- Zhang J, Li G, Li H, Pu X, Jiang J, Chai L, Zheng B, Cui C, Yang Z, Zhu Y, Jiang L. 2015. Transcriptome analysis of interspecific hybrid between *Brassica napus* and *B. rapa* reveals heterosis for oil rape improvement. *International Journal of Genomics* 2015, 230985.
- Zhang L, Zhu M, Ren L, Li A, Chen G, Hu Z. 2018. The *SIFSR* gene controls fruit shelf-life in tomato. *Journal of Experimental Botany* 69, 2897–2909.
- Zhang Q, Liu Y, Sodmergen. 2003. Examination of the cytoplasmic DNA in male reproductive cells to determine the potential for cytoplasmic inheritance in 295 angiosperm species. *Plant & Cell Physiology* 44, 941–951.
- Zhang S, Yu H, Wang K, Zheng Z, Liu L, Xu M, Jiao Z, Li R, Liu X, Li J, Cui X. 2018. Detection of major loci associated with the variation of 18 important agronomic traits between *Solanum pimpinellifolium* and cultivated tomatoes. *The Plant Journal* 95, 312–323.
- Zhang Y, Gao Sy, Liu Hh, et al. 2020. cDNA-AFLP analysis of differentially expressed genes during microspore embryogenesis in non-heading Chinese cabbage. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 56, 18–28.
- Zhao F, Xu S. 2012. Genotype by environment interaction of quantitative traits: a case study in barley. *G3: Genes, Genomes, Genetics* 2, 779–788.

- Zhu G, Wang S, Huang Z, Zhang S, Liao Q, Zhang C, Lin T, Qin M, Peng M, Yang C, Cao X, Han X, Wang X, van der Knaap E, Zhang Z, Cui X, Klee H, Fernie AR, Luo J, Huang S. 2018. Rewiring of the Fruit Metabolome in Tomato Breeding. *Cell* 172, 249–261.e12.
- Zorzoli R, Pratta GR, Picardi LA. 2000. Variabilidad genética para la vida postcosecha y el peso de los frutos en tomate para familias F₃ de un híbrido interespecífico. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 35, 2423-2427.
- Zou J, Chen J, Tang N, Gao Y, Hong M, Wei W, Cao H, Jian W, Li N, Deng W, Li Z 2018. Transcriptome analysis of aroma volatile metabolism change in tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit under different storage temperatures and 1- MCP treatment. *Postharvest Biology and Technology* 135, 57–67.

ANEXOS

Anexo 1. Valores medios \pm error estándar de los caracteres agronómicos y metabolitos medidos en frutos de los genotipos parentales, a campo e invernadero. Los valores de *F-stat* representan la estadística de la variabilidad entre los genotipos en ambos ambientes. El material vegetal incluyó: Gema FCA (G), Querubín FCA (Q), RIL17, Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ). Diámetro de fruto (D, en cm), altura de fruto (H, en cm), forma de fruto (FS, D/H), peso de fruto (FW, en g), firmeza (F), vida poscosecha (SL, en días), índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*), número de lóculos (LN), sólidos solubles (SS, en °Brix), acidez titulable (TA), ácido γ -aminobutírico (GABA), α -cetoglutarato (α -KG). Los amino ácidos están representados por el código de tres letras. Los metabolitos están expresados en $\mu\text{mol/g}$ de peso fresco.

	INVERNADERO					F-stat	CAMPO					F-stat
	Q	RIL17	G	PP	GZ		Q	RIL17	G	PP	GZ	
D	2,89±0,18	3,42±0,32	2,88±0,14	5,05±0,22	4,90±0,14	13,81***	3,59±0,16	3,75±0,15	2,77±0,09	5,39±0,37	5,84±0,12	40,91***
H	2,55±0,13	3,02±0,25	3,14±0,10	5,09±0,24	4,23±0,10	19,60***	3,20±0,09	3,10±0,13	3,19±0,06	5,37±0,28	5,26±0,11	59,09***
FS	0,88±0,02	0,90±0,03	1,11±0,01	1,02±0,01	0,87±0,02	13,81**	0,90±0,02	0,84±0,02	1,16±0,03	1,02±0,02	0,91±0,01	32,72***
FW	13,34±2,09	23,01±4,60	15,53±1,65	74,37±9,21	61,00±5,78	21,61***	24,56±2,61	24,31±2,21	14,50±1,01	85,02±14,20	102,74±4,12	21,83***
F	67,62±1,84	82,46±1,65	66,48±5,30	56,29±1,95	53,74±2,32	23,91***	62,52±2,71	73,27±1,94	64,17±2,87	55,98±3,13	49,96±1,74	11,03***
SL	20,24±1,62	105,03±12,96	25,25±5,65	7,23±1,39	11,2±1,24	22,67***	26,92±3,12	42,50±8,33	27,43±3,37	8,95±1,78	13,18±2,31	7,14***
a*/b*	1,17±0,01	-0,31±0,04	1,27±0,02	0,64±0,08	-0,14±0,02	319,78***	1,01±0,03	-0,23±0,04	1,10±0,03	0,75±0,07	-0,08±0,04	214,94***
L*	37,54±0,49	59,82±2,17	36,84±0,40	37,45±0,77	44,21±1,41	35,67***	39,17±0,65	57,44±1,49	38,98±0,49	42,74±0,53	55,03±0,92	90,34***
LN	3,60±0,00	3,63±0,38	2,81±0,19	5,48±0,37	3,33±0,00	14,32***	4,33±0,00	3,33±0,00	2,67±0,34	5,50±0,17	4,67±1,15	ns
SS	7,60±0,00	5,40±0,40	5,68±0,48	6,20±0,66	6,10±0,10	ns	5,20±0,00	4,70±0,10	3,30±0,30	5,00±0,20	4,8±0,22	7,56*
pH	4,85±0,28	4,64±0,05	4,99±0,17	4,36±0,06	4,27±0,07	4,57*	4,43±0,00	4,57±0,04	5,44±0,23	4,82±0,20	4,26±0,12	8,23*
TA	0,40±0,05	0,37±0,08	0,29±0,04	0,40±0,04	0,59±0,06	ns	0,55±0,00	0,36±0,04	0,15±0,04	0,19±0,00	0,46±0,04	7,36*
Fructosa	169,13±12,63	155,49±8,93	186,72±15,35	154,63±18,84	160,23±24,05	ns	203,36±14,29	173,90±8,03	233,19±30,82	151,45±5,67	175,28±17,12	ns
Glucosa	222,82±18,09	192,96±6,98	270,43±26,49	205,29±19,06	244,13±43,57	ns	263,59±21,22	223,80±6,95	276,19±49,61	182,77±17,57	216,6±25,85	ns
Sacarosa	12,09±2,35	0,35±0,09	0,06±0,04	0,14±0,06	0,59±0,31	10,10*	3,49±2,02	0,71±0,28	0,12±0,03	0,61±0,32	2,87±1,12	ns
Galactosa	5,60±0,65	0,92±0,16	12,48±1,35	4,01±0,40	12,62±1,42	30,63***	7,44±0,77	7,79±1,17	6,85±1,46	7,37±1,84	10,62±0,19	ns
Xilosa	0,40±0,18	0,45±0,14	0,59±0,08	0,55±0,01	0,47±0,10	ns	0,56±0,04	0,50±0,03	0,66±0,10	0,40±0,12	0,74±0,04	ns
Manosa	2,41±0,14	1,99±0,08	2,98±0,45	2,94±0,11	4,42±1,00	ns	1,95±0,28	2,11±0,13	2,27±0,28	2,16±0,39	3,71±0,26	6,63**
GABA	12,29±3,13	7,56±1,09	9,79±0,48	7,43±0,76	7,34±1,38	ns	9,62±1,37	7,37±0,38	10,54±2,02	3,39±1,40	3,55±0,51	6,67**
Ala	2,67±1,34	0,43±0,05	0,82±0,01	3,02±1,07	0,81±0,11	ns	6,76±4,00	0,84±0,11	3,82±1,23	1,03±0,06	1,25±0,35	11,37*
Asn	5,18±1,08	7,57±1,15	2,93±0,42	4,81±0,39	9,48±0,65	10,06**	5,87±1,57	13,21±1,30	6,47±2,92	2,36±0,59	4,16±0,96	6,10**
Asp	8,16±1,33	3,29±0,38	5,61±0,18	7,50±0,57	19,54±1,91	33,41***	7,57±1,25	3,15±0,37	6,40±0,58	4,48±0,35	8,46±0,31	10,56**
Glu	11,89±2,63	3,15±0,54	9,89±0,26	9,89±0,52	27,48±3,31	21,98***	11,3±1,50	3,16±0,30	8,58±1,13	3,94±1,04	8,12±1,06	9,96**
Gln	4,33±0,65	9,11±1,12	1,26±0,07	3,88±0,19	5,54±0,74	18,20***	4,44±1,41	10,71±2,46	2,58±1,38	1,45±0,69	3,33±0,48	6,23**
Ile	0,58±0,13	0,83±0,12	0,52±0,05	0,61±0,10	0,87±0,14	ns	0,89±0,21	1,03±0,07	0,64±0,09	0,26±0,13	0,53±0,01	6,16**
Phe	1,11±0,22	1,32±0,13	1,10±0,06	1,48±0,11	2,02±0,25	4,95*	1,18±0,21	1,47±0,15	1,36±0,07	0,71±0,29	1,09±0,15	ns
Thr	1,26±0,23	2,42±0,29	0,94±0,07	1,33±0,12	1,96±0,28	7,54**	1,89±0,37	3,08±0,22	1,71±0,37	0,64±0,25	0,98±0,22	10,26**

Trp	0,15±0,02	0,17±0,01	0,10±0,00	0,25±0,04	0,41±0,05	15,08***	0,26±0,05	0,33±0,01	0,28±0,05	0,19±0,04	0,36±0,01	ns
Val	0,52±0,14	0,61±0,06	0,34±0,04	0,42±0,11	0,16±0,03	4,00*	0,85±0,27	1,02±0,17	0,58±0,16	0,15±0,03	0,27±0,05	5,08*
Tyr	1,97±0,56	3,52±0,50	0,73±0,04	2,00±0,17	3,45±0,40	9,05**	2,77±0,72	5,97±1,37	2,94±1,38	1,42±0,63	3,08±0,72	ns
Citrato	50,09±7,35	51,85±2,61	32,21±2,79	31,35±2,91	64,06±1,14	12,46***	43,37±11,43	42,86±5,97	30,03±3,79	25,14±2,81	48,76±3,09	ns
Malato	6,49±1,71	24,13±1,78	2,36±0,26	2,34±0,25	6,13±0,30	65,33***	7,27±2,17	18,51±1,02	6,82±0,68	4,57±0,68	8,04±1,79	15,02***
Succinato	0,85±0,26	2,76±0,21	0,51±0,02	0,40±0,03	0,70±0,06	41,53***	0,91±0,35	2,30±0,41	0,78±0,15	0,60±0,06	1,11±0,08	6,99**
Piruvato	2,54±0,73	6,44±0,42	2,21±0,07	0,92±0,19	3,02±0,06	28,32***	2,45±0,62	5,46±0,51	2,06±0,14	1,42±0,09	3,00±0,78	9,48**
Fumarato	0,69±0,38	0,26±0,04	0,30±0,01	0,16±0,04	0,12±0,01	10,07*	0,58±0,39	0,50±0,21	0,64±0,25	0,33±0,19	0,13±0,04	ns
α-KG	10,02±2,59	5,54±0,82	7,76±0,83	5,97±0,74	4,66±1,04	ns	6,83±1,19	4,24±0,18	7,35±1,55	2,23±0,86	2,18±0,15	6,52**
tCA	0,43±0,03	0,31±0,03	0,09±0,01	0,23±0,07	3,08±1,98	12,90*	0,87±0,11	0,67±0,06	0,37±0,17	0,40±0,04	3,98±1,42	11,03*
Methanol	10,09±0,51	10,49±1,10	7,04±0,50	9,09±1,12	15,36±1,97	6,87**	7,45±1,32	9,44±1,38	7,31±0,16	6,28±0,52	6,47±0,28	ns
Unk 1	2,97±0,78	1,88±0,33	2,61±0,31	0,51±0,09	1,90±0,16	5,27*	3,72±0,24	3,11±0,32	2,81±0,53	0,48±0,09	1,47±0,11	18,61***
Unk 2	0,09±0,01	0,06±0,01	0,05±0,01	0,03±0,00	0,05±0,01	10,90*	0,05±0,00	0,05±0,01	0,04±0,01	0,05±0,00	0,05±0,01	ns

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05; ns: p>0,05.

Anexo 2. Contribución relativa de cada variable medida en frutos de tomate a cada componente principal (PC). El material vegetal incluyó Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ) en dos ambientes de cultivo (invernadero y campo). Índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*), contenido de sólidos solubles (SS). Metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2)

Carácter	PC1	PC2	Carácter	PC1	PC2
Diámetro	-0,52	0,80	Triptófano	0,08	0,71
Altura	-0,72	0,60	Valina	0,77	-0,31
Forma	-0,53	-0,58	Metanol	0,39	0,47
Peso	-0,63	0,71	Unk1	0,59	-0,48
Firmeza	0,82	-0,39	Unk 2	0,22	-0,20
Vida poscosecha	0,77	-0,06			
a^*/b^*	-0,46	-0,85			
L^*	0,58	0,57			
Nº lóculos	-0,53	0,37			
SS	-0,05	0,07			
pH	-0,01	-0,82			
Acidez titulable	0,23	0,64			
Fructosa	0,07	-0,60			
Glucosa	0,04	-0,48			
Galactosa	-0,38	0,19			
Xilosa	-0,24	0,01			
Manosa	-0,38	0,62			
Sacarosa	0,07	-0,27			
Citrato	0,48	0,55			
Malato	0,87	0,22			
Succinato	0,86	0,22			
Piruvato	0,88	0,27			
Fumarato	0,35	-0,76			
α-cetoglutarato	0,21	-0,74			
Ácido <i>trans</i>-cinámico	-0,17	0,75			
Ácido γ-aminobutírico	0,35	-0,72			
Alanina	-0,06	-0,45			
Asparagina	0,81	0,33			
Aspartato	-0,22	0,48			
Glutamato	-0,18	0,31			
Glutamina	0,90	0,36			
Isoleucina	0,83	0,23			
Tirosina	0,76	0,43			
Fenilalanina	0,38	0,44			
Treonina	0,92	0,18			

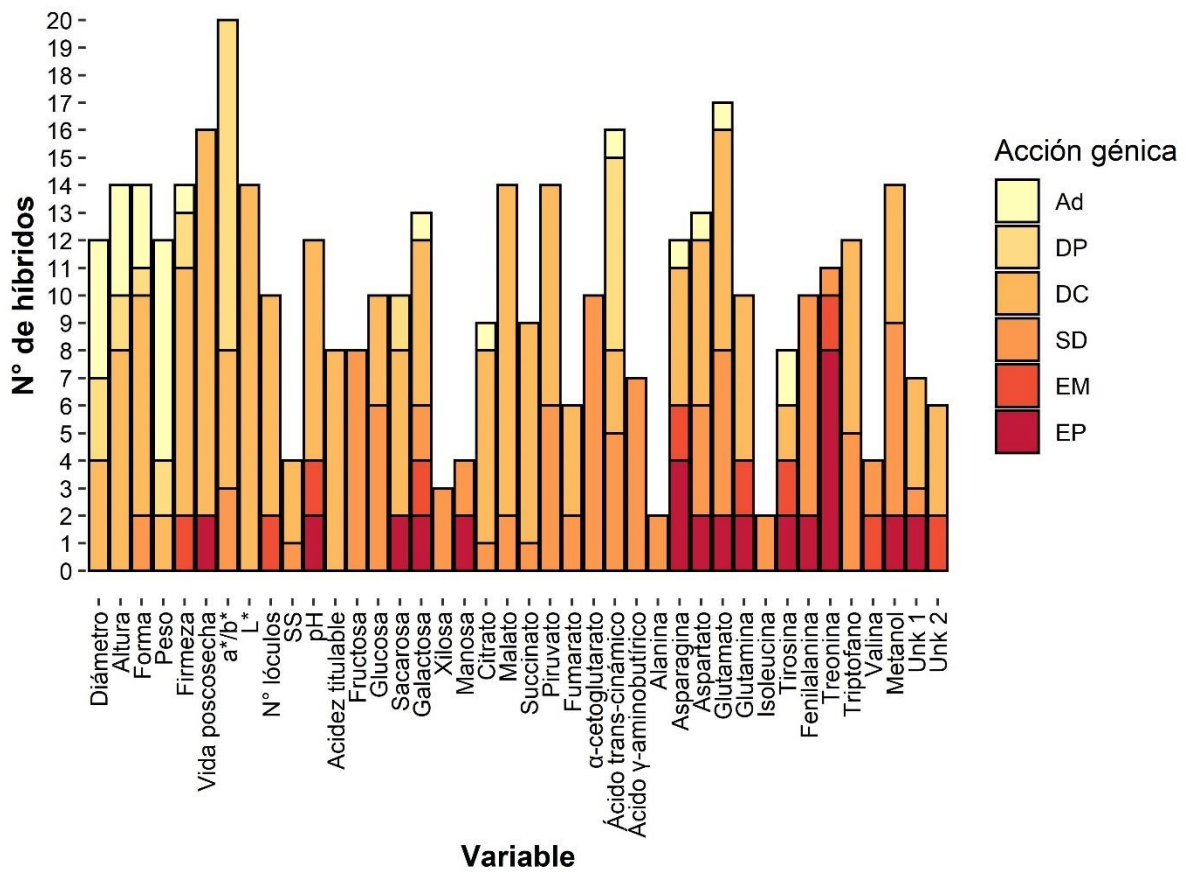
Anexo 3. Contribución relativa de cada variable medida en frutos de tomate a cada componente principal (PC). El material vegetal incluyó Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), RIL17, Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ), y los 20 híbridos resultantes de su cruzamiento. Contenido de sólidos solubles (SS), índice de absorbancia (a*/b*), porcentaje de reflectancia (L*). Metabolito desconocido 1 (Unk1), metabolito desconocido 2 (Unk2).

Carácter	PC1	PC2	Carácter	PC1	PC2
Diámetro	-0,41	-0,70	Fenilalanina	0,77	-0,42
Altura	-0,55	-0,67	Treonina	0,80	-0,11
Forma	-0,45	-0,01	Triptófano	0,47	-0,67
Peso	-0,45	-0,67	Valina	0,81	0,09
Firmeza	0,28	0,88	Metanol	0,85	-0,09
Vida poscosecha	0,18	0,74	Unk 1	0,64	0,28
a*/b*	0,17	-0,12	Unk 2	0,61	0,38
L*	-0,07	0,55			
N° lóculos	0,12	-0,06			
SS	0,26	0,41			
pH	0,20	0,36			
Acidez titulable	-0,15	-0,09			
Fructosa	0,67	0,06			
Glucosa	0,72	-0,04			
Sacarosa	0,04	0,29			
Galactosa	0,13	-0,38			
Xilosa	0,54	-0,10			
Manosa	0,27	-0,60			
Citrato	0,41	0,17			
Malato	0,01	0,75			
Succinato	-0,01	0,76			
Piruvato	0,16	0,73			
Fumarato	0,57	0,39			
α-cetoglutarato	0,79	-0,07			
Ácido <i>trans</i>-cinámico	0,10	-0,34			
Ácido γ-aminobutírico	0,83	-0,09			
Alanina	0,46	-0,25			
Asparagina	0,81	-0,05			
Aspartato	0,61	-0,59			
Glutamato	0,70	-0,58			
Glutamina	0,76	0,07			
Isoleucina	0,85	-0,14			
Tirosina	0,71	-0,21			

Anexo 4. Híbridos de tomate con el mayor y menor valor medio y aptitud combinatoria específica (SCA) para cada variable de fruto medida. Híbridos con la mayor media (HM), híbridos con la mayor SCA (H-SCA), híbridos con la menor media (LM), híbrido con la menor SCA (L-SCA). El material vegetal incluyó los 20 híbridos obtenidos siguiendo un diseño de cruzamientos dialélico completo en invernadero entre: Querubín FCA (Q), RIL17, Gema FCA (G), Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ). Las celdas resaltadas muestran aquellos casos en donde hubo coincidencia entre LM y H-SCA o entre HM y H-SCA Índice de absorbancia (a^*/b^*), porcentaje de reflectancia (L^*), contenido de sólidos solubles (SS), metabolito desconocido 1 (Unk1) y 2 (Unk2)

Carácter	LM	L-SCA	HM	H-SCA
Diámetro	Q x G	PP x Q	GZ x PP	PP x GZ
Altura	Q x G	PP x Q	GZ x PP	PP x GZ
Forma	Q x RIL17	Q x RIL17	PP x G	GZ x G
Peso	Q x G	G x PP	GZ x PP	PP x GZ
Firmeza	PP x GZ	RIL17 x G	Q x G	Q x G
Vida poscosecha	PP x GZ	RIL17 x PP	RIL17 x GZ	GZ x RIL17
a^*/b^*	GZ x PP	GZ x G	G x Q	RIL17 x GZ
L^*	PP x RIL17	RIL17 x PP	RIL17 x GZ	Q x PP
N° lóculos	G x GZ	PP x GZ	RIL17 x Q	PP x RIL17
SS	PP x GZ	Q x GZ	G x Q	RIL17 x G
pH	Q x GZ	G x Q	RIL17 x G	RIL17 x GZ
Acidez titulable	RIL17 x G	RIL17 x GZ	Q x GZ	GZ x RIL17
Fructosa	Q x GZ	PP x RIL17	Q x G	Q x G
Glucosa	Q x GZ	PP x RIL17	Q x G	Q x G
Sacarosa	RIL17 x G	Q x GZ	Q x PP	PP x GZ
Galactosa	RIL17 x PP	Q x GZ	G x GZ	PP x Q
Xilosa	GZ x PP	G x RIL17	G x GZ	GZ x G
Manosa	PP x RIL17	Q x GZ	RIL17 x GZ	GZ x RIL17
Citrato	GZ x RIL17	Q x RIL17	Q x G	GZ x RIL17
Malato	GZ x G	Q x RIL17	Q x G	Q x G
Succinato	GZ x RIL17	RIL17 x G	Q x G	Q x G
Piruvato	RIL17 x PP	RIL17 x G	Q x G	G x Q
Fumarato	Q x GZ	Q x GZ	RIL17 x Q	G x PP
α-cetoglutarato	PP x RIL17	PP x G	Q x PP	Q x PP
Ácido <i>trans</i>-cinámico	PP x RIL17	Q x GZ	Q x PP	Q x PP
Ácido γ-aminobutírico	PP x RIL17	PP x G	Q x PP	Q x PP
Alanina	RIL17 x G	RIL17 x Q	RIL17 x Q	Q x RIL17
Asparagina	PP x RIL17	RIL17 x Q	RIL17 x Q	Q x RIL17

Aspartato	RIL17 x G	Q x GZ	RIL17 x GZ	Q x RIL17
Glutamato	RIL17 x G	Q x GZ	RIL17 x GZ	GZ x RIL17
Glutamina	PP x RIL17	RIL17 x Q	RIL17 x Q	Q x RIL17
Isoleucina	G x Q	RIL17 x Q	RIL17 x Q	Q x RIL17
Tirosina	PP x RIL17	RIL17 x Q	RIL17 x Q	Q x RIL17
Fenilalanina	GZ x G	RIL17 x Q	RIL17 x GZ	GZ x RIL17
Treonina	GZ x PP	RIL17 x Q	RIL17 x Q	GZ x RIL17
Triptófano	PP x RIL17	PP x G	RIL17 x GZ	Q x RIL17
Valina	PP x RIL17	RIL17 x Q	RIL17 x Q	Q x RIL17
Metanol	GZ x G	Q x GZ	RIL17 x GZ	GZ x RIL17
Unk 1	GZ x PP	RIL17 x G	Q x G	G x Q
Unk 2	GZ x RIL17	RIL17 x G	Q x RIL17	GZ x RIL17



Anexo 5. Número (Nº) de híbridos que mostraron casos significativos de cada tipo de acción génica: aditividad (Ad), dominancia parcial (DP), dominancia completa (DC), sobredominancia (SD), efecto materno (EM), efecto paterno (EP), según variable.

Anexo 6. Heterosis contra el mejor padre (BPH), heterosis contra el padre medio (MPH) para cada carácter agronómico y metabolito medido en cada híbrido F₁. Los porcentajes en negrita y subrayados indican heterosis significativa (p<0,05). El material vegetal incluyó 20 híbridos obtenidos siguiendo un cruzamiento dialélico completo. Querubín FCA (Q), RIL17, Gema FCA (G), Purple Pear (PP), Green Zebra (GZ). Diámetro (D), altura (H), forma (FS), peso (FW), firmeza (F), vida poscosecha (SL), índice de absorbancia (a*/b*), porcentaje de reflectancia (L*), número de lóculos (LN), contenido de sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), α-cetoglutarato (α-KG), ácido γ-aminobutírico (GABA), metabolito desconocido 1 (Unk1) y 2 (Unk2). Los aminoácidos están representados por el código de tres letras.

Genotipo	D		H		FS		FW		F		SL		a*/b*		L*		LN		SS	
	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH
QxRIL17	0%	5%	0%	-10%	-13%	-15%	0%	5%	0%	-16%	0%	-57%	0%	<u>1,26E+03</u>	0%	-31%	4%	5%	0%	-4%
QxG	-3%	-4%	0%	-10%	0%	-8%	-2%	-8%	4%	3%	-1%	-14%	2%	<u>5%</u>	-1%	-2%	0%	-1%	0%	-7%
QxPP	0%	-13%	0%	-16%	0%	-2%	0%	-41%	0%	4%	0%	<u>66%</u>	0%	<u>32%</u>	-2%	-2%	-6%	-30%	-10%	-15%
QxGZ	0%	-12%	0%	-11%	0%	1%	0%	-32%	-1%	-6%	0%	16%	0%	<u>296%</u>	-1%	-11%	0%	1%	-29%	-36%
RIL17xQ	0%	2%	0%	-11%	-10%	-13%	0%	-6%	0%	-20%	0%	-60%	0%	<u>1,34E+03</u>	-2%	-32%	23%	23%	0%	-6%
RIL17xG	6%	11%	3%	6%	0%	-7%	8%	21%	-4%	-17%	0%	-50%	0%	<u>414%</u>	0%	-29%	0%	20%	15%	14%
RIL17xPP	0%	11%	0%	3%	-3%	-7%	0%	15%	0%	-22%	0%	-69%	41%	<u>8,90E+03</u>	-4%	-31%	0%	-14%	0%	1%
RIL17xGZ	0%	<u>20%</u>	0%	<u>12%</u>	-6%	-8%	0%	<u>42%</u>	0%	-12%	0%	-33%	636%	<u>413%</u>	-7%	-23%	13%	18%	0%	-3%
GxQ	7%	7%	0%	-2%	0%	-7%	8%	18%	0%	-3%	97%	-16%	6%	<u>8%</u>	0%	-1%	0%	8%	0%	6%
GxRIL17	1%	7%	-1%	-2%	-3%	-10%	0%	6%	-11%	-23%	0%	-58%	0%	<u>427%</u>	0%	-29%	0%	3%	7%	5%
GxPP	0%	-8%	0%	-10%	0%	-3%	0%	-34%	-4%	-12%	0%	-16%	0%	<u>23%</u>	-2%	-2%	0%	-21%	0%	-1%
GxGZ	0%	-1%	0%	3%	0%	1%	0%	-8%	0%	-3%	0%	-21%	0%	<u>112%</u>	0%	-8%	-1%	-1%	-18%	-21%
PPxQ	0%	4%	0%	-2%	0%	-4%	0%	-8%	-3%	-9%	0%	<u>59%</u>	0%	<u>36%</u>	-2%	-2%	-4%	-30%	-19%	-23%
PPxRIL17	0%	9%	0%	-1%	-4%	-9%	0%	8%	0%	-20%	0%	-55%	56%	<u>9,90E+03</u>	-5%	-32%	-1%	-27%	0%	-5%
PPxG	0%	0%	0%	0%	0%	-1%	0%	-15%	-5%	-13%	0%	-29%	0%	<u>18%</u>	-2%	-3%	0%	-31%	-3%	-7%
PPxGZ	5%	6%	0%	9%	0%	2%	12%	<u>58%</u>	-11%	-12%	0%	-10%	19%	<u>347%</u>	0%	-9%	-3%	-33%	-29%	-30%
GZxQ	0%	0%	0%	-2%	-2%	-2%	0%	-16%	0%	4%	4%	<u>55%</u>	0%	<u>320%</u>	0%	-10%	0%	3%	-10%	-20%
GZxRIL17	0%	<u>16%</u>	0%	<u>7%</u>	-6%	-8%	0%	<u>28%</u>	0%	-12%	0%	-59%	729%	<u>467%</u>	-11%	-26%	0%	1%	0%	-4%
GZxG	0%	1%	0%	2%	0%	-2%	0%	-11%	0%	-2%	0%	-10%	0%	<u>152%</u>	0%	-6%	0%	-4%	-14%	-18%
GZxPP	10%	12%	0%	11%	0%	0%	26%	<u>79%</u>	-1%	-3%	0%	-7%	14%	<u>329%</u>	0%	-9%	-5%	-34%	-18%	-19%

Genotipo	pH		TA		Fructosa		Glucosa		Sacarosa		Galactosa		Xilosa		Manosa		Citrato		Malato	
	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH
QxRIL17	0%	2%	-24%	-26%	50%	56%	63%	75%	0%	-65%	35%	131%	107%	121%	52%	67%	-12%	-14%	-51%	-79%
QxG	-4%	8%	0%	9%	49%	56%	48%	62%	0%	-93%	38%	74%	41%	69%	19%	31%	32%	61%	0%	44%
QxPP	0%	3%	-20%	-20%	26%	31%	44%	50%	0%	-53%	174%	220%	60%	87%	33%	46%	23%	52%	0%	-15%
QxGZ	0%	-5%	0%	-18%	-9%	-11%	-3%	-7%	-59%	-96%	0%	-7%	40%	53%	0%	-14%	0%	-2%	-34%	-36%
RIL17xQ	0%	2%	-27%	-29%	49%	55%	55%	66%	0%	-90%	0%	40%	36%	45%	12%	22%	-22%	-24%	-53%	-80%
RIL17xG	5%	7%	-24%	-29%	14%	25%	15%	34%	0%	-62%	0%	-32%	0%	2%	0%	13%	0%	-23%	-4%	-83%
RIL17xPP	5%	9%	-32%	-36%	10%	10%	16%	19%	0%	36%	0%	11%	47%	62%	0%	-5%	0%	-21%	0%	-77%
RIL17xGZ	3%	7%	-19%	-38%	46%	44%	45%	60%	-54%	-67%	4%	94%	68%	61%	0%	39%	-6%	-17%	-42%	-77%
GxQ	0%	17%	0%	-9%	27%	33%	29%	42%	0%	-93%	0%	26%	46%	76%	28%	41%	7%	31%	0%	11%
GxRIL17	0%	2%	-17%	-23%	28%	40%	29%	51%	0%	0%	0%	31%	29%	46%	6%	27%	0%	-22%	0%	-77%
GxPP	0%	3%	-14%	-26%	11%	21%	8%	22%	36%	90%	0%	21%	12%	16%	8%	8%	7%	8%	64%	64%
GxGZ	0%	-8%	0%	3%	0%	4%	0%	-1%	7%	94%	42%	42%	78%	98%	0%	15%	0%	-1%	0%	-7%
PPxQ	0%	-3%	-10%	-10%	8%	13%	13%	18%	0%	-86%	10%	29%	9%	28%	7%	17%	0%	13%	0%	-20%
PPxRIL17	5%	9%	-24%	-28%	70%	71%	63%	68%	0%	4%	20%	95%	9%	20%	0%	-15%	-5%	-28%	0%	-65%
PPxG	1%	7%	-21%	-32%	4%	13%	5%	19%	7%	50%	0%	22%	5%	9%	16%	17%	2%	3%	77%	78%
PPxGZ	3%	4%	-15%	-23%	12%	14%	6%	15%	132%	281%	0%	35%	11%	20%	0%	3%	0%	-22%	0%	-42%
GZxQ	0%	0%	-5%	-22%	-1%	-4%	-1%	-6%	0%	-82%	0%	-10%	9%	19%	0%	-13%	-7%	-18%	-37%	-38%
GZxRIL17	4%	9%	-38%	-52%	13%	11%	2%	13%	86%	124%	0%	-15%	-18%	-24%	0%	-6%	-52%	-58%	-66%	-87%
GZxG	0%	-3%	0%	-16%	0%	-5%	-8%	-13%	0%	-70%	28%	29%	0%	2%	0%	-7%	0%	-33%	-17%	-54%
GZxPP	5%	5%	-18%	-25%	10%	12%	0%	8%	153%	314%	0%	13%	-43%	-47%	0%	-6%	0%	-26%	0%	-43%

Genotipo	Gln		Ile		Tyr		Phe		Thr		Trp		Val		Metanol		Unk1		Unk2	
	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH
QxRIL17	0%	20%	0%	73%	18%	51%	91%	107%	0%	28%	100%	113%	59%	70%	82%	85%	0%	12%	0%	14%
QxG	56%	141%	140%	153%	12%	64%	111%	111%	57%	80%	73%	100%	85%	123%	40%	65%	128%	143%	0%	14%
QxPP	59%	59%	10%	14%	80%	81%	20%	37%	45%	50%	0%	15%	-2%	-13%	66%	75%	0%	43%	0%	17%
QxGZ	28%	44%	0%	0%	0%	11%	0%	10%	10%	34%	0%	0%	0%	18%	0%	-11%	0%	1%	0%	-29%
RIL17xQ	64%	96%	177%	229%	111%	170%	192%	216%	63%	109%	147%	163%	230%	253%	84%	88%	12%	37%	0%	-14%
RIL17xG	0%	-45%	0%	-13%	0%	-28%	28%	40%	0%	-15%	0%	69%	0%	-27%	22%	46%	-3%	-19%	-20%	-33%
RIL17xPP	0%	-1%	27%	46%	12%	43%	68%	78%	0%	28%	24%	48%	39%	63%	14%	22%	0%	41%	0%	0%
RIL17xGZ	0%	18%	87%	85%	54%	54%	91%	137%	49%	60%	20%	69%	28%	105%	26%	57%	19%	10%	0%	20%
GxQ	18%	82%	-21%	-25%	0%	4%	43%	43%	7%	23%	47%	69%	-3%	-23%	42%	67%	0%	-2%	0%	-14%
GxRIL17	0%	-15%	25%	53%	0%	31%	70%	86%	0%	21%	76%	131%	16%	48%	48%	77%	0%	1%	-20%	-33%
GxPP	0%	26%	26%	35%	3%	51%	41%	61%	23%	44%	8%	59%	0%	3%	14%	29%	0%	-3%	0%	25%
GxGZ	16%	90%	6%	31%	0%	19%	0%	14%	15%	56%	0%	8%	41%	92%	0%	-14%	0%	-6%	20%	20%
PPxQ	52%	61%	46%	51%	72%	73%	55%	77%	72%	78%	12%	40%	0%	9%	7%	12%	0%	38%	0%	-17%
PPxRIL17	-39%	-64%	-26%	-38%	-33%	-51%	15%	21%	-21%	-44%	0%	0%	-60%	-67%	25%	34%	0%	44%	0%	0%
PPxG	0%	38%	82%	95%	64%	139%	86%	113%	77%	109%	68%	147%	48%	63%	38%	56%	0%	42%	20%	50%
PPxGZ	2%	20%	0%	-8%	0%	6%	4%	20%	0%	4%	0%	12%	0%	-3%	0%	-30%	0%	26%	0%	-25%
GZxQ	0%	-4%	0%	-15%	0%	-2%	0%	15%	-14%	-33%	0%	-7%	0%	-6%	-17%	-35%	0%	-15%	0%	-14%
GZxRIL17	-17%	-40%	-7%	-13%	-3%	-5%	0%	24%	-18%	-29%	0%	24%	0%	5%	0%	-9%	-35%	-40%	-40%	-40%
GZxG	0%	-12%	0%	-26%	0%	-17%	0%	-10%	0%	-28%	0%	27%	0%	20%	0%	-31%	-16%	-29%	-20%	-20%
GZxPP	-36%	-48%	0%	-18%	0%	-7%	0%	8%	-26%	-40%	0%	-18%	0%	0%	0%	-15%	0%	-27%	0%	0%

Genotipo	Succinato		Piruvato		Fumarato		α-KG		tCA		GABA		Ala		Asn		Asp		Glu	
	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH	BPH	MPH
QxRIL17	-48%	-76%	-39%	-66%	0%	-13%	57%	102%	72%	100%	56%	93%	0%	14%	0%	13%	74%	148%	62%	157%
QxG	19%	26%	26%	35%	0%	-22%	71%	92%	58%	162%	68%	87%	0%	54%	61%	105%	52%	80%	73%	89%
QxPP	0%	-6%	0%	23%	0%	-36%	122%	178%	128%	197%	106%	157%	-54%	-56%	23%	27%	33%	39%	59%	73%
QxGZ	-33%	-40%	-49%	-54%	0%	-83%	0%	33%	0%	-66%	0%	24%	0%	-43%	0%	-1%	0%	-30%	0%	-19%
RIL17xQ	-49%	-76%	-39%	-66%	0%	2%	75%	125%	14%	32%	73%	114%	97%	124%	81%	105%	71%	143%	102%	220%
RIL17xG	-41%	-82%	-60%	-80%	-12%	-18%	1%	18%	55%	140%	3%	16%	0%	10%	0%	-36%	14%	44%	0%	47%
RIL17xPP	-3%	-75%	-17%	-79%	19%	48%	64%	70%	71%	96%	56%	57%	0%	-20%	0%	7%	7%	49%	45%	119%
RIL17xGZ	-34%	-74%	-42%	-62%	65%	126%	178%	223%	0%	-57%	160%	183%	111%	171%	0%	8%	0%	44%	0%	77%
GxQ	0%	6%	-14%	-20%	0%	-18%	50%	69%	0%	58%	42%	58%	0%	-2%	22%	56%	37%	62%	43%	56%
GxRIL17	-22%	-76%	-27%	-63%	50%	60%	59%	85%	68%	160%	57%	78%	116%	185%	0%	8%	88%	137%	40%	113%
GxPP	0%	11%	0%	-12%	17%	52%	52%	72%	70%	144%	42%	61%	0%	-27%	0%	3%	28%	47%	53%	53%
GxGZ	0%	-15%	-19%	-32%	0%	-43%	49%	86%	0%	-75%	57%	80%	139%	142%	0%	16%	0%	-12%	0%	-8%
PPxQ	0%	-22%	0%	-10%	0%	-48%	43%	79%	21%	58%	39%	73%	-18%	-23%	17%	22%	44%	50%	70%	86%
PPxRIL17	0%	-60%	0%	-60%	58%	95%	-39%	-41%	19%	37%	-38%	-39%	0%	-42%	-38%	-52%	33%	85%	39%	111%
PPxG	45%	61%	0%	13%	47%	91%	133%	164%	87%	169%	119%	149%	0%	32%	19%	47%	71%	96%	118%	118%
PPxGZ	0%	-7%	0%	-47%	19%	36%	17%	32%	0%	-70%	28%	29%	0%	-8%	0%	-21%	0%	-6%	0%	-8%
GZxQ	-34%	-41%	-48%	-53%	0%	-73%	0%	9%	0%	-66%	0%	-1%	0%	-11%	-13%	-38%	0%	-37%	0%	-30%
GZxRIL17	-59%	-83%	-75%	-84%	0%	11%	41%	64%	0%	-59%	26%	37%	58%	103%	-43%	-50%	0%	-24%	0%	-21%
GZxG	0%	-11%	-55%	-62%	-8%	-48%	0%	11%	0%	-65%	0%	-2%	48%	49%	0%	-52%	0%	-37%	0%	-37%
GZxPP	-13%	-36%	-1%	-54%	-17%	-29%	0%	12%	0%	-49%	3%	4%	0%	-2%	-34%	-56%	0%	-35%	0%	-38%

Anexo 7. Coeficientes de correlación de Spearman, n (número de observaciones) y p-valor de cada par de caracteres de fruto de tomate, calculados incluyendo los valores medios por planta de (A) todos los genotipos, (B) genotipos parentales, (C) híbridos, evaluados en invernadero. El número de observaciones (35-158 en A, 3-0 en B, 32-128 en C) dependió del par de variables. Diámetro de fruto (D), altura (H), forma de fruto (FW), peso de fruto (FW), firmeza (F), vida poscosecha (SL), índice de absorbancia, porcentaje de reflectancia (L*), número de lóculos (LN), sólidos solubles (SS), acidez titulable (TA), fructosa (Fru), glucosa (Glc), sacarosa (Suc), ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido *trans*-cinámico (tCA), metabolito desconocido 1 (Unk1) y 2 (Unk2). Los amino ácidos están representados por el código de tres letras.

Variable (1)	Variable (2)	(A) 25 GENOTIPOS			(B) 5 LÍNEAS PARENTALES			(C) 20 HÍBRIDOS		
		n	Spearman	ρ	n	Spearman	ρ	n	Spearman	ρ
a*/b*	Ala	64	0,08	0,5412	11	0,76	0,0157	53	-0,07	0,6434
a*/b*	Asn	64	-0,24	0,0555	11	-0,45	0,1589	53	-0,17	0,2320
a*/b*	Asp	64	0,06	0,6564	11	0,40	0,2059	53	-0,07	0,6235
a*/b*	Citrato	64	0,01	0,9430	11	-0,38	0,2273	53	0,16	0,2393
a*/b*	Fru	64	0,43	0,0003	11	0,53	0,0954	53	0,27	0,0463
a*/b*	Fumarato	64	0,27	0,0308	11	0,24	0,4548	53	0,21	0,1327
a*/b*	GABA	64	0,45	0,0002	11	0,38	0,2273	53	0,27	0,0465
a*/b*	Galactosa	64	0,26	0,0351	11	0,71	0,0249	53	0,08	0,5610
a*/b*	Glc	64	0,46	0,0001	11	0,63	0,0473	53	0,29	0,0383
a*/b*	Gln	64	-0,26	0,0379	11	-0,75	0,0184	53	-0,21	0,1300
a*/b*	Glu	64	0,13	0,2923	11	0,42	0,1860	53	3,10E-03	0,9824
a*/b*	Ile	64	-0,15	0,2497	11	-0,23	0,4723	53	-0,22	0,1058
a*/b*	L*	158	-0,57	<0,0001	30	-0,79	<0,0001	128	-0,42	<0,0001
a*/b*	LN	71	-0,33	0,0055	8	-0,53	0,1796	63	-0,20	0,1241
a*/b*	Malato	64	0,11	0,4065	11	-0,58	0,0658	53	0,40	0,0032
a*/b*	Manosa	64	0,10	0,4509	11	0,46	0,1426	53	-0,09	0,5115
a*/b*	Metanol	64	0,10	0,4463	11	-0,26	0,4045	53	0,05	0,7257
a*/b*	pH	72	0,36	0,0020	8	0,51	0,1915	64	0,22	0,0840
a*/b*	Phe	64	3,20E-03	0,9799	11	-0,45	0,1506	53	-0,19	0,1694
a*/b*	Piruvato	64	0,14	0,2819	11	-0,58	0,0658	53	0,36	0,0073
a*/b*	SS	72	0,13	0,2626	8	0,36	0,3869	64	0,21	0,0980
a*/b*	Suc	64	-3,10E-03	0,9804	11	0,23	0,4723	53	-0,05	0,7250
a*/b*	Succinato	64	0,09	0,4843	11	-0,58	0,0658	53	0,36	0,0090
a*/b*	TA	72	-0,28	0,0154	8	-0,47	0,2433	64	-0,18	0,1647
a*/b*	Thr	64	-0,16	0,1997	11	-0,6	0,0578	53	-0,18	0,2062
a*/b*	tCA	64	-0,14	0,2663	11	0,07	0,8181	53	-0,39	0,0036
a*/b*	Trp	64	-0,14	0,2866	11	-0,1	0,7518	53	-0,32	0,0191
a*/b*	Tyr	64	-0,30	0,0161	11	-0,50	0,1138	53	-0,37	0,0070
a*/b*	Unk 1	64	0,46	0,0001	11	0,37	0,2385	53	0,37	0,0068
a*/b*	Unk 2	64	0,21	0,1024	11	0,05	0,8631	53	0,20	0,1539
a*/b*	Val	64	-0,08	0,5115	11	-0,05	0,8857	53	-0,16	0,2478
a*/b*	Xilosa	64	0,18	0,1500	11	-0,44	0,1676	53	0,06	0,6508
a*/b*	α -KG	64	0,48	0,0001	11	0,48	0,1276	53	0,30	0,0281

Ala	Asn	74	0,38	0,0012	15	-0,20	0,4543	59	0,58	<0,0001
Ala	Asp	74	0,58	<0,0001	15	0,49	0,0692	59	0,75	<0,0001
Ala	Fumarato	74	0,25	0,0310	15	0,08	0,7688	59	0,32	0,0159
Ala	Galactosa	74	0,03	0,8233	15	0,14	0,6023	59	0,04	0,7358
Ala	Gln	74	0,29	0,0139	15	-0,43	0,1088	59	0,44	0,0007
Ala	Glu	74	0,52	<0,0001	15	0,25	0,3496	59	0,71	<0,0001
Ala	Ile	74	0,56	<0,0001	15	-0,11	0,6787	59	0,68	<0,0001
Ala	Malato	74	-0,16	0,1726	15	-0,50	0,0595	59	-0,02	0,8878
Ala	Manosa	74	0,32	0,0067	15	0,36	0,1729	59	0,36	0,0068
Ala	Metanol	74	0,17	0,1446	15	-0,14	0,6116	59	0,23	0,0852
Ala	Phe	74	0,46	0,0001	15	-0,13	0,6210	59	0,55	<0,0001
Ala	Piruvato	74	0,08	0,4905	15	-0,67	0,0120	59	0,46	0,0005
Ala	Suc	74	0,40	0,0007	15	0,29	0,2732	59	0,48	0,0002
Ala	Succinato	74	-0,19	0,0966	15	-0,59	0,0275	59	-0,03	0,8014
Ala	Thr	74	0,38	0,0012	15	-0,33	0,2189	59	0,53	<0,0001
Ala	tCA	74	0,20	0,0824	15	0,13	0,6400	59	0,21	0,1154
Ala	Trp	74	0,52	<0,0001	15	0,15	0,5656	59	0,61	<0,0001
Ala	Tyr	74	0,42	0,0003	15	-0,23	0,3924	59	0,57	<0,0001
Ala	Unk 1	74	0,13	0,2824	15	-0,02	0,9361	59	0,23	0,0759
Ala	Unk 2	74	0,11	0,3319	15	-0,05	0,8411	59	0,22	0,0924
Ala	Val	74	0,53	<0,0001	15	0,13	0,6400	59	0,59	<0,0001
Ala	Xilosa	74	0,08	0,5211	15	-0,24	0,3778	59	0,06	0,6244
Ala	α-KG	74	0,40	0,0006	15	0,22	0,4150	59	0,40	0,0023
Asn	Asp	74	0,65	<0,0001	15	0,40	0,1310	59	0,72	<0,0001
Asn	Fumarato	74	0,22	0,0628	15	-0,24	0,3635	59	0,33	0,0125
Asn	Galactosa	74	0,04	0,7490	15	-0,12	0,6592	59	0,08	0,5497
Asn	Gln	74	0,87	<0,0001	15	0,82	0,0022	59	0,90	<0,0001
Asn	Glu	74	0,68	<0,0001	15	0,26	0,3360	59	0,80	<0,0001
Asn	Ile	74	0,69	<0,0001	15	0,86	0,0013	59	0,68	<0,0001
Asn	Malato	74	0,40	0,0006	15	0,64	0,0168	59	0,30	0,0241
Asn	Manosa	74	0,28	0,0154	15	0,15	0,5838	59	0,34	0,0101
Asn	Metanol	74	0,53	<0,0001	15	0,71	0,0075	59	0,49	0,0002
Asn	Phe	74	0,50	<0,0001	15	0,68	0,0115	59	0,56	<0,0001
Asn	Piruvato	74	0,49	<0,0001	15	0,59	0,0265	59	0,54	<0,0001
Asn	Suc	74	0,27	0,0195	15	0,43	0,1059	59	0,25	0,0552
Asn	Succinato	74	0,24	0,0445	15	0,55	0,0383	59	0,16	0,2300
Asn	Thr	74	0,81	<0,0001	15	0,88	0,0010	59	0,82	<0,0001
Asn	tCA	74	0,29	0,0127	15	0,77	0,0041	59	0,17	0,2027
Asn	Trp	74	0,51	<0,0001	15	0,79	0,0033	59	0,51	0,0001
Asn	Tyr	74	0,73	<0,0001	15	0,90	0,0007	59	0,70	<0,0001
Asn	Unk 1	74	0,45	0,0001	15	0,02	0,9361	59	0,60	<0,0001
Asn	Unk 2	74	0,38	0,0012	15	0,18	0,5126	59	0,46	0,0004
Asn	Val	74	0,56	<0,0001	15	0,05	0,8516	59	0,69	<0,0001
Asn	Xilosa	74	0,31	0,0084	15	-0,19	0,4871	59	0,47	0,0004
Asn	α-KG	74	0,44	0,0002	15	-0,12	0,6592	59	0,63	<0,0001
Asp	Fumarato	74	0,27	0,0205	15	-0,39	0,1490	59	0,46	0,0004
Asp	Galactosa	74	0,36	0,0019	15	0,54	0,0436	59	0,23	0,0763
Asp	Gln	74	0,51	<0,0001	15	-3,60E-03	0,9893	59	0,63	<0,0001

Asp	Glu	74	0,94	<0,0001	15	0,88	0,0010	59	0,91	<0,0001
Asp	Ile	74	0,61	<0,0001	15	0,26	0,3227	59	0,66	<0,0001
Asp	Malato	74	0,16	0,1704	15	-0,14	0,6116	59	0,21	0,1028
Asp	Manosa	74	0,57	<0,0001	15	0,71	0,0075	59	0,50	0,0001
Asp	Metanol	74	0,59	<0,0001	15	0,53	0,0480	59	0,51	0,0001
Asp	Phe	74	0,67	<0,0001	15	0,53	0,0465	59	0,61	<0,0001
Asp	Piruvato	74	0,38	0,0012	15	-0,18	0,4955	59	0,70	<0,0001
Asp	Suc	74	0,35	0,0031	15	0,33	0,2189	59	0,44	0,0008
Asp	Succinato	74	0,03	0,8089	15	-0,20	0,4543	59	0,14	0,3036
Asp	Thr	74	0,55	<0,0001	15	0,01	0,9574	59	0,64	<0,0001
Asp	tCA	74	0,52	<0,0001	15	0,69	0,0095	59	0,26	0,0466
Asp	Trp	74	0,69	<0,0001	15	0,69	0,0099	59	0,56	<0,0001
Asp	Tyr	74	0,53	<0,0001	15	0,18	0,5126	59	0,57	<0,0001
Asp	Unk 1	74	0,36	0,0023	15	0,11	0,6689	59	0,47	0,0003
Asp	Unk 2	74	0,26	0,0259	15	0,04	0,8726	59	0,40	0,0021
Asp	Val	74	0,30	0,0109	15	-0,50	0,0632	59	0,55	<0,0001
Asp	Xilosa	74	0,30	0,0104	15	0,10	0,7182	59	0,29	0,0299
Asp	α -KG	74	0,51	<0,0001	15	-0,03	0,9149	59	0,59	<0,0001
Citrato	Ala	74	-0,11	0,3454	15	-0,27	0,3098	59	-0,03	0,8018
Citrato	Asn	74	0,46	0,0001	15	0,77	0,0039	59	0,36	0,0056
Citrato	Asp	74	0,27	0,0210	15	0,40	0,1310	59	0,26	0,0498
Citrato	Fru	74	0,08	0,5064	15	0,15	0,5656	59	0,15	0,2421
Citrato	Fumarato	74	-0,12	0,2939	15	-0,01	0,9680	59	-0,16	0,2327
Citrato	GABA	74	0,29	0,0134	15	0,11	0,6787	59	0,42	0,0015
Citrato	Galactosa	74	0,34	0,0036	15	0,14	0,5930	59	0,47	0,0004
Citrato	Glc	74	0,16	0,1830	15	0,07	0,7996	59	0,27	0,0373
Citrato	Gln	74	0,45	0,0001	15	0,69	0,0095	59	0,40	0,0023
Citrato	Glu	74	0,36	0,0021	15	0,30	0,2674	59	0,41	0,0018
Citrato	Ile	74	0,03	0,8253	15	0,54	0,0450	59	-0,04	0,7510
Citrato	Malato	74	0,65	<0,0001	15	0,81	0,0025	59	0,54	<0,0001
Citrato	Manosa	74	0,22	0,0649	15	0,09	0,7383	59	0,31	0,0199
Citrato	Metanol	74	0,22	0,0550	15	0,74	0,0057	59	0,16	0,2250
Citrato	Phe	74	-0,12	0,3131	15	0,50	0,0632	59	-0,14	0,2947
Citrato	Piruvato	74	0,57	<0,0001	15	0,74	0,0054	59	0,53	0,0001
Citrato	Suc	74	0,24	0,0435	15	0,59	0,0284	59	0,14	0,2718
Citrato	Succinato	74	0,45	0,0001	15	0,73	0,0067	59	0,35	0,0074
Citrato	Thr	74	0,20	0,0831	15	0,54	0,0450	59	0,15	0,2652
Citrato	tCA	74	0,23	0,0515	15	0,84	0,0018	59	0,13	0,3087
Citrato	Trp	74	-0,12	0,3080	15	0,48	0,0733	59	-0,24	0,0718
Citrato	Tyr	74	0,06	0,5794	15	0,60	0,0239	59	-0,06	0,6383
Citrato	Unk 1	74	0,48	<0,0001	15	0,35	0,1903	59	0,56	<0,0001
Citrato	Unk 2	74	0,55	<0,0001	15	0,51	0,0560	59	0,56	<0,0001
Citrato	Val	74	-0,08	0,5173	15	-0,14	0,5930	59	-0,07	0,5810
Citrato	Xilosa	74	0,21	0,0682	15	0,08	0,7688	59	0,34	0,0100
Citrato	α -KG	74	0,27	0,0212	15	-0,09	0,7283	59	0,42	0,0013
D	a*/b*	158	-0,53	<0,0001	30	-0,12	0,5257	128	-0,55	<0,0001
D	Ala	64	-0,06	0,6405	11	0,14	0,6663	53	-0,07	0,6147
D	Asn	64	-0,11	0,3746	11	0,24	0,4548	53	-0,27	0,0527

D	Asp	64	-0,13	0,2969	11	0,45	0,1589	53	-0,24	0,0862
D	Citrato	64	-0,31	0,0123	11	-0,13	0,6873	53	-0,40	0,0033
D	F	158	-0,30	0,0001	30	-0,59	0,0005	128	-0,19	0,0351
D	Fru	64	-0,40	0,0010	11	-0,03	0,9313	53	-0,44	0,0010
D	FS	158	-0,08	0,3321	30	-0,03	0,8839	128	-0,12	0,1624
D	Fumarato	64	-0,32	0,0110	11	-0,63	0,0473	53	-0,27	0,0521
D	FW	158	0,99	<0,0001	30	0,99	<0,0001	128	0,98	<0,0001
D	GABA	64	-0,53	<0,0001	11	-0,28	0,3728	53	-0,54	<0,0001
D	Galactosa	64	-0,27	0,0326	11	-0,15	0,6455	53	-0,25	0,0666
D	Glc	64	-0,45	0,0002	11	0,00	>0,9999	53	-0,50	0,0001
D	Gln	64	-0,11	0,4026	11	0,15	0,6250	53	-0,22	0,1170
D	Glu	64	-0,19	0,1288	11	0,27	0,3884	53	-0,30	0,0306
D	H	158	0,91	<0,0001	30	0,93	<0,0001	128	0,89	<0,0001
D	Ile	64	-0,03	0,8092	11	0,32	0,3143	53	-0,10	0,4765
D	L*	158	0,25	0,0014	30	0,09	0,6433	128	0,29	0,0009
D	LN	71	0,04	0,7680	8	0,76	0,0438	63	-0,10	0,4229
D	Malato	64	-0,22	0,0780	11	-0,25	0,4209	53	-0,28	0,0393
D	Manosa	64	-0,10	0,4525	11	0,45	0,1589	53	-0,16	0,2540
D	Metanol	64	-0,30	0,0151	11	0,08	0,7958	53	-0,38	0,0052
D	pH	72	-0,42	0,0003	8	-0,83	0,0275	64	-0,32	0,0102
D	Phe	64	0,04	0,7257	11	0,75	0,0184	53	0,02	0,8992
D	Piruvato	64	-0,36	0,0033	11	-0,27	0,3884	53	-0,46	0,0006
D	SL	158	-0,21	0,0067	30	-0,59	0,0006	128	-0,02	0,8363
D	SS	72	-0,35	0,0023	8	0,10	0,8182	64	-0,44	0,0003
D	Suc	64	-0,09	0,4953	11	-0,34	0,2875	53	-0,02	0,9069
D	Succinato	64	-0,16	0,1987	11	-0,25	0,4209	53	-0,22	0,1064
D	TA	72	0,29	0,0152	8	0,76	0,0438	64	0,24	0,0546
D	Thr	64	-0,16	0,1955	11	0,17	0,5849	53	-0,26	0,0644
D	tCA	64	0,17	0,1749	11	-0,12	0,7086	53	0,24	0,0868
D	Trp	64	0,23	0,0715	11	0,76	0,0157	53	0,20	0,1552
D	Tyr	64	0,17	0,1773	11	0,22	0,4902	53	0,14	0,3078
D	Unk 1	64	-0,49	<0,0001	11	-0,61	0,0541	53	-0,46	0,0006
D	Unk 2	64	-0,46	0,0002	11	-0,71	0,0249	53	-0,41	0,0025
D	Val	64	-0,16	0,2181	11	-0,20	0,5271	53	-0,17	0,2237
D	Xilosa	64	-0,23	0,0679	11	0,44	0,1676	53	-0,29	0,0329
D	α-KG	64	-0,53	<0,0001	11	-0,35	0,2622	53	-0,53	<0,0001
F	a*/b*	158	0,07	0,3522	30	-0,36	0,0532	128	0,17	0,0538
F	Ala	64	-0,13	0,2978	11	-0,65	0,0412	53	-0,01	0,9657
F	Asn	64	0,15	0,2431	11	-0,16	0,6048	53	0,21	0,1291
F	Asp	64	-0,11	0,3946	11	-0,85	0,0069	53	0,20	0,1468
F	Citrato	64	0,15	0,2274	11	0,00	>0,9999	53	0,14	0,3281
F	Fru	64	0,19	0,1345	11	-0,08	0,7958	53	0,42	0,0018
F	Fumarato	64	0,29	0,0216	11	0,49	0,1206	53	0,30	0,0309
F	GABA	64	0,14	0,2750	11	0,27	0,3884	53	0,28	0,0463
F	Galactosa	64	-0,14	0,2595	11	-0,54	0,0899	53	0,03	0,8368
F	Glc	64	0,17	0,1684	11	-0,30	0,3428	53	0,46	0,0005
F	Gln	64	0,30	0,0151	11	0,37	0,2385	53	0,35	0,0110
F	Glu	64	-0,12	0,3303	11	-0,67	0,0334	53	0,14	0,3138

F	Ile	64	0,11	0,4012	11	-0,15	0,6455	53	0,24	0,0803
F	L*	158	0,24	0,0020	30	0,46	0,0104	128	0,17	0,0604
F	LN	71	0,04	0,7295	8	-0,21	0,5708	63	0,09	0,4687
F	Malato	64	0,05	0,6924	11	0,42	0,1860	53	-0,08	0,5576
F	Manosa	64	-0,18	0,1500	11	-0,87	0,0058	53	0,05	0,7143
F	Metanol	64	0,27	0,0293	11	-0,44	0,1676	53	0,53	<0,0001
F	pH	72	0,13	0,2603	8	0,33	0,3778	64	0,08	0,5374
F	Phe	64	-0,11	0,3804	11	-0,45	0,1589	53	0,14	0,3049
F	Piruvato	64	0,27	0,0341	11	0,52	0,1013	53	0,14	0,3141
F	SL	158	0,56	<0,0001	30	0,83	<0,0001	128	0,48	<0,0001
F	SS	72	0,05	0,6601	8	-0,37	0,3726	64	0,13	0,3243
F	Suc	64	0,06	0,6260	11	0,10	0,7518	53	0,03	0,8572
F	Succinato	64	0,03	0,8229	11	0,56	0,0747	53	-0,16	0,2511
F	TA	72	-0,13	0,2589	8	-0,29	0,4497	64	-0,13	0,3164
F	Thr	64	0,09	0,4995	11	0,19	0,5460	53	0,13	0,3521
F	tCA	64	-0,04	0,7718	11	-0,48	0,1276	53	0,28	0,0399
F	Trp	64	-0,17	0,1698	11	-0,66	0,0359	53	0,10	0,4834
F	Tyr	64	0,11	0,3674	11	0,05	0,8631	53	0,20	0,1448
F	Unk 1	64	0,38	0,0017	11	0,29	0,3576	53	0,46	0,0006
F	Unk 2	64	0,17	0,1868	11	0,21	0,5085	53	0,14	0,3286
F	Val	64	0,26	0,0382	11	0,35	0,2622	53	0,27	0,0477
F	Xilosa	64	-0,02	0,8849	11	0,01	0,9771	53	0,10	0,4579
F	α-KG	64	0,14	0,2596	11	0,26	0,4045	53	0,29	0,0344
Fru	Ala	74	0,26	0,0278	15	0,20	0,4624	59	0,25	0,0533
Fru	Asn	74	0,18	0,1170	15	-0,13	0,6400	59	0,29	0,0253
Fru	Asp	74	0,47	0,0001	15	0,17	0,5300	59	0,50	0,0001
Fru	Fumarato	74	0,63	<0,0001	15	0,19	0,4871	59	0,72	<0,0001
Fru	GABA	74	0,51	<0,0001	15	0,41	0,1277	59	0,44	0,0009
Fru	Galactosa	74	0,12	0,3036	15	0,54	0,0422	59	-0,04	0,7604
Fru	Glc	74	0,96	<0,0001	15	0,91	0,0007	59	0,96	<0,0001
Fru	Gln	74	0,14	0,2359	15	-0,27	0,3162	59	0,20	0,1366
Fru	Glu	74	0,44	0,0002	15	0,14	0,5930	59	0,44	0,0009
Fru	Ile	74	0,27	0,0219	15	0,03	0,9043	59	0,27	0,0390
Fru	Malato	74	0,17	0,1445	15	-0,10	0,7182	59	0,37	0,0047
Fru	Manosa	74	0,25	0,0295	15	0,42	0,1179	59	0,13	0,3093
Fru	Metanol	74	0,66	<0,0001	15	-0,14	0,6116	59	0,75	<0,0001
Fru	Phe	74	0,38	0,0011	15	0,03	0,9043	59	0,30	0,0226
Fru	Piruvato	74	0,27	0,0210	15	-0,05	0,8621	59	0,57	<0,0001
Fru	Suc	74	0,17	0,1367	15	0,12	0,6496	59	0,22	0,0939
Fru	Succinato	74	0,02	0,8796	15	-0,16	0,5565	59	0,21	0,1092
Fru	Thr	74	0,23	0,0506	15	-0,26	0,3227	59	0,25	0,0587
Fru	tCA	74	0,16	0,1732	15	-0,05	0,8621	59	0,07	0,5731
Fru	Trp	74	0,21	0,0676	15	-0,03	0,9255	59	0,1	0,4347
Fru	Tyr	74	0,06	0,6289	15	-0,28	0,2911	59	0,05	0,6904
Fru	Unk 1	74	0,46	0,0001	15	0,43	0,1118	59	0,49	0,0002
Fru	Unk 2	74	0,20	0,0830	15	0,04	0,8937	59	0,30	0,0207
Fru	Val	74	0,23	0,0525	15	-0,09	0,7383	59	0,25	0,0525
Fru	Xilosa	74	0,34	0,0039	15	0,23	0,3924	59	0,26	0,0509

Fru	α-KG	74	0,50	<0,0001	15	0,28	0,2911	59	0,43	0,0011
FS	a*/b*	158	0,23	0,0033	30	0,44	0,0149	128	0,32	0,0002
FS	Ala	64	0,08	0,5223	11	0,21	0,5454	53	0,02	0,8955
FS	Asn	64	-0,23	0,0731	11	-0,30	0,3766	53	-0,18	0,1947
FS	Asp	64	-0,05	0,6758	11	0,06	0,8627	53	-0,05	0,7236
FS	Citrato	64	-0,10	0,4509	11	-0,56	0,0730	53	0,02	0,8697
FS	F	158	-0,29	0,0002	30	-0,16	0,3972	128	-0,39	<0,0001
FS	Fru	64	-0,07	0,5852	11	0,49	0,1283	53	-0,17	0,2299
FS	Fumarato	64	-0,20	0,1076	11	-0,14	0,6787	53	-0,19	0,1747
FS	FW	158	0,02	0,8184	30	0,06	0,7424	128	-0,01	0,8779
FS	GABA	64	0,06	0,6208	11	0,40	0,2275	53	0,09	0,5228
FS	Galactosa	64	0,39	0,0016	11	0,16	0,6299	53	0,49	0,0002
FS	Glc	64	-0,06	0,6525	11	0,52	0,0981	53	-0,17	0,2349
FS	Gln	64	-0,38	0,0017	11	-0,40	0,2275	53	-0,36	0,0090
FS	Glu	64	-0,05	0,7218	11	0,17	0,6203	53	-0,03	0,8129
FS	Ile	64	-0,25	0,0425	11	-0,02	0,9470	53	-0,27	0,0474
FS	L*	158	-0,16	0,0511	30	-0,35	0,0563	128	-0,19	0,0331
FS	LN	71	-0,31	0,0076	8	-0,59	0,1233	63	-0,32	0,0119
FS	Malato	64	-0,04	0,7375	11	-0,56	0,0730	53	0,18	0,1884
FS	Manosa	64	0,31	0,0141	11	0,44	0,1786	53	0,32	0,0186
FS	Metanol	64	-0,35	0,0049	11	-0,26	0,4324	53	-0,38	0,0046
FS	pH	72	0,08	0,4981	8	0,62	0,0991	64	0,03	0,8138
FS	Phe	64	-0,20	0,1201	11	0,22	0,5094	53	-0,27	0,0543
FS	Piruvato	64	0,03	0,8017	11	-0,46	0,1591	53	0,19	0,1833
FS	SL	158	-0,37	<0,0001	30	-0,16	0,3879	128	-0,44	<0,0001
FS	SS	72	-0,06	0,6447	8	0,25	0,5579	64	-0,12	0,3351
FS	Suc	64	-0,21	0,0883	11	-0,41	0,2104	53	-0,15	0,2957
FS	Succinato	64	0,17	0,1720	11	-0,49	0,1283	53	0,35	0,0106
FS	TA	72	-0,04	0,7104	8	-0,65	0,0831	64	-0,04	0,7830
FS	Thr	64	-0,23	0,0638	11	-0,27	0,4160	53	-0,19	0,1632
FS	tCA	64	-0,34	0,0063	11	-0,56	0,0702	53	-0,34	0,0116
FS	Trp	64	-0,14	0,2665	11	0,14	0,6787	53	-0,22	0,1170
FS	Tyr	64	-0,35	0,0044	11	-0,39	0,2393	53	-0,33	0,0163
FS	Unk 1	64	-0,16	0,2049	11	-0,35	0,2902	53	-0,10	0,4921
FS	Unk 2	64	-0,19	0,1253	11	-0,79	0,0036	53	-0,05	0,7383
FS	Val	64	-0,27	0,0323	11	-0,05	0,8942	53	-0,31	0,0250
FS	Xilosa	64	0,08	0,5536	11	0,30	0,3689	53	0,06	0,6663
FS	α-KG	64	0,05	0,6939	11	0,30	0,3766	53	0,06	0,6827
Fumarato	Galactosa	74	-0,19	0,0973	15	-0,10	0,7182	59	-0,23	0,0794
Fumarato	Manosa	74	-0,09	0,4662	15	-0,45	0,0897	59	0,01	0,9567
Fumarato	tCA	74	-0,12	0,2932	15	-0,26	0,3293	59	-0,09	0,4973
Fumarato	Tyr	74	0,16	0,1838	15	-0,23	0,3999	59	0,25	0,0539
Fumarato	Unk 2	74	0,28	0,0155	15	0,55	0,0409	59	0,25	0,0527
Fumarato	Xilosa	74	0,26	0,0269	15	-0,22	0,4074	59	0,30	0,0206
Fumarato	α-KG	74	0,42	0,0004	15	0,58	0,0304	59	0,45	0,0007
FW	a*/b*	158	-0,52	<0,0001	30	-0,11	0,5774	128	-0,55	<0,0001
FW	Ala	64	-0,05	0,7025	11	0,17	0,5849	53	-0,09	0,5361
FW	Asn	64	-0,13	0,3000	11	0,18	0,5653	53	-0,28	0,0431

FW	Asp	64	-0,11	0,3780	11	0,47	0,1349	53	-0,25	0,0661
FW	Citrato	64	-0,32	0,0119	11	-0,18	0,5653	53	-0,39	0,0054
FW	F	158	-0,38	<0,0001	30	-0,62	0,0002	128	-0,27	0,0024
FW	Fru	64	-0,41	0,0011	11	-0,08	0,7958	53	-0,48	0,0006
FW	Fumarato	64	-0,35	0,0058	11	-0,69	0,0289	53	-0,30	0,0298
FW	GABA	64	-0,51	0,0001	11	-0,31	0,3284	53	-0,53	0,0001
FW	Galactosa	64	-0,21	0,0978	11	-0,13	0,6873	53	-0,22	0,1159
FW	Glc	64	-0,45	0,0003	11	-0,06	0,8405	53	-0,54	0,0001
FW	Gln	64	-0,15	0,2313	11	0,06	0,8405	53	-0,26	0,0653
FW	Glu	64	-0,16	0,2020	11	0,32	0,3143	53	-0,30	0,0306
FW	Ile	64	-0,05	0,6635	11	0,23	0,4723	53	-0,13	0,3371
FW	L*	158	0,21	0,0085	30	0,07	0,7225	128	0,24	0,0061
FW	LN	71	0,02	0,8559	8	0,71	0,0588	63	-0,11	0,3892
FW	Malato	64	-0,22	0,0746	11	-0,33	0,3007	53	-0,25	0,0743
FW	Manosa	64	-0,05	0,6867	11	0,50	0,1138	53	-0,13	0,3321
FW	Metanol	64	-0,32	0,0114	11	0,14	0,6663	53	-0,41	0,0030
FW	pH	72	-0,42	0,0002	8	-0,81	0,0322	64	-0,33	0,0086
FW	Phe	64	0,05	0,6899	11	0,71	0,0249	53	-0,01	0,9166
FW	Piruvato	64	-0,39	0,0021	11	-0,36	0,2502	53	-0,45	0,0011
FW	SL	158	-0,27	0,0006	30	-0,62	0,0003	128	-0,07	0,4229
FW	SS	72	-0,35	0,0029	8	0,07	0,8633	64	-0,44	0,0003
FW	Suc	64	-0,10	0,4187	11	-0,46	0,1426	53	-3,00E-03	0,9828
FW	Succinato	64	-0,15	0,2265	11	-0,35	0,2622	53	-0,18	0,2006
FW	TA	72	0,28	0,0188	8	0,69	0,0677	64	0,23	0,0646
FW	Thr	64	-0,18	0,1589	11	0,09	0,7737	53	-0,26	0,0576
FW	tCA	64	0,16	0,2160	11	-0,11	0,7301	53	0,20	0,1490
FW	Trp	64	0,23	0,0728	11	0,75	0,0170	53	0,16	0,2395
FW	Tyr	64	0,14	0,2549	11	0,13	0,6873	53	0,12	0,3784
FW	Unk 1	64	-0,53	<0,0001	11	-0,65	0,0385	53	-0,50	0,0003
FW	Unk 2	64	-0,48	0,0001	11	-0,73	0,0215	53	-0,42	0,0026
FW	Val	64	-0,19	0,1259	11	-0,22	0,4902	53	-0,21	0,1327
FW	Xilosa	64	-0,19	0,1284	11	0,53	0,0954	53	-0,27	0,0475
FW	α-KG	64	-0,50	0,0001	11	-0,37	0,2385	53	-0,52	0,0002
GABA	Ala	74	0,42	0,0003	15	0,11	0,6885	59	0,45	0,0007
GABA	Asn	74	0,49	<0,0001	15	0,02	0,9467	59	0,66	<0,0001
GABA	Asp	74	0,55	<0,0001	15	0,04	0,8726	59	0,63	<0,0001
GABA	Fumarato	74	0,40	0,0006	15	0,54	0,0450	59	0,43	0,0011
GABA	Galactosa	74	0,34	0,0040	15	0,25	0,3565	59	0,33	0,0111
GABA	Gln	74	0,50	<0,0001	15	-0,04	0,8831	59	0,60	<0,0001
GABA	Glu	74	0,64	<0,0001	15	0,17	0,5300	59	0,73	<0,0001
GABA	Ile	74	0,53	<0,0001	15	-0,01	0,9574	59	0,59	<0,0001
GABA	Malato	74	0,14	0,2351	15	-0,01	0,9680	59	0,31	0,0194
GABA	Manosa	74	0,45	0,0001	15	0,05	0,8516	59	0,48	0,0003
GABA	Metanol	74	0,57	<0,0001	15	0,02	0,9467	59	0,61	<0,0001
GABA	Phe	74	0,51	<0,0001	15	-0,11	0,6787	59	0,49	0,0002
GABA	Piruvato	74	0,32	0,0069	15	0,20	0,4462	59	0,63	<0,0001
GABA	Suc	74	0,21	0,0722	15	0,27	0,3162	59	0,22	0,0952
GABA	Succinato	74	0,04	0,7474	15	0,10	0,6984	59	0,22	0,0896

GABA	Thr	74	0,56	<0,0001	15	-0,15	0,5746	59	0,67	<0,0001
GABA	tCA	74	0,17	0,1491	15	0,03	0,9255	59	0,06	0,6669
GABA	Trp	74	0,31	0,0074	15	-0,23	0,3924	59	0,30	0,0221
GABA	Tyr	74	0,39	0,0009	15	-0,22	0,4150	59	0,46	0,0004
GABA	Unk 1	74	0,57	<0,0001	15	0,64	0,0174	59	0,59	<0,0001
GABA	Unk 2	74	0,41	0,0005	15	0,42	0,1179	59	0,50	0,0001
GABA	Val	74	0,56	<0,0001	15	0,18	0,4955	59	0,61	<0,0001
GABA	Xilosa	74	0,43	0,0002	15	-0,03	0,9255	59	0,41	0,0018
GABA	α -KG	74	0,99	<0,0001	15	0,94	0,0005	59	0,99	<0,0001
Galactosa	Manosa	74	0,68	<0,0001	15	0,74	0,0057	59	0,65	<0,0001
Galactosa	tCA	74	0,24	0,0395	15	0,14	0,5930	59	0,09	0,4990
Galactosa	Xilosa	74	0,24	0,0438	15	0,19	0,4788	59	0,18	0,1621
Glc	Ala	74	0,23	0,0543	15	0,25	0,3565	59	0,21	0,1051
Glc	Asn	74	0,20	0,0936	15	-0,16	0,5388	59	0,32	0,0138
Glc	Asp	74	0,51	<0,0001	15	0,27	0,3098	59	0,51	0,0001
Glc	Fumarato	74	0,56	<0,0001	15	0,17	0,5212	59	0,65	<0,0001
Glc	GABA	74	0,59	<0,0001	15	0,42	0,1179	59	0,54	<0,0001
Glc	Galactosa	74	0,27	0,0197	15	0,72	0,0069	59	0,10	0,4619
Glc	Gln	74	0,17	0,1573	15	-0,36	0,1729	59	0,26	0,0517
Glc	Glu	74	0,51	<0,0001	15	0,36	0,1771	59	0,47	0,0003
Glc	Ile	74	0,28	0,0150	15	0,05	0,8621	59	0,29	0,0263
Glc	Malato	74	0,13	0,2840	15	-0,26	0,3293	59	0,36	0,0066
Glc	Manosa	74	0,35	0,0026	15	0,52	0,0511	59	0,22	0,0933
Glc	Metanol	74	0,70	<0,0001	15	-0,17	0,5212	59	0,78	<0,0001
Glc	Phe	74	0,41	0,0004	15	0,11	0,6885	59	0,29	0,0252
Glc	Piruvato	74	0,26	0,0247	15	-0,10	0,7083	59	0,57	<0,0001
Glc	Suc	74	0,14	0,2154	15	0,10	0,7182	59	0,19	0,1392
Glc	Succinato	74	-0,02	0,8601	15	-0,24	0,3778	59	0,18	0,1593
Glc	Thr	74	0,26	0,0268	15	-0,34	0,2091	59	0,30	0,0216
Glc	tCA	74	0,22	0,0625	15	-0,08	0,7688	59	0,10	0,4608
Glc	Trp	74	0,23	0,0461	15	-0,04	0,8937	59	0,07	0,5883
Glc	Tyr	74	0,06	0,5956	15	-0,33	0,2140	59	0,06	0,6672
Glc	Unk 1	74	0,48	<0,0001	15	0,40	0,1310	59	0,52	0,0001
Glc	Unk 2	74	0,21	0,0719	15	0,01	0,9787	59	0,32	0,0138
Glc	Val	74	0,19	0,1070	15	-0,23	0,3999	59	0,26	0,0448
Glc	Xilosa	74	0,32	0,0066	15	0,11	0,6689	59	0,24	0,0652
Glc	α -KG	74	0,58	<0,0001	15	0,28	0,2911	59	0,53	0,0001
Gln	Fumarato	74	0,19	0,1104	15	-0,03	0,9043	59	0,24	0,0674
Gln	Galactosa	74	-0,04	0,7409	15	-0,49	0,0671	59	0,08	0,5574
Gln	Ile	74	0,64	<0,0001	15	0,66	0,0129	59	0,63	<0,0001
Gln	Malato	74	0,29	0,0125	15	0,84	0,0016	59	0,16	0,2201
Gln	Manosa	74	0,19	0,1008	15	-0,33	0,2140	59	0,28	0,0329
Gln	Metanol	74	0,45	0,0001	15	0,51	0,0578	59	0,44	0,0009
Gln	Phe	74	0,51	<0,0001	15	0,51	0,0578	59	0,56	<0,0001
Gln	Piruvato	74	0,34	0,0033	15	0,80	0,0028	59	0,41	0,0020
Gln	Suc	74	0,30	0,0101	15	0,52	0,0511	59	0,24	0,0660
Gln	Succinato	74	0,15	0,1892	15	0,81	0,0025	59	0,08	0,5524
Gln	Thr	74	0,81	<0,0001	15	0,88	0,0010	59	0,79	<0,0001

Gln	tCA	74	0,23	0,0529	15	0,53	0,0480	59	0,17	0,2038
Gln	Trp	74	0,44	0,0002	15	0,50	0,0632	59	0,49	0,0002
Gln	Tyr	74	0,72	<0,0001	15	0,86	0,0012	59	0,69	<0,0001
Gln	Unk 1	74	0,39	0,0008	15	-0,04	0,8937	59	0,54	<0,0001
Gln	Unk 2	74	0,36	0,0021	15	0,18	0,5040	59	0,45	0,0006
Gln	Val	74	0,59	<0,0001	15	0,25	0,3427	59	0,65	<0,0001
Gln	Xilosa	74	0,25	0,0312	15	-0,15	0,5838	59	0,33	0,0113
Gln	α-KG	74	0,47	0,0001	15	-0,15	0,5746	59	0,59	<0,0001
Glu	Fumarato	74	0,25	0,0360	15	-0,27	0,3098	59	0,40	0,0026
Glu	Galactosa	74	0,39	0,0010	15	0,71	0,0075	59	0,22	0,0918
Glu	Gln	74	0,56	<0,0001	15	-0,13	0,6400	59	0,73	<0,0001
Glu	Ile	74	0,58	<0,0001	15	0,19	0,4705	59	0,65	<0,0001
Glu	Malato	74	0,20	0,0931	15	-0,25	0,3565	59	0,30	0,0224
Glu	Manosa	74	0,53	<0,0001	15	0,68	0,0107	59	0,43	0,0009
Glu	Metanol	74	0,57	<0,0001	15	0,35	0,1903	59	0,49	0,0002
Glu	Phe	74	0,63	<0,0001	15	0,48	0,0755	59	0,56	<0,0001
Glu	Piruvato	74	0,41	0,0004	15	-0,09	0,7484	59	0,72	<0,0001
Glu	Suc	74	0,30	0,0107	15	0,10	0,6984	59	0,40	0,0023
Glu	Succinato	74	0,08	0,5124	15	-0,17	0,5300	59	0,20	0,1218
Glu	Thr	74	0,59	<0,0001	15	-0,13	0,6305	59	0,72	<0,0001
Glu	tCA	74	0,48	<0,0001	15	0,46	0,0847	59	0,21	0,1101
Glu	Trp	74	0,65	<0,0001	15	0,48	0,0755	59	0,51	0,0001
Glu	Tyr	74	0,51	<0,0001	15	-0,01	0,9787	59	0,57	<0,0001
Glu	Unk 1	74	0,45	0,0001	15	0,28	0,2911	59	0,56	<0,0001
Glu	Unk 2	74	0,33	0,0055	15	0,05	0,8516	59	0,49	0,0002
Glu	Val	74	0,30	0,0104	15	-0,59	0,0284	59	0,57	<0,0001
Glu	Xilosa	74	0,33	0,0049	15	0,19	0,4788	59	0,29	0,0257
Glu	α-KG	74	0,60	<0,0001	15	0,07	0,7996	59	0,70	<0,0001
H	a*/b*	158	-0,40	<0,0001	30	0,03	0,8780	128	-0,38	<0,0001
H	Ala	64	-0,02	0,8940	11	0,11	0,7301	53	-0,04	0,7851
H	Asn	64	-0,16	0,2009	11	0,14	0,6663	53	-0,28	0,0416
H	Asp	64	-0,12	0,3549	11	0,37	0,2385	53	-0,21	0,1276
H	Citrato	64	-0,32	0,0103	11	-0,22	0,4902	53	-0,36	0,0078
H	F	158	-0,42	<0,0001	30	-0,65	0,0001	128	-0,35	0,0001
H	Fru	64	-0,41	0,0008	11	0,05	0,8857	53	-0,49	0,0002
H	FS	158	0,30	0,0001	30	0,26	0,1647	128	0,30	0,0005
H	Fumarato	64	-0,35	0,0042	11	-0,65	0,0385	53	-0,31	0,0252
H	FW	158	0,94	<0,0001	30	0,96	<0,0001	128	0,93	<0,0001
H	GABA	64	-0,45	0,0002	11	-0,28	0,3728	53	-0,46	0,0006
H	Galactosa	64	-0,11	0,3870	11	-0,15	0,6455	53	-0,06	0,6601
H	Glc	64	-0,45	0,0002	11	0,04	0,9085	53	-0,55	<0,0001
H	Gln	64	-0,22	0,0810	11	0,05	0,8631	53	-0,30	0,0281
H	Glu	64	-0,16	0,2020	11	0,22	0,4902	53	-0,25	0,0694
H	Ile	64	-0,10	0,4386	11	0,23	0,4723	53	-0,16	0,2406
H	L*	158	0,16	0,0421	30	-0,02	0,9256	128	0,17	0,0506
H	LN	71	-0,09	0,4433	8	0,68	0,0621	63	-0,22	0,0893
H	Malato	64	-0,20	0,1090	11	-0,32	0,3143	53	-0,19	0,1695
H	Manosa	64	0,02	0,8734	11	0,45	0,1506	53	-0,02	0,8929

H	Metanol	64	-0,41	0,0008	11	0,05	0,8857	53	-0,49	0,0002
H	pH	72	-0,35	0,0023	8	-0,81	0,0322	64	-0,28	0,0250
H	Phe	64	-0,01	0,9639	11	0,70	0,0269	53	-0,04	0,7492
H	Piruvato	64	-0,32	0,0095	11	-0,35	0,2746	53	-0,35	0,0092
H	SL	158	-0,35	<0,0001	30	-0,66	0,0001	128	-0,20	0,0258
H	SS	72	-0,37	0,0016	8	0,10	0,8182	64	-0,48	0,0001
H	Suc	64	-0,16	0,1929	11	-0,46	0,1426	53	-0,08	0,5456
H	Succinato	64	-0,09	0,4825	11	-0,33	0,3007	53	-0,09	0,5388
H	TA	72	0,24	0,0445	8	0,69	0,0677	64	0,20	0,1198
H	Thr	64	-0,21	0,0922	11	0,09	0,7737	53	-0,28	0,0433
H	tCA	64	0,05	0,6936	11	-0,23	0,4723	53	0,10	0,4832
H	Trp	64	0,19	0,1291	11	0,70	0,0269	53	0,15	0,2708
H	Tyr	64	0,07	0,6010	11	0,10	0,7518	53	0,06	0,6679
H	Unk 1	64	-0,49	<0,0001	11	-0,65	0,0385	53	-0,46	0,0006
H	Unk 2	64	-0,46	0,0001	11	-0,80	0,0114	53	-0,36	0,0079
H	Val	64	-0,23	0,0708	11	-0,21	0,5085	53	-0,25	0,0704
H	Xilosa	64	-0,18	0,1526	11	0,53	0,0954	53	-0,24	0,0863
H	α-KG	64	-0,45	0,0002	11	-0,34	0,2875	53	-0,45	0,0007
Ile	Fumarato	74	0,28	0,0159	15	-0,09	0,7283	59	0,37	0,0048
Ile	Galactosa	74	-4,90E-03	0,9668	15	-0,07	0,7893	59	-0,03	0,8228
Ile	Malato	74	-0,02	0,8357	15	0,45	0,0897	59	-0,10	0,4434
Ile	Manosa	74	0,28	0,0170	15	0,19	0,4871	59	0,25	0,0605
Ile	Metanol	74	0,50	<0,0001	15	0,31	0,2505	59	0,49	0,0002
Ile	Phe	74	0,76	<0,0001	15	0,59	0,0265	59	0,81	<0,0001
Ile	Piruvato	74	0,20	0,0806	15	0,49	0,0671	59	0,28	0,0309
Ile	Suc	74	0,29	0,0132	15	0,29	0,2791	59	0,30	0,0242
Ile	Succinato	74	-0,19	0,1080	15	0,42	0,1179	59	-0,23	0,0790
Ile	Thr	74	0,84	<0,0001	15	0,86	0,0013	59	0,83	<0,0001
Ile	tCA	74	0,28	0,0158	15	0,46	0,0872	59	0,18	0,1683
Ile	Trp	74	0,73	<0,0001	15	0,72	0,0069	59	0,76	<0,0001
Ile	Tyr	74	0,84	<0,0001	15	0,85	0,0015	59	0,84	<0,0001
Ile	Unk 1	74	0,22	0,0589	15	0,07	0,7893	59	0,28	0,0312
Ile	Unk 2	74	0,10	0,3891	15	0,02	0,9361	59	0,16	0,2317
Ile	Val	74	0,81	<0,0001	15	0,25	0,3496	59	0,91	<0,0001
Ile	Xilosa	74	0,11	0,3355	15	-0,31	0,2505	59	0,16	0,2338
Ile	α-KG	74	0,48	<0,0001	15	-0,14	0,5930	59	0,55	<0,0001
L*	Ala	64	-0,05	0,6690	11	-0,43	0,1766	53	0,04	0,7632
L*	Asn	64	0,17	0,1895	11	0,12	0,7086	53	0,09	0,5205
L*	Asp	64	-0,15	0,2503	11	-0,32	0,3143	53	0,01	0,9290
L*	Citrato	64	0,05	0,7145	11	0,01	0,9771	53	-0,11	0,4421
L*	Fru	64	-0,30	0,0145	11	-0,28	0,3728	53	-0,06	0,6513
L*	Fumarato	64	-0,20	0,1058	11	-0,09	0,7737	53	-0,13	0,3383
L*	GABA	64	-0,35	0,0050	11	-0,55	0,0845	53	-0,14	0,3340
L*	Galactosa	64	-0,17	0,1920	11	-0,61	0,0541	53	0,09	0,5394
L*	Glc	64	-0,34	0,0064	11	-0,29	0,3576	53	-0,06	0,6752
L*	Gln	64	0,19	0,1391	11	0,47	0,1349	53	0,16	0,2577
L*	Glu	64	-0,24	0,0513	11	-0,42	0,1860	53	-0,10	0,4881
L*	Ile	64	0,05	0,6985	11	0,14	0,6663	53	0,14	0,3211

L*	LN	71	0,10	0,4240	8	0,45	0,2314	63	0,04	0,7575
L*	Malato	64	-0,01	0,9132	11	0,22	0,4902	53	-0,27	0,0483
L*	Manosa	64	-0,08	0,5135	11	-0,48	0,1276	53	0,16	0,2581
L*	Metanol	64	-0,17	0,1878	11	-0,22	0,4902	53	-0,06	0,6658
L*	pH	72	-0,36	0,0018	8	-0,62	0,1015	64	-0,30	0,0156
L*	Phe	64	-0,17	0,1852	11	0,39	0,2164	53	0,09	0,5430
L*	Piruvato	64	0,06	0,6105	11	0,28	0,3728	53	-0,13	0,3611
L*	SS	72	-0,14	0,2439	8	-0,07	0,8633	64	-0,18	0,1522
L*	Suc	64	-0,06	0,6549	11	0,05	0,8857	53	-0,11	0,4392
L*	Succinato	64	0,07	0,5816	11	0,26	0,4045	53	-0,16	0,2503
L*	TA	72	0,33	0,0042	8	0,60	0,1153	64	0,27	0,0326
L*	Thr	64	0,04	0,7474	11	0,34	0,2875	53	0,06	0,6604
L*	tCA	64	-0,01	0,9268	11	-0,34	0,2875	53	0,24	0,0786
L*	Trp	64	0,06	0,6347	11	0,10	0,7518	53	0,30	0,0298
L*	Tyr	64	0,15	0,2523	11	0,29	0,3576	53	0,19	0,1630
L*	Unk 1	64	-0,14	0,2666	11	-0,51	0,1074	53	0,04	0,7615
L*	Unk 2	64	-0,08	0,5076	11	-0,23	0,4723	53	-0,07	0,6342
L*	Val	64	0,04	0,7548	11	0,17	0,5849	53	0,09	0,5346
L*	Xilosa	64	-0,29	0,0195	11	0,21	0,5085	53	-0,14	0,3221
L*	α-KG	64	-0,39	0,0013	11	-0,48	0,1276	53	-0,18	0,1908
LN	Ala	35	-0,14	0,4099	3	-0,50	0,4795	32	-0,14	0,4476
LN	Asn	35	0,01	0,9674	3	0,50	0,4795	32	-0,04	0,8407
LN	Asp	35	-0,17	0,3226	3	-0,50	0,4795	32	-0,21	0,2568
LN	Citrato	35	0,06	0,7320	3	0,50	0,4795	32	0,01	0,9625
LN	Fru	35	-0,10	0,5810	3	-1,00	0,1573	32	-0,03	0,8839
LN	Fumarato	35	-0,28	0,0983	3	-0,50	0,4795	32	-0,30	0,0942
LN	GABA	35	-0,16	0,3629	3	-0,50	0,4795	32	-0,14	0,4302
LN	Galactosa	35	-0,12	0,4942	3	-1,00	0,1573	32	-0,02	0,8990
LN	Glc	35	-0,10	0,5667	3	-1,00	0,1573	32	0,01	0,9705
LN	Gln	35	0,08	0,6473	3	1,00	0,1573	32	-0,01	0,9641
LN	Glu	35	-0,09	0,5883	3	-0,50	0,4795	32	-0,10	0,5808
LN	Ile	35	0,11	0,5164	3	1,00	0,1573	32	0,11	0,5670
LN	Malato	35	-0,19	0,2807	3	1,00	0,1573	32	-0,34	0,0547
LN	Manosa	35	-0,18	0,2960	3	-1,00	0,1573	32	-0,17	0,3416
LN	Metanol	35	0,03	0,8512	3	0,50	0,4795	32	0,02	0,9259
LN	pH	90	-0,19	0,0808	15	-0,59	0,0208	75	-0,04	0,7261
LN	Phe	35	0,06	0,7392	3	0,50	0,4795	32	0,06	0,7633
LN	Piruvato	35	-0,25	0,1529	3	1,00	0,1573	32	-0,33	0,0659
LN	SS	90	0,25	0,0169	15	0,23	0,4061	75	0,23	0,0460
LN	Suc	35	-0,14	0,4372	3	0,5	0,4795	32	-0,18	0,3172
LN	Succinato	35	-0,32	0,0627	3	1,00	0,1573	32	-0,44	0,0118
LN	TA	90	0,18	0,0946	15	0,41	0,1259	75	0,06	0,6124
LN	Thr	35	0,14	0,4201	3	1,00	0,1573	32	0,10	0,5787
LN	tCA	35	0,11	0,5201	3	0,50	0,4795	32	0,11	0,5643
LN	Trp	35	0,08	0,6653	3	0,50	0,4795	32	0,08	0,6712
LN	Tyr	35	0,09	0,6112	3	1,00	0,1573	32	0,03	0,8517
LN	Unk 1	35	-0,25	0,1493	3	-0,50	0,4795	32	-0,20	0,2616
LN	Unk 2	35	-0,27	0,1169	3	0,50	0,4795	32	-0,34	0,0591

LN	Val	35	0,10	0,5657	3	1,00	0,1573	32	0,04	0,8274
LN	Xilosa	35	-0,16	0,3668	3	0,50	0,4795	32	-0,22	0,2281
LN	α-KG	35	-0,21	0,2350	3	-0,50	0,4795	32	-0,18	0,3313
Malato	Fumarato	74	0,26	0,0266	15	0,20	0,4624	59	0,33	0,0120
Malato	Galactosa	74	-0,02	0,8454	15	-0,32	0,2343	59	0,08	0,5577
Malato	Manosa	74	-0,08	0,5017	15	-0,35	0,1949	59	1,10E-03	0,9933
Malato	Metanol	74	0,20	0,0918	15	0,51	0,0543	59	0,16	0,2362
Malato	Phe	74	-0,08	0,4707	15	0,31	0,2450	59	-0,02	0,8804
Malato	Piruvato	74	0,64	<0,0001	15	0,88	0,0011	59	0,60	<0,0001
Malato	Suc	74	0,21	0,0750	15	0,48	0,0733	59	0,07	0,6178
Malato	Succinato	74	0,80	<0,0001	15	0,91	0,0006	59	0,79	<0,0001
Malato	Thr	74	0,17	0,1430	15	0,65	0,0150	59	0,09	0,5046
Malato	tCA	74	-0,02	0,8688	15	0,51	0,0543	59	-0,16	0,2206
Malato	Trp	74	-0,21	0,0763	15	0,20	0,4543	59	-0,26	0,0463
Malato	Tyr	74	0,07	0,5718	15	0,65	0,0145	59	-0,09	0,4886
Malato	Unk 1	74	0,44	0,0001	15	0,17	0,5212	59	0,57	<0,0001
Malato	Unk 2	74	0,53	<0,0001	15	0,48	0,0733	59	0,51	0,0001
Malato	Val	74	-0,02	0,8523	15	0,20	0,4543	59	-0,04	0,7764
Malato	Xilosa	74	0,29	0,0129	15	-0,01	0,9787	59	0,51	0,0001
Malato	α-KG	74	0,11	0,3367	15	-0,16	0,5388	59	0,32	0,0157
Manosa	tCA	74	0,32	0,0056	15	0,27	0,3162	59	0,12	0,3506
Metanol	Fumarato	74	0,47	0,0001	15	-0,41	0,1244	59	0,64	<0,0001
Metanol	Galactosa	74	0,05	0,6545	15	0,11	0,6787	59	-0,06	0,6225
Metanol	Manosa	74	0,27	0,0201	15	0,31	0,2505	59	0,16	0,2120
Metanol	Piruvato	74	0,25	0,0304	15	0,35	0,1949	59	0,42	0,0014
Metanol	Suc	74	0,13	0,2595	15	0,33	0,2140	59	0,13	0,3190
Metanol	Succinato	74	-0,04	0,7344	15	0,35	0,1949	59	-0,01	0,9454
Metanol	tCA	74	0,42	0,0004	15	0,86	0,0013	59	0,22	0,0927
Metanol	Tyr	74	0,43	0,0002	15	0,50	0,0614	59	0,38	0,0039
Metanol	Unk 1	74	0,37	0,0016	15	-0,12	0,6592	59	0,49	0,0002
Metanol	Unk 2	74	0,28	0,0152	15	0,26	0,3360	59	0,34	0,0097
Metanol	Xilosa	74	0,28	0,0175	15	0,11	0,6689	59	0,27	0,0412
Metanol	α-KG	74	0,56	<0,0001	15	-0,12	0,6592	59	0,62	<0,0001
pH	Ala	36	-0,03	0,8610	3	1,00	0,1573	33	-0,03	0,8607
pH	Asn	36	-0,07	0,7047	3	0,50	0,4795	33	-0,04	0,8289
pH	Asp	36	0,03	0,8446	3	1,00	0,1573	33	0,01	0,9441
pH	Citrato	36	-0,21	0,2228	3	0,50	0,4795	33	-0,23	0,2023
pH	Fru	36	0,49	0,0023	3	0,50	0,4795	33	0,49	0,0039
pH	Fumarato	36	0,36	0,0320	3	1,00	0,1573	33	0,33	0,0645
pH	GABA	36	0,26	0,1208	3	1,00	0,1573	33	0,23	0,1939
pH	Galactosa	36	-0,14	0,4011	3	0,50	0,4795	33	-0,19	0,2882
pH	Glc	36	0,44	0,0079	3	0,50	0,4795	33	0,43	0,0120
pH	Gln	36	-0,19	0,2797	3	-0,50	0,4795	33	-0,16	0,3821
pH	Glu	36	0,07	0,6668	3	1,00	0,1573	33	0,05	0,7732
pH	Ile	36	0,03	0,8615	3	-0,50	0,4795	33	0,07	0,6944
pH	Malato	36	-0,01	0,9370	3	-0,50	0,4795	33	0,01	0,9624
pH	Manosa	36	-0,07	0,6937	3	0,50	0,4795	33	-0,06	0,7555
pH	Metanol	36	0,32	0,0572	3	0,50	0,4795	33	0,34	0,0543

pH	Phe	36	-0,02	0,9086	3	0,50	0,4795	33	-0,01	0,9433
pH	Piruvato	36	0,16	0,3411	3	-0,50	0,4795	33	0,17	0,3381
pH	Suc	36	-0,10	0,5495	3	0,50	0,4795	33	-0,15	0,3908
pH	Succinato	36	-0,08	0,6468	3	-0,50	0,4795	33	-0,09	0,6312
pH	TA	93	-0,76	<0,0001	16	-0,82	0,0001	77	-0,74	<0,0001
pH	Thr	36	-0,07	0,6926	3	-0,50	0,4795	33	-0,01	0,9367
pH	tCA	36	-0,23	0,1834	3	0,50	0,4795	33	-0,25	0,1573
pH	Trp	36	-0,05	0,7861	3	0,50	0,4795	33	-0,03	0,8804
pH	Tyr	36	-0,27	0,1082	3	-0,50	0,4795	33	-0,23	0,2078
pH	Unk 1	36	0,20	0,2365	3	1,00	0,1573	33	0,14	0,4419
pH	Unk 2	36	0,15	0,3831	3	0,50	0,4795	33	0,13	0,4542
pH	Val	36	0,18	0,2866	3	-0,50	0,4795	33	0,22	0,2274
pH	Xilosa	36	0,09	0,5831	3	0,50	0,4795	33	0,10	0,5629
pH	α -KG	36	0,28	0,0950	3	1,00	0,1573	33	0,25	0,1628
Phe	Fumarato	74	0,34	0,0038	15	-0,37	0,1687	59	0,51	0,0001
Phe	Galactosa	74	0,02	0,8611	15	0,15	0,5746	59	-0,15	0,2477
Phe	Manosa	74	0,38	0,0013	15	0,48	0,0755	59	0,22	0,0982
Phe	Metanol	74	0,54	<0,0001	15	0,60	0,0256	59	0,46	0,0005
Phe	Piruvato	74	-0,05	0,6982	15	0,29	0,2732	59	0,16	0,2209
Phe	Suc	74	0,19	0,1115	15	0,16	0,5388	59	0,22	0,0878
Phe	Succinato	74	-0,23	0,0460	15	0,20	0,4624	59	-0,12	0,3424
Phe	Thr	74	0,71	<0,0001	15	0,50	0,0595	59	0,79	<0,0001
Phe	tCA	74	0,30	0,0114	15	0,46	0,0824	59	0,03	0,8465
Phe	Trp	74	0,78	<0,0001	15	0,77	0,0041	59	0,72	<0,0001
Phe	Tyr	74	0,74	<0,0001	15	0,55	0,0396	59	0,81	<0,0001
Phe	Unk 1	74	0,09	0,4427	15	-0,27	0,3162	59	0,16	0,2128
Phe	Unk 2	74	0,02	0,8948	15	-0,16	0,5476	59	0,12	0,3515
Phe	Val	74	0,59	<0,0001	15	-0,26	0,3360	59	0,81	<0,0001
Phe	Xilosa	74	0,19	0,1037	15	0,19	0,4705	59	0,11	0,4141
Phe	α -KG	74	0,48	<0,0001	15	-0,26	0,3293	59	0,46	0,0004
Piruvato	Fumarato	74	0,33	0,0049	15	0,31	0,2450	59	0,39	0,0032
Piruvato	Galactosa	74	0,25	0,0326	15	-0,17	0,5300	59	0,37	0,0052
Piruvato	Manosa	74	0,15	0,1971	15	-0,39	0,1416	59	0,41	0,0020
Piruvato	Suc	74	0,35	0,0027	15	0,41	0,1244	59	0,41	0,0018
Piruvato	tCA	74	-0,01	0,9553	15	0,35	0,1859	59	0,05	0,6881
Piruvato	Tyr	74	0,12	0,2885	15	0,57	0,0325	59	0,14	0,2987
Piruvato	Unk 1	74	0,62	<0,0001	15	0,39	0,1490	59	0,72	<0,0001
Piruvato	Unk 2	74	0,60	<0,0001	15	0,45	0,0897	59	0,65	<0,0001
Piruvato	Xilosa	74	0,24	0,0371	15	-0,05	0,8516	59	0,50	0,0001
Piruvato	α -KG	74	0,26	0,0238	15	0,04	0,8937	59	0,60	<0,0001
SL	a*/b*	158	0,03	0,6819	30	-0,38	0,0357	128	-0,01	0,9067
SL	Ala	64	-0,19	0,1353	11	-0,54	0,0899	53	-0,08	0,5459
SL	Asn	64	0,11	0,3796	11	-0,11	0,7301	53	0,13	0,3473
SL	Asp	64	-0,16	0,2104	11	-0,90	0,0044	53	0,02	0,8886
SL	Citrato	64	-0,03	0,8127	11	-0,03	0,9313	53	-0,12	0,4077
SL	Fru	64	0,25	0,0464	11	0,06	0,8405	53	0,29	0,0331
SL	Fumarato	64	0,36	0,0037	11	0,63	0,0473	53	0,31	0,0250
SL	GABA	64	0,12	0,3647	11	0,29	0,3576	53	0,06	0,6932

SL	Galactosa	64	-0,35	0,0043	11	-0,62	0,0506	53	-0,35	0,0095
SL	Glc	64	0,22	0,0838	11	-0,15	0,6250	53	0,30	0,0290
SL	Gln	64	0,28	0,0243	11	0,40	0,2059	53	0,23	0,0911
SL	Glu	64	-0,15	0,2416	11	-0,81	0,0105	53	-0,01	0,9374
SL	Ile	64	0,21	0,1012	11	-0,02	0,9542	53	0,23	0,0933
SL	L*	158	0,24	0,0023	30	0,44	0,0148	128	0,30	0,0007
SL	LN	71	0,22	0,0637	8	-0,45	0,2314	63	0,37	0,0030
SL	Malato	64	0,05	0,6672	11	0,45	0,1589	53	-0,08	0,5457
SL	Manosa	64	-0,31	0,0134	11	-0,92	0,0037	53	-0,24	0,0844
SL	Metanol	64	0,25	0,0493	11	-0,52	0,1013	53	0,37	0,0064
SL	pH	72	0,17	0,1656	8	0,60	0,1153	64	0,08	0,5345
SL	Phe	64	0,08	0,5325	11	-0,44	0,1676	53	0,18	0,2001
SL	Piruvato	64	0,07	0,5624	11	0,51	0,1074	53	-0,08	0,5868
SL	SS	72	0,09	0,4568	8	-0,73	0,0390	64	0,23	0,0627
SL	Suc	64	-0,06	0,6151	11	0,27	0,3884	53	-0,17	0,2106
SL	Succinato	64	-0,03	0,7974	11	0,54	0,0899	53	-0,18	0,1965
SL	TA	72	-0,13	0,2947	8	-0,5	0,1859	64	-0,06	0,6260
SL	Thr	64	0,27	0,0326	11	0,29	0,3576	53	0,22	0,1217
SL	tCA	64	0,01	0,9437	11	-0,48	0,1276	53	0,18	0,2053
SL	Trp	64	-0,10	0,4109	11	-0,65	0,0412	53	0,04	0,7854
SL	Tyr	64	0,18	0,1588	11	0,12	0,7086	53	0,16	0,2637
SL	Unk 1	64	0,32	0,0093	11	0,24	0,4548	53	0,26	0,0602
SL	Unk 2	64	0,07	0,5559	11	0,24	0,4548	53	-0,02	0,8743
SL	Val	64	0,37	0,0023	11	0,57	0,0701	53	0,32	0,0204
SL	Xilosa	64	0,03	0,8238	11	-0,16	0,6048	53	0,02	0,9076
SL	α -KG	64	0,11	0,3714	11	0,34	0,2875	53	0,07	0,6126
SS	Ala	36	-0,07	0,6832	3	1,00	0,1573	33	4,50E-03	0,9801
SS	Asn	36	-0,05	0,7611	3	0,50	0,4795	33	1,70E-04	0,9993
SS	Asp	36	-0,11	0,5319	3	1,00	0,1573	33	-0,06	0,7481
SS	Citrato	36	0,02	0,8896	3	0,50	0,4795	33	-0,04	0,8358
SS	Fru	36	0,37	0,0276	3	0,50	0,4795	33	0,41	0,0179
SS	Fumarato	36	0,17	0,3172	3	1,00	0,1573	33	0,10	0,5883
SS	GABA	36	0,23	0,1824	3	1,00	0,1573	33	0,24	0,1774
SS	Galactosa	36	-0,12	0,4965	3	0,50	0,4795	33	-0,14	0,4284
SS	Glc	36	0,34	0,0401	3	0,50	0,4795	33	0,40	0,0222
SS	Gln	36	-0,14	0,4311	3	-0,50	0,4795	33	-0,08	0,6755
SS	Glu	36	4,60E-03	0,9786	3	1,00	0,1573	33	0,05	0,7813
SS	Ile	36	-0,08	0,6457	3	-0,50	0,4795	33	0,02	0,9050
SS	Malato	36	0,02	0,9138	3	-0,50	0,4795	33	-0,04	0,8395
SS	Manosa	36	-0,30	0,0740	3	0,50	0,4795	33	-0,20	0,2526
SS	Metanol	36	0,19	0,2769	3	0,50	0,4795	33	0,27	0,1217
SS	pH	93	0,33	0,0011	16	-0,28	0,2981	77	0,56	<0,0001
SS	Phe	36	-0,17	0,3300	3	0,50	0,4795	33	-0,06	0,7292
SS	Piruvato	36	0,22	0,2025	3	-0,50	0,4795	33	0,14	0,4433
SS	Suc	36	0,03	0,8831	3	0,50	0,4795	33	-0,03	0,8474
SS	Succinato	36	-0,08	0,6238	3	-0,50	0,4795	33	-0,20	0,2622
SS	TA	93	1,10E-03	0,9917	16	0,51	0,0443	77	-0,25	0,0302
SS	Thr	36	-0,15	0,3939	3	-0,50	0,4795	33	-0,03	0,8598

SS	tCA	36	-0,22	0,1883	3	0,50	0,4795	33	-0,13	0,4602
SS	Trp	36	-0,26	0,1213	3	0,50	0,4795	33	-0,15	0,3900
SS	Tyr	36	-0,34	0,0417	3	-0,50	0,4795	33	-0,22	0,2150
SS	Unk 1	36	0,22	0,1888	3	1,00	0,1573	33	0,14	0,4529
SS	Unk 2	36	0,03	0,8607	3	0,50	0,4795	33	-0,02	0,8984
SS	Val	36	0,09	0,5928	3	-0,50	0,4795	33	0,13	0,4654
SS	Xilosa	36	-0,02	0,9061	3	0,50	0,4795	33	-4,50E-03	0,9801
SS	α -KG	36	0,23	0,1771	3	1,00	0,1573	33	0,25	0,1629
Suc	Fumarato	74	0,17	0,1519	15	0,31	0,2450	59	0,12	0,3679
Suc	Galactosa	74	-0,10	0,3715	15	-0,12	0,6592	59	-0,07	0,5770
Suc	Manosa	74	0,06	0,5903	15	-0,20	0,4624	59	0,17	0,2060
Suc	tCA	74	0,23	0,0508	15	0,63	0,0187	59	0,21	0,1032
Suc	Tyr	74	0,35	0,0027	15	0,43	0,1088	59	0,35	0,0085
Suc	Unk 1	74	0,15	0,1913	15	0,30	0,2617	59	0,13	0,3357
Suc	Unk 2	74	0,18	0,1277	15	0,50	0,0595	59	0,07	0,6028
Suc	Xilosa	74	0,02	0,8661	15	-0,40	0,1345	59	0,13	0,3129
Suc	α -KG	74	0,17	0,1531	15	0,23	0,3924	59	0,18	0,1824
Succinato	Fumarato	74	0,24	0,0425	15	0,34	0,2091	59	0,27	0,0391
Succinato	Galactosa	74	0,09	0,4563	15	-0,27	0,3162	59	0,22	0,0887
Succinato	Manosa	74	-0,08	0,5076	15	-0,49	0,0692	59	0,08	0,5527
Succinato	Piruvato	74	0,57	<0,0001	15	0,96	0,0003	59	0,43	0,0010
Succinato	Suc	74	0,09	0,4537	15	0,47	0,0777	59	-0,02	0,8702
Succinato	tCA	74	-0,15	0,2122	15	0,39	0,1452	59	-0,16	0,2368
Succinato	Tyr	74	-0,07	0,5620	15	0,59	0,0275	59	-0,16	0,2214
Succinato	Unk 1	74	0,32	0,0057	15	0,37	0,1687	59	0,36	0,0060
Succinato	Unk 2	74	0,42	0,0003	15	0,47	0,0800	59	0,41	0,0020
Succinato	Xilosa	74	0,22	0,0637	15	-0,14	0,5930	59	0,42	0,0014
Succinato	α -KG	74	0,03	0,8038	15	-0,02	0,9467	59	0,24	0,0728
TA	Ala	36	-0,21	0,2191	3	-0,50	0,4795	33	-0,12	0,5092
TA	Asn	36	-0,02	0,9293	3	0,50	0,4795	33	-4,90E-03	0,9786
TA	Asp	36	-0,16	0,3530	3	-0,50	0,4795	33	-0,06	0,7316
TA	Citrato	36	0,42	0,0107	3	0,50	0,4795	33	0,40	0,0215
TA	Fru	36	-0,41	0,0141	3	-1,00	0,1573	33	-0,35	0,0459
TA	Fumarato	36	-0,31	0,0646	3	-0,50	0,4795	33	-0,36	0,0398
TA	GABA	36	-0,22	0,2042	3	-0,50	0,4795	33	-0,15	0,4116
TA	Galactosa	36	0,11	0,5399	3	-1,00	0,1573	33	0,22	0,2170
TA	Glc	36	-0,36	0,0321	3	-1,00	0,1573	33	-0,29	0,1064
TA	Gln	36	0,11	0,5275	3	1,00	0,1573	33	0,12	0,5015
TA	Glu	36	-0,13	0,4401	3	-0,50	0,4795	33	-0,04	0,8180
TA	Ile	36	-0,29	0,0884	3	1,00	0,1573	33	-0,23	0,2051
TA	Malato	36	0,14	0,4207	3	1,00	0,1573	33	0,05	0,7915
TA	Manosa	36	-0,15	0,3796	3	-1,00	0,1573	33	-0,02	0,9191
TA	Metanol	36	-0,32	0,0542	3	0,50	0,4795	33	-0,25	0,1649
TA	Phe	36	-0,28	0,0955	3	0,50	0,4795	33	-0,17	0,3527
TA	Piruvato	36	0,04	0,8201	3	1,00	0,1573	33	-0,09	0,6055
TA	Suc	36	0,18	0,2944	3	0,50	0,4795	33	0,18	0,3167
TA	Succinato	36	0,25	0,1385	3	1,00	0,1573	33	0,16	0,3626
TA	Thr	36	-0,10	0,5655	3	1,00	0,1573	33	-0,06	0,7427

TA	tCA	36	0,13	0,4361	3	0,50	0,4795	33	0,30	0,0898
TA	Trp	36	-0,25	0,1381	3	0,50	0,4795	33	-0,13	0,4562
TA	Tyr	36	0,01	0,9560	3	1,00	0,1573	33	0,09	0,6277
TA	Unk 1	36	1,40E-03	0,9935	3	-0,50	0,4795	33	-3,50E-03	0,9845
TA	Unk 2	36	-0,06	0,7174	3	0,50	0,4795	33	-0,09	0,6067
TA	Val	36	-0,26	0,1190	3	1,00	0,1573	33	-0,32	0,0680
TA	Xilosa	36	0,09	0,6121	3	0,50	0,4795	33	0,09	0,6080
TA	α-KG	36	-0,23	0,1835	3	-0,50	0,4795	33	-0,15	0,4031
Thr	Fumarato	74	0,27	0,0199	15	-0,22	0,4150	59	0,36	0,0055
Thr	Galactosa	74	-0,03	0,7958	15	-0,44	0,0975	59	0,01	0,9585
Thr	Manosa	74	0,25	0,0345	15	-0,13	0,6400	59	0,26	0,0494
Thr	Metanol	74	0,51	<0,0001	15	0,44	0,1030	59	0,49	0,0002
Thr	Piruvato	74	0,26	0,0260	15	0,59	0,0265	59	0,32	0,0136
Thr	Suc	74	0,23	0,0532	15	0,30	0,2617	59	0,20	0,1195
Thr	Succinato	74	0,02	0,8551	15	0,57	0,0325	59	-0,02	0,8632
Thr	tCA	74	0,20	0,0862	15	0,47	0,0800	59	0,09	0,5169
Thr	Trp	74	0,60	<0,0001	15	0,64	0,0174	59	0,64	<0,0001
Thr	Tyr	74	0,82	<0,0001	15	0,95	0,0004	59	0,79	<0,0001
Thr	Unk 1	74	0,25	0,0345	15	-0,18	0,5040	59	0,35	0,0084
Thr	Unk 2	74	0,19	0,1039	15	-3,60E-03	0,9893	59	0,26	0,0444
Thr	Val	74	0,74	<0,0001	15	0,30	0,2617	59	0,83	<0,0001
Thr	Xilosa	74	0,24	0,0425	15	-0,29	0,2732	59	0,30	0,0214
Thr	α-KG	74	0,51	<0,0001	15	-0,25	0,3427	59	0,62	<0,0001
Trp	Fumarato	74	0,04	0,7486	15	-0,54	0,0450	59	0,18	0,1767
Trp	Galactosa	74	0,15	0,2107	15	0,03	0,9255	59	-0,01	0,9103
Trp	Manosa	74	0,48	<0,0001	15	0,48	0,0712	59	0,33	0,0116
Trp	Metanol	74	0,38	0,0010	15	0,56	0,0359	59	0,22	0,0891
Trp	Piruvato	74	-0,04	0,7503	15	0,11	0,6885	59	0,12	0,3435
Trp	Suc	74	0,20	0,0937	15	0,28	0,2911	59	0,26	0,0491
Trp	Succinato	74	-0,27	0,0205	15	0,08	0,7790	59	-0,23	0,0796
Trp	tCA	74	0,48	<0,0001	15	0,65	0,0150	59	0,26	0,0451
Trp	Tyr	74	0,72	<0,0001	15	0,73	0,0064	59	0,78	<0,0001
Trp	Unk 1	74	0,01	0,9165	15	-0,23	0,3851	59	0,07	0,6000
Trp	Unk 2	74	-0,08	0,4777	15	-0,25	0,3427	59	0,01	0,9585
Trp	Val	74	0,45	0,0001	15	-0,15	0,5838	59	0,69	<0,0001
Trp	Xilosa	74	0,11	0,3412	15	-0,06	0,8099	59	0,04	0,7764
Trp	α-KG	74	0,27	0,0189	15	-0,32	0,2343	59	0,25	0,0528
Tyr	Galactosa	74	-0,12	0,2864	15	-0,35	0,1949	59	-0,14	0,2722
Tyr	Manosa	74	0,25	0,0336	15	-0,06	0,8203	59	0,24	0,0707
Tyr	tCA	74	0,37	0,0017	15	0,59	0,0265	59	0,27	0,0412
Tyr	Unk 2	74	0,13	0,2670	15	0,05	0,8411	59	0,17	0,1993
Tyr	Xilosa	74	0,10	0,4129	15	-0,40	0,1380	59	0,17	0,2081
Tyr	α-KG	74	0,34	0,0034	15	-0,31	0,2450	59	0,43	0,0009
Unk 1	Fumarato	74	0,38	0,0013	15	0,60	0,0248	59	0,33	0,0116
Unk 1	Galactosa	74	0,22	0,0594	15	0,42	0,1148	59	0,14	0,2698
Unk 1	Manosa	74	0,11	0,3403	15	-0,05	0,8621	59	0,16	0,2340
Unk 1	tCA	74	0,11	0,3333	15	0,14	0,6023	59	0,11	0,4151
Unk 1	Tyr	74	0,12	0,2971	15	-0,14	0,6116	59	0,19	0,1432

Unk 1	Unk 2	74	0,60	<0,0001	15	0,60	0,0239	59	0,63	<0,0001
Unk 1	Xilosa	74	0,39	0,0009	15	-0,06	0,8307	59	0,45	0,0006
Unk 1	α -KG	74	0,56	<0,0001	15	0,58	0,0304	59	0,58	<0,0001
Unk 2	Galactosa	74	0,23	0,0530	15	0,17	0,5300	59	0,27	0,0365
Unk 2	Manosa	74	0,19	0,1100	15	-0,19	0,4705	59	0,31	0,0177
Unk 2	tCA	74	0,05	0,6516	15	0,41	0,1244	59	0,03	0,8052
Unk 2	Xilosa	74	0,32	0,0063	15	-0,14	0,6023	59	0,47	0,0004
Unk 2	α -KG	74	0,41	0,0005	15	0,35	0,1859	59	0,52	0,0001
Val	Fumarato	74	0,44	0,0002	15	0,60	0,0256	59	0,43	0,0011
Val	Galactosa	74	-0,23	0,0512	15	-0,68	0,0111	59	-0,14	0,2878
Val	Manosa	74	0,08	0,5066	15	-0,55	0,0396	59	0,22	0,0943
Val	Metanol	74	0,37	0,0017	15	-0,39	0,1416	59	0,52	0,0001
Val	Piruvato	74	0,16	0,1785	15	0,16	0,5388	59	0,25	0,0589
Val	Suc	74	0,20	0,0891	15	0,21	0,4305	59	0,20	0,1261
Val	Succinato	74	-0,12	0,2993	15	0,17	0,5212	59	-0,15	0,2519
Val	tCA	74	-0,02	0,8934	15	-0,25	0,3565	59	0,10	0,4586
Val	Tyr	74	0,68	<0,0001	15	0,18	0,4955	59	0,81	<0,0001
Val	Unk 1	74	0,27	0,0224	15	0,03	0,9043	59	0,32	0,0158
Val	Unk 2	74	0,21	0,0724	15	0,14	0,5930	59	0,25	0,0579
Val	Xilosa	74	0,23	0,0490	15	-0,29	0,2850	59	0,28	0,0310
Val	α -KG	74	0,54	<0,0001	15	0,28	0,3035	59	0,59	<0,0001
Xilosa	Manosa	74	0,29	0,0146	15	0,26	0,3227	59	0,25	0,0600
Xilosa	tCA	74	0,04	0,7151	15	-0,10	0,7182	59	-0,07	0,6059
α -KG	Galactosa	74	0,31	0,0079	15	0,10	0,7083	59	0,30	0,0211
α -KG	Manosa	74	0,40	0,0006	15	-0,10	0,6984	59	0,43	0,0011
α -KG	tCA	74	0,16	0,1824	15	-0,09	0,7283	59	0,06	0,6737
α -KG	Xilosa	74	0,43	0,0002	15	-0,15	0,5838	59	0,41	0,0019

Anexo 8. Gen, proteína y conteo de lecturas filtradas y normalizadas de cada uno de los 200 genes expresados diferencialmente, obtenidos con un FDR<0,001 y log2FC |2|, y considerando las seis combinaciones realizadas entre los cuatro genotipos. Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), QxG (FQ), GxQ (FG)

ITAG 4.0		Conteos											
gen	proteína	Q	Q	Q	G	G	G	FQ	FQ	FQ	FG	FG	FG
Solyc01g005220.3	Proteína que contiene el dominio MACPF (AHRD V3.3 *** A0A2G3AYJ5_CAPCH)	740	642	365	94	74	150	385	236	311	966	529	1279
Solyc01g005760.3	NL0D (AHRD V3.3 *** Q9ZS82_SOLLC)	544	572	199	201	192	480	95	41	57	1633	419	1513
Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	210	164	232	235	196	346	682	382	331	850	742	740
Solyc01g065530.3	Proteína similar a COBRA (AHRD V3.3 *** A0A2G3AIT3_CAPAN)	11595	7677	3625	10604	6207	22226	5461	1896	1992	27113	25991	28166
Solyc01g067090.4	Proteína repetida de dipéptido de ácido glutámico-arginina (AHRD V3.3 *-* Q8GZA1_ARATH)	1390	1585	1263	3119	1900	4004	2312	2093	2616	5978	6232	7954
Solyc01g079260.4	factor de transcripción WRKY 23	1165	869	567	1250	898	2064	290	135	184	1921	985	1367
Solyc01g079480.3	Factor de transcripción BZIP (AHRD V3.3 *** C0LQL1_9CARY)	3101	2649	1111	2873	1714	4676	1184	1175	906	5431	3847	3903
Solyc01g079530.4	Proteína de la superfamilia de dedos de zinc RING/FYVE/PHD (AHRD V3.3 *** A0A2U1LZL6_ARTAN)	128	49	45	53	33	121	43	34	22	405	278	506
Solyc01g079600.4	Proteína de la superfamilia de alfa/beta-hidrolasas (AHRD V3.3 *** A0A2U1L2I9_ARTAN)	1639	1358	931	1897	1004	2581	663	438	489	3457	2264	3735
Solyc01g080500.2	Proteína vegetal/F10N7-170, putativa (AHRD V3.3 *** G7IFN2_MEDTR)	5199	5057	2248	3980	2686	4904	1756	1240	1502	7801	7658	7735
Solyc01g086960.3	Dedo de zinc A20 y proteína asociada al estrés del dominio AN1 (AHRD V3.3 *** A0A2K3LXD0_TRIPR)	9791	8663	4907	7964	5211	12173	3516	2659	2686	13444	14898	15759
Solyc01g087250.3	escisión de carotenoides dioxigenasa 1A	206	184	122	1220	1342	1920	831	486	524	589	596	565
Solyc01g087980.4	Proteína que contiene el dominio DUF793 (AHRD V3.3 *** A0A1Q3CNG5_CEPFO)	1967	1629	668	464	223	811	298	355	421	5154	4320	5818
Solyc01g094410.3	Proteína de la familia de fosforribosiltransferasa vegetal de unión a lípidos/calcio C2 (AHRD V3.3 *** A0A061G6B5_THECC)	5365	3362	1215	7032	3998	10922	2127	801	831	7392	9791	9895
Solyc01g095630.3	factor de transcripción WRKY 41	1901	1344	146	338	265	939	15	21	20	2853	876	1411
Solyc01g098580.3	Proteína similar a la fosfoglicerato mutasa AT74H (AHRD V3.3 *** A0A2G3BUB5_CAPCH)	238	257	133	301	158	358	89	138	92	439	394	608
Solyc01g098800.4	Intercambiador de cationes/calcio 5 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BUD8_CAPCH)	1089	903	528	953	567	1543	385	272	206	1617	903	1475
Solyc01g099040.4	GDSL esterasa/lipasa (AHRD V3.3 *** A0A199UFA2_ANACO)	806	642	557	1013	605	946	3400	2009	1803	251	640	476
Solyc01g099370.3	Proteína familiar de unión a lípidos dependiente de calcio (dominio CaLB) (AHRD V3.3 *-* F4JK83_ARATH)	8748	7168	1959	6651	2736	11013	1512	1076	1202	13655	14987	15600
Solyc01g099520.3	Factor de alcalinización rápida (AHRD V3.3 *** RALF_TOBAC)	1972	1692	496	988	395	1447	443	294	317	2362	1946	2323
Solyc01g100000.3	Dominio de caja F, proteína similar a la proteína 2 del floema (AHRD V3.3 *** A0A2U1MNC1_ARTAN)	321	261	99	201	127	251	50	58	58	418	298	287
Solyc01g100200.3	hierba4	2221	1755	768	1390	609	2049	676	338	290	2614	1805	2393
Solyc01g102610.3	Reducción férrica oxidasa 6 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BUN6_CAPCH)	2096	2348	1644	632	551	954	560	967	602	284	332	289
Solyc01g102840.3	Proteína de resistencia a enfermedades (clase TIR-NBS-LRR) (AHRD V3.3 *** A0A2U1NT16_ARTAN)	1665	902	368	1464	802	2888	403	321	328	3384	2751	4357
Solyc01g105660.4	2-oxoglutarato (2OG) y proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de Fe(II) (AHRD V3.3 *** F4INZ9_ARATH)	153	182	88	4063	3800	5103	2968	2182	2544	1955	2692	2160
Solyc01g106280.3	Proteína de unión a ARN de PSTVd	7700	5957	2780	6163	3642	10010	2781	1558	1987	12147	9979	11438

Solyc01g106290.3	Proteína desconocida	383	329	209	304	166	684	57	75	87	888	556	872
Solyc01g106390.3	Glutamyl-tRNA reductasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2Y3E1_CAPAN)	2091	1761	326	650	403	1643	460	221	280	6159	4463	7977
Solyc01g107080.3	Proteína de la familia de aciltransferasa tipo HXXXD (AHRD V3.3 *** A0A2K3MR10_TRIPR)	10	6	3	216	225	269	101	53	119	49	62	50
Solyc01g107290.3	Proteína de la superfamilia RING/U-box (AHRD V3.3 *-* A0A2U1QJN2_ARTAN)	2343	1005	501	1688	864	3163	359	331	393	3865	3080	4135
Solyc01g107740.3	Proteína que contiene el dominio C2 (AHRD V3.3 *** B1Q483_CAPCH)	747	730	870	1250	907	1783	1370	766	1056	3660	2628	3671
Solyc01g107980.3	Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *** A0A2G2W990_CAPBA)	325	256	104	62	53	71	76	44	45	561	240	516
Solyc01g108100.3	Proteína 27 regulada en frío (AHRD V3.3 *** AT5G42900.2)	207	164	159	201	120	207	174	175	189	1593	1366	1682
Solyc01g109120.3	Proteína de la superfamilia similar a la transducina/WD40 (AHRD V3.3 *** A0A2U1MAA7_ARTAN)	1291	671	299	862	746	4226	102	36	63	7448	6576	8163
Solyc01g110310.3	Factor de transcripción GATA (AHRD V3.3 *** K4B3P4_SOLLC)	898	750	348	619	248	834	103	194	189	1227	991	1354
Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	428	607	515	569	581	797	421	281	227	110	145	119
Solyc01g150166.1	Proteína desconocida	173	119	158	790	620	1117	432	439	434	649	548	572
Solyc02g065270.1	Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *-* A0A2G3D300_CAPCH)	7	17	34	3262	1750	4535	1895	1863	1957	1167	1046	1406
Solyc02g065280.3	Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3D300_CAPCH)	67	85	75	0	0	0	120	159	167	141	188	430
Solyc02g071220.3	regulador de respuesta tipo A2	226	172	63	92	29	165	44	33	23	325	301	510
Solyc02g072080.1	Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *** A1E0Y2_SOLTU)	3147	2582	477	1956	890	4250	684	231	292	7875	6257	9041
Solyc02g079010.4	Proteína expresada en fibra de algodón (AHRD V3.3 *** A0A109XNG5_GOSHI)	133	125	109	79	52	125	10	17	33	331	178	386
Solyc02g079590.3	Receptor de proteína quinasa (AHRD V3.3 *** Q40096_IPOTF)	1236	597	893	1325	646	1538	405	299	325	1123	1319	1803
Solyc02g082100.4	Proteína de la superfamilia RING/U-box (AHRD V3.3 *-* F4IIX4_ARATH)	303	226	90	272	162	488	65	105	59	785	502	1060
Solyc02g082260.3	3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa	351	334	109	206	135	404	135	118	147	1406	832	1773
Solyc02g083820.1	Armadillo repite solo 2 (AHRD V3.3 *** Q9FKW5_ARATH)	1015	771	254	535	409	1075	427	192	206	1948	1388	2190
Solyc02g083835.1	Proteína chaperona DnaJ (AHRD V3.3 *** A0A2G2XG76_CAPBA)	271	374	281	224	241	244	634	585	409	78	116	75
Solyc02g084720.3	beta-galactosidasa 6	527	475	293	267	169	323	129	97	190	73	71	58
Solyc02g084890.3	Resistencia a enfermedades Proteína 4 similar a RPP13 (AHRD V3.3 *** A0A2G2XGN6_CAPBA)	1752	1208	134	428	314	1482	67	25	44	5850	2515	4412
Solyc02g084990.3	Manano endo-1,4-beta-manosidasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3NB99_TRIPR)	939	1054	1332	468	710	613	500	282	319	122	71	69
Solyc02g087350.3	Hexosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2XIE5_CAPBA)	4161	3431	732	1299	618	2375	152	269	361	7546	5814	6803
Solyc02g087850.1	Glutaredoxina (AHRD V3.3 *** A0A200QSA1_9MAGN)	1393	1054	247	621	362	1132	101	68	59	1202	688	848
Solyc02g090870.1	proteína hipotética (AHRD V3.3 *** AT5G67020.1)	1238	1010	280	940	310	759	144	146	220	1944	1892	2409
Solyc02g090970.1	MAP quinasa quinasa quinasa 21	260	253	112	155	89	234	82	24	20	512	430	665
Solyc02g091500.1	Proteína quinasa dependiente de calcio (AHRD V3.3 *-* CDPK_DAUCA)	1223	1259	383	717	243	1039	60	129	140	1987	1452	2019
Solyc02g091700.3	Glicoproteína rica en hidroxiprolina (AHRD V3.3 *** A0A2K3L507_TRIPR)	468	359	164	284	206	600	349	338	183	1436	1505	1485
Solyc02g092930.1	R2R3MYB factor de transcripción 44	5468	4654	1245	3639	1974	4614	2011	1308	1018	9010	10523	9363
Solyc02g092990.1	Proteína de caja F (AHRD V3.3 *** A0A2G2XGV7_CAPBA)	1261	1160	578	666	393	1115	784	352	438	2336	1641	3375
Solyc02g093430.3	Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** Q9LT58_ARATH)	682	549	327	476	388	668	701	333	368	1868	1554	1900

Solyc02g093600.3	Proteína de choque térmico de clase I (AHRD V3.3 *** A0A2K3K1J3_TRIPR)	5751	8183	4071	6246	2016	5952	7271	3961	5559	1228	1214	1040
Solyc02g094030.3	DSR6 (AHRD V3.3 *** A0A076V4W1_CAPAN)	1780	1419	413	829	413	825	310	248	205	2718	2204	2436
Solyc03g006610.3	Proteína activadora Arf GTPase (AHRD V3.3 *** A0A200RBV9_9MAGN)	313	146	154	245	184	447	138	91	96	1168	483	606
Solyc03g007460.3	Solanum lycopersicum Factor de respuesta de citoquinina 4	157	93	52	70	59	134	23	37	43	366	316	502
Solyc03g026280.3	Factor de unión de repetición C 1	1901	1258	136	1206	391	3376	45	81	41	5471	4759	5807
Solyc03g081240.3	APRR9 tipo regulador de respuesta de dos componentes (AHRD V3.3 *** A0A2G2X7Z8_CAPBA)	230	184	75	171	105	99	76	53	67	462	326	395
Solyc03g118470.4	Nudix hidrolasa 4 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CZQ7_CAPCH)	4142	2861	582	1961	1243	5005	182	339	306	10818	9464	10524
Solyc03g118810.1	Alérgeno fijador de calcio Ole e 8 (AHRD V3.3 *** A0A2G2WQF6_CAPBA)	2121	1595	647	660	217	1025	85	160	188	3152	2588	2720
Solyc03g120990.3	Enzima málica (AHRD V3.3 *** A0A2G3D1G2_CAPCH)	63	23	16	24	22	80	0	5	8	563	223	775
Solyc03g121620.1	Embriogénesis tardía abundante (LEA) familia de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (AHRD V3.3 *** A0A2U1MMJ0_ARTAN)	2574	2156	493	1077	560	2080	350	281	273	5025	4038	4655
Solyc03g122350.3	Citocromo P450 (AHRD V3.3 *** Q43795_TOBAC)	3205	2543	1138	926	680	2347	250	214	219	6229	2031	6184
Solyc04g005480.1	similar a la proteína 1 relacionada con la nodulina (AHRD V3.3 *** A0A2I4FXG1_9ROSI)	3555	3489	1089	2407	1267	4508	889	789	824	7493	6578	8463
Solyc04g005670.3	Proteína F-box/kelch-repeat (AHRD V3.3 *** A0A2G3CYH7_CAPCH)	4699	3653	2172	3738	1481	4582	1822	813	1119	7262	4625	6658
Solyc04g007250.1	proteína transmembrana (AHRD V3.3 *** AT1G25400.2)	26	36	17	24	10	73	18	7	13	175	267	195
Solyc04g009440.3	Proteína de dominio NAC AY498713	637	612	167	296	137	305	150	99	129	1731	827	1449
Solyc04g014510.3	glutamina sintasa	348	523	551	38	42	55	22	17	24	9	5	7
Solyc04g055170.3	anexina p35	1722	1863	1728	402	314	540	1615	655	1122	391	339	337
Solyc04g071030.1	Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *** A0A2G2WYL4_CAPBA)	1891	1642	521	429	128	737	48	110	161	3518	2697	4151
Solyc04g071480.1	Proteína vegetal/F1M20-13 (AHRD V3.3 *** G7IBZ7_MEDTR)	6538	5104	2015	4283	2417	8843	1521	968	903	9913	10458	11923
Solyc04g072780.4	Dedo de zinc tipo FCS 5 (AHRD V3.3 *** FLZ5_ARATH)	589	695	562	261	179	317	252	246	198	103	111	74
Solyc04g072900.1	proteína de unión a elementos sensible a la deshidratación 3	3444	2814	919	3178	1519	4857	1170	1004	899	7490	8980	7667
Solyc04g074430.2	Proteína similar a EXORDIUM 1 (AHRD V3.3 *- A0A2G2ZQI6_CAPAN)	239	140	30	63	29	169	38	14	12	1365	982	844
Solyc04g074440.1	Proteína similar a EXORDIUM 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G2ZQI6_CAPAN)	3057	2114	431	885	326	2439	208	153	169	8471	5321	6416
Solyc04g074830.1	Proteína de la superfamilia ENTH/ANTH/VHS (AHRD V3.3 *** A0A2U1QGP5_ARTAN)	424	499	132	170	268	381	166	81	152	1660	1094	1593
Solyc04g077470.3	Celulosa sintasa similar a C4, familia de glicosiltransferasa 2 (AHRD V3.3 *** A9TYJ5_PHYPA)	1858	1018	610	1336	727	2653	346	156	161	3552	2264	3731
Solyc04g077980.1	Proteína con dedos de zinc tipo C2H2	7480	7029	1614	3879	1817	6144	316	748	720	10777	10844	10824
Solyc04g078550.3	factor de transcripción WRKY 7	1844	1429	625	743	489	1344	692	419	477	3165	1734	3293
Solyc04g078880.3	Proteína 27 regulada en frío (AHRD V3.3 *** AT5G42900.2)	323	293	134	242	79	362	162	109	178	2380	2179	2949
Solyc04g082960.1	Poli polimerasa (AHRD V3.3 *** Q9C9J8_ARATH)	903	865	294	188	107	412	80	60	76	1249	662	1370
Solyc05g005260.3	Similar a ADN ligasa 1 (AHRD V3.3 *** A0A1U7VHC8_NICSY)	1453	1484	442	509	345	873	222	184	287	1224	1481	1595
Solyc05g005990.3	Proteína NRT1/ FAMILIA PTR 1.1 (AHRD V3.3 *- PTR32_ARATH)	193	260	135	11	5	7	142	47	58	80	33	77
Solyc05g006370.2	Proteína desconocida	0	0	0	386	240	500	134	182	160	200	202	150
Solyc05g006470.4	Subunidad compleja de proteína relacionada con actina 2/3 (AHRD V3.3 *** A0A2I4F971_9ROSI)	493	474	356	2864	1450	3151	1021	1109	987	1477	1742	1450

Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	2038	3543	1132	1228	660	1074	222	232	242	143	200	217
Solyc05g013580.4	Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1NH94_ARTAN)	1336	1260	574	1270	653	1785	437	221	231	1223	1247	1050
Solyc05g016310.1	Proteína de la familia de aspartil proteasas eucariotas (AHRD V3.3 *** G7KD30_MEDTR)	1047	761	173	371	188	816	66	25	45	2124	912	1677
Solyc05g051400.4	Proteína 6 de desacoplamiento mitocondrial (AHRD V3.3 *** A0A2G3CG15_CAPCH)	4932	4753	1470	4287	1529	4622	484	593	738	6253	3787	5108
Solyc05g052520.3	Proteína fosfatasa 2C (AHRD V3.3 *** O24078_MEDSA)	3283	3027	584	1550	790	2166	469	433	443	7776	7704	8640
Solyc05g052550.1	Proteína 47 que contiene el dominio CCCH con dedos de zinc (AHRD V3.3 *-* A0A1U8GQ71_CAPAN)	5810	4404	1197	4917	2575	7916	400	413	486	9563	9606	9183
Solyc05g052560.1	Proteína desconocida	3209	2474	587	2467	1896	3834	311	227	231	4812	5855	5809
Solyc05g052570.3	Factor de transcripción de dedo de zinc 39	15441	11424	3353	12992	6582	17907	1101	1266	1202	23969	23226	23612
Solyc05g053760.4	Proteína chaperona DnaJ (AHRD V3.3 *** A0A2G3AV72_CAPCH)	431	445	171	363	220	553	131	171	202	1125	827	1479
Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	980	1011	529	732	648	1022	305	154	122	170	81	104
Solyc06g005280.1	Subunidad de exoquiste Proteína de la familia Exo70 (AHRD V3.3 *** A0A1S6GXB7_TOBAC)	23	13	2	22	28	43	0	0	0	73	69	80
Solyc06g005650.2	Ubiquitina-proteína ligasa E3 (AHRD V3.3 *** A0A1U8GX66_CAPAN)	6635	6159	2057	6018	3204	8054	1143	1180	899	11694	11453	10186
Solyc06g008250.3	Dominio Ypt/Rab-GAP de la proteína de la superfamilia gyp1p (AHRD V3.3 *** A0A2U1P1B5_ARTAN)	747	704	567	797	495	1067	656	401	387	2300	1232	2355
Solyc06g035620.3	Factor de transcripción GRAS (AHRD V3.3 *** A0A200QMI2_9MAGN)	1837	1544	281	1534	635	1953	114	141	122	3579	3489	4895
Solyc06g035960.3	Oxalato--CoA ligasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8FIW0_CAPAN)	1589	915	468	860	370	2290	311	106	133	4543	3025	7145
Solyc06g051010.1	Péptido-N4-(N-acetil-beta-glucosaminil)asparagina amidasa A (AHRD V3.3 *** A0A200PX65_9MAGN)	322	354	163	46	44	131	15	22	57	618	478	296
Solyc06g060110.3	transportador de aminoácidos 2	1166	675	476	280	221	531	198	193	261	1815	1164	1330
Solyc06g060800.4	2-oxoglutarato (2OG) y proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de Fe(II) (AHRD V3.3 *** A0A2U1QFG6_ARTAN)	137	145	127	581	343	710	352	322	360	387	544	443
Solyc06g061020.3	Proteína de la familia SBP (proteína de unión a ribonucleasa S) (AHRD V3.3 *** Q8LCK5_ARATH)	3593	3103	1671	4834	2557	5306	1438	1583	1334	5413	5497	6954
Solyc06g062800.4	ARN helicasa DEAD19	43	59	43	391	208	346	178	127	114	55	119	96
Solyc06g066370.4	factor de transcripción WRKY 31	6372	4625	1659	3330	1580	5563	1321	702	685	11290	9163	12037
Solyc06g068460.3	factor de transcripción WRKY 40	4820	3815	944	3008	1370	4359	335	210	210	7080	5659	6710
Solyc06g069070.1	Inhibidor bifuncional/proteína de transferencia de lípidos/proteína de superfamilia de albúmina 2S de almacenamiento de semilla (AHRD V3.3 *** A0A1I9LP30_ARATH)	4	2	0	263	84	323	29	37	14	185	236	130
Solyc06g069390.4	D-aminoacil-tRNA desacilasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2WLT1_CAPBA)	28	32	29	237	143	291	135	145	111	223	258	168
Solyc06g071340.1	Proteína desconocida	157	130	139	39	27	35	55	37	28	9	4	13
Solyc06g071810.1	Proteína quinasa de tipo receptor (AHRD V3.3 *** Q8LP72_TOBAC)	450	369	43	138	90	385	0	6	4	981	389	453
Solyc06g073850.1	proteína hipotética (AHRD V3.3 *** AT2G27180.1)	672	573	235	364	137	566	212	199	211	1340	1275	1770
Solyc06g074030.1	Polinucleotidil transferasa, proteína de la superfamilia similar a la ribonucleasa H (AHRD V3.3 *** A0A2U1M9A7_ARTAN)	5383	5411	866	2608	1065	4645	150	283	296	9110	7358	9334
Solyc06g074620.3	proteína hipotética (AHRD V3.3 *** AT2G27830.1)	1373	1279	490	869	291	1108	157	255	225	2273	1749	2271
Solyc06g076050.4	Proteína de la familia de repeticiones de anquirina, putativa, expresada (AHRD V3.3 *** Q10NB7_ORYSJ)	2427	1695	736	1234	530	2258	680	485	566	5850	2774	5152
Solyc06g076280.3	Factor de transcripción GRAS (AHRD V3.3 *** A0A2U1MZS4_ARTAN)	821	710	311	607	517	810	416	197	211	1263	927	1352

Solyc06g082070.3	Proteína tipo tricoma birrefringencia 45 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CBV9_CAPCH)	167	124	78	98	37	143	19	22	12	342	135	337
Solyc06g082080.3	Proteína fosfatasa 2C (AHRD V3.3 *** O24078_MEDSA)	2863	2332	391	1536	341	2927	129	90	127	7283	5078	6350
Solyc06g082440.1	Serina/treonina proteína quinasa no específica (AHRD V3.3 *** G4XMX3_SOLLC)	2231	1896	863	1432	783	2637	561	626	443	6267	5413	7674
Solyc06g082780.4	Proteína uniportadora de calcio 5, mitocondrial (AHRD V3.3 *** A0A2G2WXX4_CAPBA)	302	203	191	143	105	282	97	141	97	649	380	761
Solyc06g083390.4	Proteína 4 que interactúa con RPM1 (AHRD V3.3 *** A0A1P8SF00_NICBE)	908	749	239	440	259	659	220	216	211	1903	1171	1916
Solyc06g150132.1	Proteína fijadora de calcio (AHRD V3.3 *-* Q9SCA1_LOTJA)	307	255	170	115	57	149	88	55	74	394	204	338
Solyc07g006220.2	UDP-glucuronato 4-epimerasa 4 (AHRD V3.3 *** A0A1U8F5Z6_CAPAN)	2093	1738	761	488	443	980	233	107	214	2003	743	1095
Solyc07g007130.1	Proteína de dominio NHL (AHRD V3.3 *** A0A1P8BDM5_ARATH)	4788	3711	1640	2658	1447	5742	1003	947	1128	8771	9718	11826
Solyc07g040960.1	Nucleasa derivada de la transposasa Harbinger (AHRD V3.3 *** A0A200QD47_9MAGN)	17926	13909	3975	10918	7407	20629	1254	2315	1902	32723	33495	33998
Solyc07g053550.3	Glutaredoxina-C9 (AHRD V3.3 *** A0A2G2WE57_CAPBA)	3147	3308	1720	2959	1588	2445	2072	1243	703	4495	7887	6667
Solyc07g053740.1	Factor de respuesta de etileno F.4	8315	7855	2844	8079	2815	9824	750	1192	1215	13689	13276	13565
Solyc07g055930.3	Hexosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2WG07_CAPBA)	2649	2052	1827	352	350	446	585	791	810	729	437	514
Solyc07g056000.2	Endotransglucosilasa/hidrolasa de xiloglucano (AHRD V3.3 *** Q43528_SOLLC)	1637	671	125	308	113	1025	44	17	21	5739	1680	3962
Solyc07g056190.3	Proteína vegetal isoprenilada asociada a metales pesados (AHRD V3.3 *** A0A2R6QEC1_ACTCH)	491	589	70	505	159	825	30	39	29	2446	2105	3720
Solyc07g062260.3	BES1/BZR1 (AHRD V3.3 *** A0A2K3PP13_TRIPR)	78	49	46	89	51	131	13	17	13	70	103	109
Solyc07g062700.3	Proteína de la familia EF-hand de unión a calcio (AHRD V3.3 *** A0A2U1MZJ3_ARTAN)	1370	964	550	1229	337	2794	390	334	275	6565	4130	10384
Solyc07g063200.3	E3 ubiquitina-proteína ligasa proteína similar a rma1h1 (AHRD V3.3 *** A0A2K3P2S4_TRIPR)	321	308	195	185	144	261	109	106	109	676	382	859
Solyc07g064820.1	MAP quinasa quinasa quinasa 59	415	182	114	104	56	218	70	57	69	1200	760	1051
Solyc08g005050.4	factor de transcripción MYC2 (AHRD V3.3 *-* R4S7B4_NICAT)	3178	3159	920	2913	1887	3900	706	513	587	2465	2452	2413
Solyc08g006320.4	factor de transcripción WRKY 11	4131	3435	1380	3931	1438	5919	703	652	559	8111	8088	10714
Solyc08g007820.1	Proteína de unión a elementos sensible a la deshidratación 1E (AHRD V3.3 *** A0A2G2W337_CAPBA)	270	337	117	200	94	448	50	60	52	638	751	1541
Solyc08g008370.3	Proteína de dominio DCD (Desarrollo y muerte celular) (AHRD V3.3 *-* A0A2U1P2J5_ARTAN)	9388	6994	1753	6213	2709	10982	1047	812	926	16474	12428	15631
Solyc08g016770.4	Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)	3	0	7	136	126	105	621	416	383	215	356	122
Solyc08g041860.1	proteína tipo matriz repetitiva de serina/arginina (AHRD V3.3 *-* AT4G32020.1)	6628	6379	2524	7116	3601	8253	1208	1580	1740	6956	7876	7075
Solyc08g062680.1	Harbinger nucleasa derivada de transposasa (AHRD V3.3 *-* A0A2U1Q453_ARTAN)	1720	1223	374	1281	717	2150	146	174	138	3216	2844	3572
Solyc08g062690.2	Proteína desconocida	3120	2238	796	2471	1172	3752	408	334	272	5839	5223	6634
Solyc08g067300.1	Proteína de la familia F-box (AHRD V3.3 *** A0A1P8B768_ARATH)	1878	1929	1252	1403	896	2285	783	655	503	2726	3163	4299
Solyc08g068790.3	Tiramina N-feruloiltransferasa 10/30 (AHRD V3.3 *-* A0A2G2YXB9_CAPAN)	227	173	152	356	169	400	45	68	51	418	478	452
Solyc08g076390.3	Factor de transcripción jumonji (Jmj) proteína familiar / dedo de zinc (tipo C5HC2) proteína familiar (AHRD V3.3 *** F4KIX0_ARATH)	957	654	682	1414	667	2273	635	303	373	3685	1711	4470
Solyc08g077020.1	Proteína SAUR sensible a auxina (AHRD V3.3 *** A0A2U1PXP1_ARTAN)	339	204	95	141	72	386	8	24	14	1019	646	734
Solyc08g077530.3	Beta-amilasa (AHRD V3.3 *** Q94EU9_SOLTU)	420	439	240	630	580	914	774	451	548	1674	2102	2784

Solyc08g077560.4	Proteína de la superfamilia de las proteínas cinasas (AHRD V3.3 *** A0A2U1KAY9_ARTAN)	1830	1214	564	1311	740	2598	634	313	267	6568	4084	7550
Solyc08g077680.3	Proteína similar a KIP1 (AHRD V3.3 *** A0A2U1NFC3_ARTAN)	513	463	270	1064	877	1402	971	612	558	1463	2017	2998
Solyc08g078060.3	Proteína transmembrana (AHRD V3.3 *** Q1PDG7_ARATH)	532	348	225	340	166	646	86	80	85	535	484	633
Solyc08g078190.2	Factor de transcripción sensible al etileno 5 (AHRD V3.3 *** A0A2G2XL45_CAPBA)	2406	2405	825	1648	784	1904	160	319	293	2550	2041	4291
Solyc08g081370.1	Proteína de la superfamilia RING/U-box (AHRD V3.3 *** Q3EAE6_ARATH)	457	575	280	42	25	50	83	55	67	141	58	66
Solyc08g081790.3	Dirigente proteína (AHRD V3.3 *** K4CPH5_SOLLG)	6	11	4	3160	1017	2945	568	442	262	1075	1871	1952
Solyc08g082090.1	Avr9/Cf-9 provocó rápidamente la proteína 194 (AHRD V3.3 *** Q9FQZ4_TOBAC)	1295	1055	388	216	195	627	120	144	136	2536	1498	2145
Solyc08g082870.3	Proteína de la superfamilia de pliegues de Rossmann que se une a NAD (P) (AHRD V3.3 *** A0A1P8B7K9_ARATH)	40	17	26	1848	1176	1732	385	302	219	457	1380	998
Solyc09g011860.4	Proteína GDP-fucosa Proteína O-fucosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2R6R8C5_ACTCH)	276	203	49	91	63	185	13	19	33	456	299	486
Solyc09g015520.3	Proteína quinasa tipo receptor de repetición rica en leucina PXC2 (AHRD V3.3 *** A0A1U8ED78_CAPAN)	450	359	235	120	115	221	90	56	36	197	309	361
Solyc09g018280.1	Serina/treonina proteína quinasa no específica (AHRD V3.3 *** A0A2G3DDH8_CAPCH)	3425	3147	1409	2430	1329	2755	217	345	310	3300	5017	4174
Solyc09g031920.1	Proteína abundante en embriogénesis tardía, LEA-14 (AHRD V3.3 *** A0A2U1NFB4_ARTAN)	510	400	162	194	94	524	175	104	128	1292	856	1360
Solyc09g056450.4	Ubiquitina transferasa E3 tipo ANILLO (AHRD V3.3 *** A0A2G3BL85_CAPCH)	4167	2828	1330	2109	1454	5090	921	534	500	7236	6901	7587
Solyc09g064510.3	Proteína de dominio similar a hemooxigenasa, multihelicoidal, similar a HAD (AHRD V3.3 *** A0A2U1LQN1_ARTAN)	533	421	88	215	136	506	16	35	48	3354	853	2034
Solyc09g075730.3	Proteína de la familia de proteínas quinasa repetidas ricas en leucina (AHRD V3.3 *** A0A0K9NV0_ZOSMR)	148	126	100	677	468	738	754	225	264	568	986	1129
Solyc09g082550.3	Transportador de sulfato (AHRD V3.3 *** Q70BL1_BRAOL)	200	144	302	173	85	193	35	18	16	5	4	8
Solyc09g091420.4	Inosina trifosfato pirofosfatasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2W1Y2_CAPBA)	317	406	209	3	0	5	156	64	116	173	98	95
Solyc10g005080.3	Hipocotilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	5237	5209	3425	4928	3715	7177	2051	1751	1276	905	488	531
Solyc10g006130.1	Oreja motivo SIERF36	7590	7243	2900	6340	3019	6335	1239	1863	1728	7481	7833	7333
Solyc10g006820.4	Miosina-2 (AHRD V3.3 *** A0A2G2V352_CAPBA)	291	325	271	130	180	301	404	270	301	70	70	67
Solyc10g008400.1	E3 ubiquitina-proteína ligasa RMA1H1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BCU0_CAPCH)	1409	1177	396	891	540	1433	309	407	211	4914	5813	3552
Solyc10g052880.1	Proteína quinasa tipo receptor de repetición rica en leucina inactiva (AHRD V3.3 *** A0A314LDB3_NICAT)	197	204	16	24	7	74	8	2	3	1579	418	952
Solyc10g081040.1	Proteína desconocida	6292	5848	1734	4579	2022	6098	1505	1032	1279	10211	11454	11232
Solyc10g081980.2	Embriogénesis tardía abundante (LEA) familia de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (AHRD V3.3 *** A0A2U1KP17_ARTAN)	4048	3363	943	1153	374	2458	258	371	469	6641	5755	6715
Solyc10g084880.3	Avr9/Cf-9 provocó rápidamente la proteína 137 (AHRD V3.3 *** Q9FQZ2_TOBAC)	1978	1846	419	360	287	1287	140	66	110	3938	2361	2697
Solyc10g085470.1	Proteína desconocida	0	0	0	160	159	256	50	35	11	53	38	67
Solyc10g085590.1	Proteína ELC (AHRD V3.3 *** A0A2G3BFL9_CAPCH)	4257	3529	1656	3182	1463	4806	1021	938	868	5692	4171	7502
Solyc10g150142.1	Proteína que contiene el dominio BED con dedos de zinc RICESLEEPER 2 (AHRD V3.3 *-.* A0A2U1P3R8_ARTAN)	175	207	88	0	0	0	117	50	25	45	29	29
Solyc11g005670.2	POLIUBIQUITINA 1	15423	11001	4458	14139	7432	23971	6683	4066	3578	34737	33930	33671
Solyc11g010500.1	Proteína 6 de desacoplamiento mitocondrial (AHRD V3.3 *** A0A2G3B0B9_CAPCH)	6403	6112	1740	3958	2027	5884	1480	1165	1094	13996	13269	14690
Solyc11g066080.2	proteína transmembrana (AHRD V3.3 *** AT5G59350.1)	552	449	129	191	141	444	145	112	69	811	729	794

Solyc11g068440.2	Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa 11 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BAW5_CAPCH)	1878	1171	795	2663	1086	4593	846	415	433	4294	4604	6389
Solyc11g068700.2	Proteína desconocida	90	58	17	6	0	32	0	2	2	324	371	465
Solyc12g005340.3	Factor de transcripción GRAS (AHRD V3.3 *** A0A200QMI2_9MAGN)	5032	3859	1257	3830	1751	5194	811	573	737	7701	6557	10500
Solyc12g005860.2	Acónito hidratasa (AHRD V3.3 *** Q9FVE9_TOBAC)	3439	3180	2542	810	803	1132	2247	885	1219	12887	14314	14151
Solyc12g009000.1	Harbinger nucleasa derivada de transposasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1Q453_ARTAN)	8808	7748	1879	6165	3708	12718	416	696	363	19969	19829	20436
Solyc12g009240.1	Factor de transcripción sensible al etileno (AHRD V3.3 *-* A0A2G3BP26_CAPCH)	2568	2417	428	677	251	1068	34	126	128	5267	3887	5805
Solyc12g010540.1	UDP-glucuronato 4-epimerasa 4 (AHRD V3.3 *** A0A1U8F5Z6_CAPAN)	1174	806	531	506	254	727	153	185	252	1713	1569	1500
Solyc12g011310.2	Proteína similar a la glutatión S-transferasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3N2T5_TRIPR)	14466	17812	13178	31311	18365	37560	72647	31482	5299 1	7661	14000	12868
Solyc12g013580.3	Peptidil-prolil cis-trans isomerasa CYP37, cloroplástica (AHRD V3.3 *** A0A1U8GBH5_CAPAN)	1187	1100	452	455	270	717	292	260	230	2213	1799	2517
Solyc12g019890.2	Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa 5 (AHRD V3.3 *** A0A1U8GB40_CAPAN)	326	272	124	125	128	234	144	39	49	640	497	568
Solyc12g042910.2	ADN fotoliasa (AHRD V3.3 *** A0A200PQM0_9MAGN)	230	203	210	107	127	182	99	79	69	26	11	22
Solyc12g056550.1	Proteína vegetal/F1M20-13 (AHRD V3.3 *** G7IBZ7_MEDTR)	928	842	363	760	475	1109	380	280	226	1453	1645	1782
Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)	1396	994	1140	1242	1135	1768	3182	2418	2732	4420	4234	4664
Solyc12g088360.2	Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *-* A0A2I4H694_9ROSI)	502	352	126	251	95	547	108	123	100	1661	1009	2275
Solyc12g099500.2	proteína transmembrana (AHRD V3.3 *-** AT3G06890.1)	1195	1175	426	355	138	679	150	143	112	1622	782	1285

Anexo 9. Número de identificación (id) usado para el PCA y su *locus* respectivo.

id PCA	gen	proteína
1	Solyc01g005220.3	Proteína que contiene el dominio MACPF (AHRD V3.3 *** A0A2G3AYJ5_CAPCH)
2	Solyc01g005760.3	NL0D (AHRD V3.3 *** Q9ZS82_SOLLG)
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)
4	Solyc01g065530.3	Proteína similar a COBRA (AHRD V3.3 *** A0A2G3AIT3_CAPAN)
5	Solyc01g067090.4	Proteína repetida de dipéptido de ácido glutámico-arginina (AHRD V3.3 *-* Q8GZA1_ARATH)
6	Solyc01g079260.4	factor de transcripción WRKY 23
7	Solyc01g079480.3	Factor de transcripción BZIP (AHRD V3.3 *** C0LQL1_9CARY)
8	Solyc01g079530.4	Proteína de la superfamilia de dedos de zinc RING/FYVE/PHD (AHRD V3.3 *** A0A2U1LZL6_ARTAN)
9	Solyc01g079600.4	Proteína de la superfamilia de alfa/beta-hidrolasas (AHRD V3.3 *** A0A2U1L2I9_ARTAN)
10	Solyc01g080500.2	Proteína vegetal/F10N7-170, putativa (AHRD V3.3 *** G7IFN2_MEDTR)
11	Solyc01g086960.3	Dedo de zinc A20 y proteína asociada al estrés del dominio AN1 (AHRD V3.3 *** A0A2K3LXD0_TRIPR)
12	Solyc01g087250.3	escisión de carotenoides dioxigenasa 1A
13	Solyc01g087980.4	Proteína que contiene el dominio DUF793 (AHRD V3.3 *** A0A1Q3CNG5_CEPFO)
14	Solyc01g094410.3	Proteína de la familia de fosforribosiltransferasa vegetal de unión a lípidos/calcio C2 (AHRD V3.3 *** A0A061G6B5_THECC)
15	Solyc01g095630.3	factor de transcripción WRKY 41
16	Solyc01g098580.3	Proteína similar a la fosfoglicerato mutasa AT74H (AHRD V3.3 *** A0A2G3BUB5_CAPCH)
17	Solyc01g098800.4	Intercambiador de cationes/calcio 5 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BUD8_CAPCH)
18	Solyc01g099040.4	GDSL esterasa/lipasa (AHRD V3.3 *** A0A199UFA2_ANACO)
19	Solyc01g099370.3	Proteína familiar de unión a lípidos dependiente de calcio (dominio CaLB) (AHRD V3.3 *-* F4JK83_ARATH)
20	Solyc01g099520.3	Factor de alcalinización rápida (AHRD V3.3 *** RALF_TOBAC)
21	Solyc01g100000.3	Dominio de caja F, proteína similar a la proteína 2 del floema (AHRD V3.3 *** A0A2U1MNC1_ARTAN)
22	Solyc01g100200.3	hierba4
23	Solyc01g102610.3	Reducción férrica oxidasa 6 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BUN6_CAPCH)
24	Solyc01g102840.3	Proteína de resistencia a enfermedades (clase TIR-NBS-LRR) (AHRD V3.3 *** A0A2U1NT16_ARTAN)
25	Solyc01g105660.4	2-oxoglutarato (2OG) y proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de Fe(II) (AHRD V3.3 *** F4INZ9_ARATH)
26	Solyc01g150166.1	Proteína de unión a ARN de PSTVd
27	Solyc01g106280.3	Proteína desconocida
28	Solyc01g106290.3	Glutamil-tRNA reductasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2Y3E1_CAPAN)
29	Solyc01g106390.3	Proteína de la familia de aciltransferasa tipo HXXXD (AHRD V3.3 *** A0A2K3MRI0_TRIPR)
30	Solyc01g107080.3	Proteína de la superfamilia RING/U-box (AHRD V3.3 *-* A0A2U1QJN2_ARTAN)
31	Solyc01g107290.3	Proteína que contiene el dominio C2 (AHRD V3.3 *** B1Q483_CAPCH)
32	Solyc01g107740.3	Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *** A0A2G2W990_CAPBA)
33	Solyc01g107980.3	Proteína 27 regulada en frío (AHRD V3.3 *** AT5G42900.2)
34	Solyc01g108100.3	Proteína de la superfamilia similar a la transducina/WD40 (AHRD V3.3 *** A0A2U1MAA7_ARTAN)
35	Solyc01g109120.3	Factor de transcripción GATA (AHRD V3.3 *** K4B3P4_SOLLG)
36	Solyc01g110310.3	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)

37 Solyc01g112105.1 Proteína desconocida

38 Solyc02g065270.1 Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *- A0A2G3D300_CAPCH)

39 Solyc02g065280.3 Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3D300_CAPCH)

40 Solyc02g071220.3 regulador de respuesta tipo A2

41 Solyc02g072080.1 Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *** A1E0Y2_SOLTU)

42 Solyc02g079010.4 Proteína expresada en fibra de algodón (AHRD V3.3 *** A0A109XNG5_GOSHI)

43 Solyc02g079590.3 Receptor de proteína quinasa (AHRD V3.3 *** Q40096_IPOTF)

44 Solyc02g082100.4 Proteína de la superfamilia RING/U-box (AHRD V3.3 *- F4IIX4_ARATH)

45 Solyc02g082260.3 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa

46 Solyc02g083820.1 Armadillo repite solo 2 (AHRD V3.3 *** Q9FKW5_ARATH)

47 Solyc02g083835.1 Proteína chaperona DnaJ (AHRD V3.3 *** A0A2G2XG76_CAPBA)

48 Solyc02g084720.3 beta-galactosidasa 6

49 Solyc02g084890.3 Resistencia a enfermedades Proteína 4 similar a RPP13 (AHRD V3.3 *** A0A2G2XGN6_CAPBA)

50 Solyc02g084990.3 Manano endo-1,4-beta-manosidasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3NB99_TRIPR)

51 Solyc02g087350.3 Hexosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2XIE5_CAPBA)

52 Solyc02g087850.1 Glutaredoxina (AHRD V3.3 *** A0A200QSA1_9MAGN)

53 Solyc02g090870.1 proteína hipotética (AHRD V3.3 *** AT5G67020.1)

54 Solyc02g090970.1 MAP quinasa quinasa quinasa 21

55 Solyc02g091500.1 Proteína quinasa dependiente de calcio (AHRD V3.3 *- CDPK_DAUCA)

56 Solyc02g091700.3 Glicoproteína rica en hidroxiprolina (AHRD V3.3 *** A0A2K3L507_TRIPR)

57 Solyc02g092930.1 R2R3MYB factor de transcripción 44

58 Solyc02g092990.1 Proteína de caja F (AHRD V3.3 *** A0A2G2XGV7_CAPBA)

59 Solyc02g093430.3 Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** Q9LT58_ARATH)

60 Solyc02g093600.3 Proteína de choque térmico de clase I (AHRD V3.3 *** A0A2K3K1J3_TRIPR)

61 Solyc02g094030.3 DSR6 (AHRD V3.3 *** A0A076V4W1_CAPAN)

62 Solyc03g006610.3 Proteína activadora Arf GTPase (AHRD V3.3 *** A0A200RBV9_9MAGN)

63 Solyc03g007460.3 Solanum lycopersicum Factor de respuesta de citoquinina 4

64 Solyc03g026280.3 Factor de unión de repetición C 1

65 Solyc03g081240.3 APRR9 tipo regulador de respuesta de dos componentes (AHRD V3.3 *** A0A2G2X7Z8_CAPBA)

66 Solyc03g118470.4 Nudix hidrolasa 4 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CZQ7_CAPCH)

67 Solyc03g118810.1 Alérgeno fijador de calcio Ole e 8 (AHRD V3.3 *** A0A2G2WQF6_CAPBA)

68 Solyc03g120990.3 Enzima málica (AHRD V3.3 *** A0A2G3D1G2_CAPCH)

69 Solyc03g121620.1 Embriogénesis tardía abundante (LEA) familia de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (AHRD V3.3 *** A0A2U1MMJ0_ARTAN)

70 Solyc03g122350.3 Citocromo P450 (AHRD V3.3 *** Q43795_TOBAC)

71 Solyc04g005480.1 similar a la proteína 1 relacionada con la nodulina (AHRD V3.3 *** A0A2I4FXG1_9ROSI)

72 Solyc04g005670.3 Proteína F-box/kelch-repeat (AHRD V3.3 *** A0A2G3CYH7_CAPCH)

73 Solyc04g007250.1 proteína transmembrana (AHRD V3.3 *** AT1G25400.2)

74 Solyc04g009440.3 Proteína de dominio NAC AY498713

75 Solyc04g014510.3 glutamina sintasa

76 Solyc04g055170.3 anexina p35

77 Solyc04g071030.1 Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *** A0A2G2WYL4_CAPBA)

78	Solyc04g071480.1	Proteína vegetal/F1M20-13 (AHRD V3.3 *** G7IBZ7_MEDTR)
79	Solyc04g072780.4	Dedo de zinc tipo FCS 5 (AHRD V3.3 *** FLZ5_ARATH)
80	Solyc04g072900.1	proteína de unión a elementos sensible a la deshidratación 3
81	Solyc04g074430.2	Proteína similar a EXORDIUM 1 (AHRD V3.3 *-* A0A2G2ZQI6_CAPAN)
82	Solyc04g074440.1	Proteína similar a EXORDIUM 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G2ZQI6_CAPAN)
83	Solyc04g074830.1	Proteína de la superfamilia ENTH/ANTH/VHS (AHRD V3.3 *** A0A2U1QGP5_ARTAN)
84	Solyc04g077470.3	Celulosa sintasa similar a C4, familia de glicosiltransferasa 2 (AHRD V3.3 *** A9TYJ5_PHYPA)
85	Solyc04g077980.1	Proteína con dedos de zinc tipo C2H2
86	Solyc04g078550.3	factor de transcripción WRKY 7
87	Solyc04g078880.3	Proteína 27 regulada en frío (AHRD V3.3 *** AT5G42900.2)
88	Solyc04g082960.1	Poli polimerasa (AHRD V3.3 *** Q9C9J8_ARATH)
89	Solyc05g005260.3	Similar a ADN ligasa 1 (AHRD V3.3 *** A0A1U7VHC8_NICSY)
90	Solyc05g005990.3	Proteína NRT1/ FAMILIA PTR 1.1 (AHRD V3.3 *-* PTR32_ARATH)
91	Solyc05g006370.2	Proteína desconocida
92	Solyc05g006470.4	Subunidad compleja de proteína relacionada con actina 2/3 (AHRD V3.3 *** A0A2I4F971_9ROSI)
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)
94	Solyc05g013580.4	Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1NH94_ARTAN)
95	Solyc05g016310.1	Proteína de la familia de aspartil proteasas eucariotas (AHRD V3.3 *** G7KD30_MEDTR)
96	Solyc05g051400.4	Proteína 6 de desacoplamiento mitocondrial (AHRD V3.3 *** A0A2G3CG15_CAPCH)
97	Solyc05g052520.3	Proteína fosfatasa 2C (AHRD V3.3 *** O24078_MEDSA)
98	Solyc05g052550.1	Proteína 47 que contiene el dominio CCCH con dedos de zinc (AHRD V3.3 *-* A0A1U8GQ71_CAPAN)
99	Solyc05g052560.1	Proteína desconocida
100	Solyc05g052570.3	Factor de transcripción de dedo de zinc 39
101	Solyc05g053760.4	Proteína chaperona DnaJ (AHRD V3.3 *** A0A2G3AV72_CAPCH)
102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)
103	Solyc06g005280.1	Subunidad de exoquiste Proteína de la familia Exo70 (AHRD V3.3 *** A0A1S6GXB7_TOBAC)
104	Solyc06g005650.2	Ubiquitina-proteína ligasa E3 (AHRD V3.3 *** A0A1U8GX66_CAPAN)
105	Solyc06g008250.3	Dominio Ypt/Rab-GAP de la proteína de la superfamilia gyp1p (AHRD V3.3 *** A0A2U1P1B5_ARTAN)
106	Solyc06g035620.3	Factor de transcripción GRAS (AHRD V3.3 *** A0A200QMI2_9MAGN)
107	Solyc06g035960.3	Oxalato--CoA ligasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8FIW0_CAPAN)
108	Solyc06g051010.1	Péptido-N4-(N-acetil-beta-glucosaminil)asparagina amidasa A (AHRD V3.3 *** A0A200PX65_9MAGN)
109	Solyc06g060110.3	transportador de aminoácidos 2
110	Solyc06g060800.4	2-oxoglutarato (2OG) y proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de Fe(II) (AHRD V3.3 *** A0A2U1QFG6_ARTAN)
111	Solyc06g061020.3	Proteína de la familia SBP (proteína de unión a ribonucleasa S) (AHRD V3.3 *** Q8LCK5_ARATH)
112	Solyc06g062800.4	ARN helicasa DEAD19
113	Solyc06g066370.4	factor de transcripción WRKY 31
114	Solyc06g068460.3	factor de transcripción WRKY 40
115	Solyc06g069070.1	Inhibidor bifuncional/proteína de transferencia de lípidos/proteína de superfamilia de albúmina 2S de almacenamiento de semilla (AHRD V3.3 *** A0A1I9LP30_ARATH)
116	Solyc06g069390.4	D-aminoacil-tRNA desacilasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2WLT1_CAPBA)
117	Solyc06g071340.1	Proteína desconocida

118 Solyc06g071810.1 Proteína quinasa de tipo receptor (AHRD V3.3 *** Q8LP72_TOBAC)

119 Solyc06g150132.1 proteína hipotética (AHRD V3.3 *** AT2G27180.1)

120 Solyc06g073850.1 Polinucleotidil transferasa, proteína de la superfamilia similar a la ribonucleasa H (AHRD V3.3 *** A0A2U1M9A7_ARTAN)

121 Solyc06g074030.1 proteína hipotética (AHRD V3.3 *** AT2G27830.1)

122 Solyc06g074620.3 Proteína de la familia de repeticiones de anquirina, putativa, expresada (AHRD V3.3 *** Q10NB7_ORYSJ)

123 Solyc06g076050.4 Factor de transcripción GRAS (AHRD V3.3 *** A0A2U1MZS4_ARTAN)

124 Solyc06g076280.3 Proteína tipo tricoma birrefringencia 45 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CBV9_CAPCH)

125 Solyc06g082070.3 Proteína fosfatasa 2C (AHRD V3.3 *** O24078_MEDSA)

126 Solyc06g082080.3 Serina/treonina proteína quinasa no específica (AHRD V3.3 *** G4XMX3_SOLLC)

127 Solyc06g082440.1 Proteína uniportadora de calcio 5, mitocondrial (AHRD V3.3 *** A0A2G2WNX4_CAPBA)

128 Solyc06g082780.4 Proteína 4 que interactúa con RPM1 (AHRD V3.3 *** A0A1P8SF00_NICBE)

129 Solyc06g083390.4 Proteína fijadora de calcio (AHRD V3.3 *-* Q9SCA1_LOTJA)

130 Solyc07g006220.2 UDP-glucuronato 4-epimerasa 4 (AHRD V3.3 *** A0A1U8F5Z6_CAPAN)

131 Solyc07g007130.1 Proteína de dominio NHL (AHRD V3.3 *** A0A1P8BDM5_ARATH)

132 Solyc07g040960.1 Nucleasa derivada de la transposasa Harbinger (AHRD V3.3 *** A0A200QD47_9MAGN)

133 Solyc07g053550.3 Glutaredoxina-C9 (AHRD V3.3 *** A0A2G2WE57_CAPBA)

134 Solyc07g053740.1 Factor de respuesta de etileno F.4

135 Solyc07g055930.3 Hexosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2WG07_CAPBA)

136 Solyc07g056000.2 Endotransglucosilasa/hidrolasa de xiloglucano (AHRD V3.3 *** Q43528_SOLLC)

137 Solyc07g056190.3 Proteína vegetal isoprenilada asociada a metales pesados (AHRD V3.3 *** A0A2R6QEC1_ACTCH)

138 Solyc07g062260.3 BES1/BZR1 (AHRD V3.3 *** A0A2K3PP13_TRIPR)

139 Solyc07g062700.3 Proteína de la familia EF-hand de unión a calcio (AHRD V3.3 *** A0A2U1MZJ3_ARTAN)

140 Solyc07g063200.3 E3 ubiquitina-proteína ligasa proteína similar a rma1h1 (AHRD V3.3 *** A0A2K3P2S4_TRIPR)

141 Solyc07g064820.1 MAP quinasa quinasa quinasa 59

142 Solyc08g005050.4 factor de transcripción MYC2 (AHRD V3.3 *-* R4S7B4_NICAT)

143 Solyc08g006320.4 factor de transcripción WRKY 11

144 Solyc08g007820.1 Proteína de unión a elementos sensible a la deshidratación 1E (AHRD V3.3 *** A0A2G2W337_CAPBA)

145 Solyc08g008370.3 Proteína de dominio DCD (Desarrollo y muerte celular) (AHRD V3.3 *-* A0A2U1P2J5_ARTAN)

146 Solyc08g016770.4 Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)

147 Solyc08g041860.1 proteína tipo matriz repetitiva de serina/arginina (AHRD V3.3 *-* AT4G32020.1)

148 Solyc08g062680.1 Harbinger nucleasa derivada de transposasa (AHRD V3.3 *-* A0A2U1Q453_ARTAN)

149 Solyc08g062690.2 Proteína desconocida

150 Solyc08g067300.1 Proteína de la familia F-box (AHRD V3.3 *** A0A1P8B768_ARATH)

151 Solyc08g068790.3 Tiramina N-feruloiltransferasa 10/30 (AHRD V3.3 *-* A0A2G2YXB9_CAPAN)

152 Solyc08g076390.3 Factor de transcripción jumonji (Jmj) proteína familiar / dedo de zinc (tipo C5HC2) proteína familiar (AHRD V3.3 *** F4KIX0_ARATH)

153 Solyc08g077020.1 Proteína SAUR sensible a auxina (AHRD V3.3 *** A0A2U1PXP1_ARTAN)

154 Solyc08g077530.3 Beta-amilasa (AHRD V3.3 *** Q94EU9_SOLTU)

155 Solyc08g077560.4 Proteína de la superfamilia de las proteínas cinasas (AHRD V3.3 *** A0A2U1KAY9_ARTAN)

156 Solyc08g077680.3 Proteína similar a KIP1 (AHRD V3.3 *** A0A2U1NFC3_ARTAN)

157 Solyc08g078060.3 Proteína transmembrana (AHRD V3.3 *** Q1PDG7_ARATH)

158 Solyc08g078190.2 Factor de transcripción sensible al etileno 5 (AHRD V3.3 *** A0A2G2XL45_CAPBA)

159	Solyc08g081370.1	Proteína de la superfamilia RING/U-box (AHRD V3.3 *** Q3EAE6_ARATH)
160	Solyc08g081790.3	Dirigente proteína (AHRD V3.3 *** K4CPH5_SOLLIC)
161	Solyc08g082090.1	Avr9/Cf-9 provocó rápidamente la proteína 194 (AHRD V3.3 *** Q9FQZ4_TOBAC)
162	Solyc08g082870.3	Proteína de la superfamilia de pliegues de Rossmann que se une a NAD (P) (AHRD V3.3 *** A0A1P8B7K9_ARATH)
163	Solyc09g011860.4	Proteína GDP-fucosa Proteína O-fucosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2R6R8C5_ACTCH)
164	Solyc09g015520.3	Proteína quinasa tipo receptor de repetición rica en leucina PXC2 (AHRD V3.3 *** A0A1U8ED78_CAPAN)
165	Solyc09g018280.1	Serina/treonina proteína quinasa no específica (AHRD V3.3 *** A0A2G3DDH8_CAPCH)
166	Solyc09g031920.1	Proteína abundante en embriogénesis tardía, LEA-14 (AHRD V3.3 *** A0A2U1NFB4_ARTAN)
167	Solyc09g056450.4	Ubiquitina transferasa E3 tipo ANILLO (AHRD V3.3 *** A0A2G3BL85_CAPCH)
168	Solyc09g064510.3	Proteína de dominio similar a hemooxigenasa, multihelicoidal, similar a HAD (AHRD V3.3 *** A0A2U1LQN1_ARTAN)
169	Solyc09g075730.3	Proteína de la familia de proteínas quinasas repetidas ricas en leucina (AHRD V3.3 *** A0A0K9NJV0_ZOSMR)
170	Solyc09g082550.3	Transportador de sulfato (AHRD V3.3 *** Q70BL1_BRAOL)
171	Solyc09g091420.4	Inosina trifosfato pirofosfatasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2W1Y2_CAPBA)
172	Solyc10g006130.1	Hipocotilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)
173	Solyc10g006820.4	Oreja motivo SIERF36
174	Solyc10g008400.1	Miosina-2 (AHRD V3.3 *** A0A2G2V352_CAPBA)
175	Solyc10g052880.1	E3 ubiquitina-proteína ligasa RMA1H1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BCU0_CAPCH)
176	Solyc10g150142.1	Proteína quinasa tipo receptor de repetición rica en leucina inactiva (AHRD V3.3 *** A0A314LDB3_NICAT)
177	Solyc10g081040.1	Proteína desconocida
178	Solyc10g081980.2	Embriogénesis tardía abundante (LEA) familia de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (AHRD V3.3 *** A0A2U1KP17_ARTAN)
179	Solyc10g084880.3	Avr9/Cf-9 provocó rápidamente la proteína 137 (AHRD V3.3 *** Q9FQZ2_TOBAC)
180	Solyc10g085470.1	Proteína desconocida
181	Solyc10g085590.1	Proteína ELC (AHRD V3.3 *** A0A2G3BFL9_CAPCH)
182	Solyc10g005080.3	Proteína que contiene el dominio BED con dedos de zinc RICESLEEPER 2 (AHRD V3.3 *-* A0A2U1P3R8_ARTAN)
183	Solyc11g005670.2	POLIUBIQUITINA 1
184	Solyc11g010500.1	Proteína 6 de desacoplamiento mitocondrial (AHRD V3.3 *** A0A2G3B0B9_CAPCH)
185	Solyc11g066080.2	proteína transmembrana (AHRD V3.3 *** AT5G59350.1)
186	Solyc11g068440.2	Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa 11 (AHRD V3.3 *** A0A2G3BAW5_CAPCH)
187	Solyc11g068700.2	Proteína desconocida
188	Solyc12g005340.3	Factor de transcripción GRAS (AHRD V3.3 *** A0A200QMI2_9MAGN)
189	Solyc12g005860.2	Acónito hidratasa (AHRD V3.3 *** Q9FVE9_TOBAC)
190	Solyc12g009000.1	Harbinger nucleasa derivada de transposasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1Q453_ARTAN)
191	Solyc12g009240.1	Factor de transcripción sensible al etileno (AHRD V3.3 *-* A0A2G3BP26_CAPCH)
192	Solyc12g010540.1	UDP-glucuronato 4-epimerasa 4 (AHRD V3.3 *** A0A1U8F5Z6_CAPAN)
193	Solyc12g011310.2	Proteína similar a la glutatión S-transferasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3N2T5_TRIPR)
194	Solyc12g013580.3	Peptidil-prolil cis-trans isomerasa CYP37, cloroplástica (AHRD V3.3 *** A0A1U8GBH5_CAPAN)
195	Solyc12g019890.2	Glucano endo-1,3-beta-glucosidasa 5 (AHRD V3.3 *** A0A1U8GB40_CAPAN)
196	Solyc12g042910.2	ADN fotoliasa (AHRD V3.3 *** A0A200PQM0_9MAGN)
197	Solyc12g056550.1	Proteína vegetal/F1M20-13 (AHRD V3.3 *** G7IBZ7_MEDTR)
198	Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)

- 199 Solyc12g088360.2 Ubiquitina transferasa E3 tipo RING (AHRD V3.3 *-* A0A2I4H694_9ROSI)
200 Solyc12g099500.2 proteína transmembrana (AHRD V3.3 -** AT3G06890.1)

Anexo 10. Contribución relativa a cada componente principal (PC) de cada gen expresado diferencialmente y metabolito diferencial medido en frutos de tomate. Metabolito desconocido 1 (Unk1) y 2 (Unk2).

id PCA	PC1	PC2
1	0,78	0,30
2	0,91	0,12
3	0,66	-0,46
4	0,96	-0,17
5	0,88	-0,44
6	0,74	0,04
7	0,89	0,01
8	0,95	-0,13
9	0,96	-0,07
10	0,97	0,12
11	0,96	0,05
12	-0,02	-0,60
13	0,95	0,01
14	0,81	-0,20
15	0,80	0,41
16	0,95	-0,08
17	0,86	0,12
18	-0,60	-0,37
19	0,97	0,01
20	0,93	0,30
21	0,88	0,31
22	0,90	0,30
23	-0,31	0,91
24	0,96	-0,15
25	-0,02	-0,82
27	0,28	-0,70
28	0,96	0,03
29	0,96	-0,01
30	0,97	-0,04
31	-0,19	-0,60
32	0,96	-0,07
33	0,90	-0,35
34	0,88	0,28
35	0,91	-0,22
36	0,96	-0,22
37	0,97	0,19
26	-0,47	0,25
38	-0,08	-0,70

39	0,53	-0,18
40	0,96	0,09
41	1,00	-0,06
42	0,95	0,09
43	0,78	-0,01
44	0,96	-0,12
45	0,95	-0,11
46	0,99	0,00
47	-0,81	-0,04
48	-0,25	0,81
49	0,95	0,02
50	-0,50	0,73
51	0,97	0,17
52	0,70	0,50
53	0,97	0,08
54	0,98	0,06
55	0,97	0,23
56	0,94	-0,20
57	0,96	0,01
58	0,94	0,02
59	0,94	-0,17
60	-0,59	0,36
61	0,95	0,21
62	0,87	-0,10
63	0,97	-0,08
64	0,99	-0,11
65	0,95	0,07
66	0,99	-0,06
67	0,95	0,26
68	0,89	-0,15
69	0,99	0,09
70	0,92	0,21
71	1,00	-0,01
72	0,95	0,15
73	0,88	-0,22
74	0,94	0,10
75	-0,22	0,90
76	-0,46	0,73
77	0,96	0,16
78	0,97	0,01
79	-0,37	0,88

80	0,95	-0,13
81	0,91	-0,11
82	0,97	0,03
83	0,96	-0,05
84	0,97	-0,03
85	0,96	0,19
86	0,96	0,14
87	0,93	-0,19
88	0,90	0,38
89	0,83	0,46
90	-0,06	0,86
91	0,11	-0,69
92	0,25	-0,61
93	-0,13	0,84
94	0,63	0,26
95	0,95	0,17
96	0,83	0,33
97	0,97	0,00
98	0,95	0,00
99	0,95	-0,02
100	0,96	0,04
101	0,97	-0,08
102	-0,20	0,59
103	0,96	-0,20
104	0,95	0,04
105	0,94	-0,13
106	0,99	-0,03
107	0,95	-0,10
108	0,81	0,36
109	0,91	0,25
110	0,32	-0,75
111	0,91	-0,12
112	-0,18	-0,55
113	1,00	0,06
114	0,97	0,17
115	0,50	-0,51
116	0,43	-0,75
117	-0,34	0,90
118	0,87	0,23
120	0,85	0,47
121	0,98	-0,02

122	0,98	0,18
123	0,98	0,18
124	0,96	0,04
125	0,97	0,07
126	0,94	0,15
127	0,99	0,03
128	0,98	-0,09
129	0,95	0,01
119	0,98	0,07
130	0,61	0,72
131	0,98	-0,04
132	0,98	0,00
133	0,87	-0,04
134	0,96	0,08
135	-0,13	0,95
136	0,91	0,02
137	0,95	-0,14
138	0,72	-0,03
139	0,93	-0,16
140	0,94	0,07
141	0,96	-0,03
142	0,57	0,32
143	0,98	-0,06
144	0,90	-0,09
145	0,98	0,06
146	-0,25	-0,66
147	0,78	0,16
148	0,99	-0,02
149	0,99	-0,02
150	0,95	0,04
151	0,88	-0,15
152	0,92	-0,19
153	0,97	-0,01
154	0,87	-0,36
155	0,97	-0,13
156	0,81	-0,45
157	0,86	0,19
158	0,89	0,27
159	-0,02	0,98
160	0,41	-0,57
161	0,95	0,21

162	0,28	-0,61
163	0,98	0,16
164	0,60	0,69
165	0,86	0,25
166	0,98	-0,01
167	0,98	0,01
168	0,88	-0,03
169	0,61	-0,64
170	-0,30	0,57
171	0,04	0,89
182	0,82	0,35
172	-0,74	0,30
173	0,89	-0,12
174	0,86	-0,01
175	-0,13	0,85
177	0,97	0,05
178	0,97	0,18
179	0,93	0,25
180	0,06	-0,50
181	0,95	0,12
176	-0,28	0,43
183	0,97	-0,15
184	0,99	0,01
185	0,97	0,16
186	0,92	-0,24
187	0,93	-0,10
188	0,98	0,04
189	0,90	-0,09
190	0,98	-0,04
191	0,97	0,14
192	0,95	0,20
193	-0,58	-0,44
194	0,97	0,12
195	0,97	0,10
196	-0,45	0,72
197	0,97	-0,02
198	0,67	-0,47
199	0,95	-0,09
200	0,85	0,48
Fructosa	-0,01	-0,50
Glucose	0,05	-0,66

Xilosa	0,18	-0,65
Ác, γ -aminobutírico	-0,04	-0,46
Glutamato	-0,05	-0,40
Glutamina	0,00	0,25
Triptófano	0,05	-0,10
Metanol	0,26	-0,17
Sacarosa	-0,23	0,76
Unk1	-0,62	-0,44
Unk2	-0,23	0,51
α -cetoglutarato	-0,02	-0,47
Ác, <i>trans</i> -cinámico	-0,19	0,27

Anexo 11. Número de identificación (N°) de cada gen expresado diferencialmente (DEG) y proteína que correlacionó con cada metabolito diferencial (DM) incluidos en ambas redes de correlación. Número de muestras (n), coeficiente de correlación fenotípica (r_p), valor de probabilidad asociada (p-valor). Sacarosa (Suc), ácido *trans*-cinámico (tCA), glutamina (Gln), glutamato (Glu), ácido γ -aminobutírico (GABA), fructosa (Fru), Glucosa (Glc), ácido α -cetoglutaratato (a-KG), triptófano (Trp).

r_p entre DEGs y DMs						
Red 1						
N°	Gen	Proteína	Metabolito	n	r_p	p-valor
12	Solyc01g087250.3	escisión de carotenoides dioxigenasa 1A	Suc	12	-0,80	0,008
12	Solyc01g087250.3	escisión de carotenoides dioxigenasa 1A	tCA	12	-0,67	0,026
14	Solyc01g094410.3	Proteína de la familia de fosforribosiltransferasa vegetal de unión a lípidos/calcio C2 (AHRD V3.3 *** A0A061G6B5_THECC)	tCA	12	-0,60	0,046
25	Solyc01g105660.4	2-oxoglutarato (2OG) y proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de Fe(II) (AHRD V3.3 *** F4INZ9_ARATH)	Suc	12	-0,82	0,007
25	Solyc01g105660.4	2-oxoglutarato (2OG) y proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de Fe(II) (AHRD V3.3 *** F4INZ9_ARATH)	tCA	12	-0,61	0,044
30	Solyc01g107080.3	Proteína de la familia de aciltransferasa tipo HXXXD (AHRD V3.3 *** A0A2K3MRI0_TRIPR)	Suc	12	-0,80	0,008
26	Solyc01g150166.1	Proteína desconocida	Suc	12	-0,77	0,011
38	Solyc02g065270.1	Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *- A0A2G3D300_CAPCH)	Suc	12	-0,62	0,039
76	Solyc04g055170.3	anexina p35	Suc	12	0,71	0,018
90	Solyc05g005990.3	Proteína NRT1/ FAMILIA PTR 1.1 (AHRD V3.3 *- PTR32_ARATH)	Gln	12	0,66	0,029
90	Solyc05g005990.3	Proteína NRT1/ FAMILIA PTR 1.1 (AHRD V3.3 *- PTR32_ARATH)	Suc	12	0,86	0,004
91	Solyc05g006370.2	Proteína desconocida	Suc	12	-0,85	0,000
91	Solyc05g006370.2	Proteína desconocida	Gln	12	-0,63	0,029
92	Solyc05g006470.4	Subunidad compleja de proteína relacionada con actina 2/3 (AHRD V3.3 *** A0A2I4F971_9ROSI)	Suc	12	-0,81	0,002
92	Solyc05g006470.4	Subunidad compleja de proteína relacionada con actina 2/3 (AHRD V3.3 *** A0A2I4F971_9ROSI)	tCA	12	-0,59	0,043
110	Solyc06g060800.4	2-oxoglutarato (2OG) y proteína de la superfamilia de oxigenasa dependiente de Fe(II) (AHRD V3.3 *** A0A2U1QFG6_ARTAN)	Suc	12	-0,63	0,037
112	Solyc06g062800.4	ARN helicasa DEAD19	Suc	12	-0,81	0,001
112	Solyc06g062800.4	ARN helicasa DEAD19	tCA	12	-0,62	0,033
115	Solyc06g069070.1	Inhibidor bifuncional/proteína de transferencia de lípidos/proteína de superfamilia de albúmina 2S de almacenamiento de semilla (AHRD V3.3 *** A0A119LP30_ARATH)	Suc	12	-0,79	0,009
116	Solyc06g069390.4	D-aminoacil-tRNA desacilasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2WLT1_CAPBA)	Suc	12	-0,77	0,011
135	Solyc07g055930.3	Hexosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2WG07_CAPBA)	tCA	12	0,70	0,020
135	Solyc07g055930.3	Hexosiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2WG07_CAPBA)	Suc	12	0,80	0,008
138	Solyc07g062260.3	BES1/BZR1 (AHRD V3.3 *** A0A2K3PP13_TRIPR)	tCA	12	-0,58	0,049

147	Solyc08g041860.1	proteína tipo matriz repetitiva de serina/arginina (AHRD V3.3 *- AT4G32020.1)	Gln	12	-0,61	0,044
156	Solyc08g077680.3	Proteína similar a KIP1 (AHRD V3.3 *** A0A2U1NFC3_ARTAN)	Suc	12	-0,60	0,046
159	Solyc08g081370.1	Proteína de la superfamilia RING/U-box (AHRD V3.3 *** Q3EAE6_ARATH)	Suc	12	0,90	0,003
160	Solyc08g081790.3	Dirigente proteína (AHRD V3.3 *** K4CPH5_SOLLC)	Suc	12	-0,73	0,016
160	Solyc08g081790.3	Dirigente proteína (AHRD V3.3 *** K4CPH5_SOLLC)	tCA	12	-0,66	0,028
162	Solyc08g082870.3	Proteína de la superfamilia de pliegues de Rossmann que se une a NAD (P) (AHRD V3.3 *** A0A1P8B7K9_ARATH)	Suc	12	-0,81	0,007
162	Solyc08g082870.3	Proteína de la superfamilia de pliegues de Rossmann que se une a NAD (P) (AHRD V3.3 *** A0A1P8B7K9_ARATH)	tCA	12	-0,64	0,035
171	Solyc09g091420.4	Inosina trifosfato pirofosfatasa (AHRD V3.3 *** A0A2G2W1Y2_CAPBA)	Suc	12	0,89	0,003
180	Solyc10g085470.1	Proteína desconocida	Suc	12	-0,79	0,002
180	Solyc10g085470.1	Proteína desconocida	tCA	12	-0,72	0,009
176	Solyc10g150142.1	Proteína que contiene el dominio BED con dedos de zinc RICESLEEPER 2 (AHRD V3.3 *- A0A2U1P3R8_ARTAN)	Gln	12	0,68	0,015
176	Solyc10g150142.1	Proteína que contiene el dominio BED con dedos de zinc RICESLEEPER 2 (AHRD V3.3 *- A0A2U1P3R8_ARTAN)	Suc	12	0,71	0,010

Red 2

No.	Gen	Proteína	Metabolito	n	r _p	p-valor
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	Glu	12	0,62	0,039
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	GABA	12	0,70	0,020
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	Glc	12	0,74	0,014
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	Fru	12	0,77	0,011
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	Xilosa	12	0,83	0,006
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	Metanol	12	0,67	0,026
3	Solyc01g010170.2	beta-glucosidasa 40 (AHRD V3.3 --* XP_004228406.1)	α-KG	12	0,69	0,023
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	Metanol	12	-0,89	0,003
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	Trp	12	-0,76	0,012
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	GABA	12	-0,71	0,019
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	Glu	12	-0,64	0,033
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	Fru	12	-0,71	0,018
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	Glc	12	-0,67	0,026
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	α-KG	12	-0,69	0,022
37	Solyc01g112105.1	Monooxigenasa que contiene flavina (AHRD V3.3 *** A0A2G2W997_CAPBA)	Xilosa	12	-0,66	0,028
39	Solyc02g065280.3	Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3D300_CAPCH)	Glc	12	0,64	0,025
39	Solyc02g065280.3	Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3D300_CAPCH)	Fru	12	0,68	0,016
39	Solyc02g065280.3	Metilesterasa 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3D300_CAPCH)	Metanol	12	0,85	0,000
48	Solyc02g084720.3	beta-galactosidasa 6	Glc	12	-0,69	0,022

48	Solyc02g084720.3	beta-galactosidasa 6	Xilosa	12	-0,67	0,026
48	Solyc02g084720.3	beta-galactosidasa 6	Fru	12	-0,62	0,039
48	Solyc02g084720.3	beta-galactosidasa 6	Glu	12	-0,64	0,035
48	Solyc02g084720.3	beta-galactosidasa 6	GABA	12	-0,64	0,035
48	Solyc02g084720.3	beta-galactosidasa 6	α-KG	12	-0,69	0,023
50	Solyc02g084990.3	Manano endo-1,4-beta-manosidasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3NB99_TRIPR)	Glc	12	-0,71	0,018
50	Solyc02g084990.3	Manano endo-1,4-beta-manosidasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3NB99_TRIPR)	Fru	12	-0,70	0,020
50	Solyc02g084990.3	Manano endo-1,4-beta-manosidasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3NB99_TRIPR)	Xilosa	12	-0,62	0,041
50	Solyc02g084990.3	Manano endo-1,4-beta-manosidasa (AHRD V3.3 *** A0A2K3NB99_TRIPR)	Metanol	12	-0,62	0,041
75	Solyc04g014510.3	glutamina sintasa	GABA	12	-0,60	0,046
75	Solyc04g014510.3	glutamina sintasa	Glc	12	-0,73	0,016
75	Solyc04g014510.3	glutamina sintasa	Fru	12	-0,70	0,020
75	Solyc04g014510.3	glutamina sintasa	Xilosa	12	-0,69	0,023
75	Solyc04g014510.3	glutamina sintasa	α-KG	12	-0,62	0,039
75	Solyc04g014510.3	glutamina sintasa	Metanol	12	-0,62	0,041
79	Solyc04g072780.4	Dedo de zinc tipo FCS 5 (AHRD V3.3 *** FLZ5_ARATH)	Glc	12	-0,62	0,041
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	α-KG	12	-0,73	0,016
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	GABA	12	-0,71	0,019
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	Metanol	12	-0,68	0,024
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	Glu	12	-0,73	0,016
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	Xilosa	12	-0,82	0,007
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	Glc	12	-0,73	0,015
93	Solyc05g011890.1	Sulfotransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2G3B6Y2_CAPCH)	Fru	12	-0,70	0,020
94	Solyc05g013580.4	Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1NH94_ARTAN)	Glc	12	-0,60	0,046
94	Solyc05g013580.4	Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1NH94_ARTAN)	α-KG	12	-0,71	0,018
94	Solyc05g013580.4	Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1NH94_ARTAN)	Glu	12	-0,79	0,009
94	Solyc05g013580.4	Proteína de la familia Beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa (AHRD V3.3 *** A0A2U1NH94_ARTAN)	GABA	12	-0,66	0,029
102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	Metanol	12	-0,78	0,010
102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	α-KG	12	-0,72	0,017
102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	GABA	12	-0,69	0,022
102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	Glu	12	-0,66	0,029
102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	Glc	12	-0,71	0,018
102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	Xilosa	12	-0,70	0,020

102	Solyc05g055940.3	Proteína PHR1-LIKE 1 (AHRD V3.3 *** A0A2G3CIW3_CAPCH)	Fru	12	-0,67	0,026
142	Solyc08g005050.4	factor de transcripción MYC2 (AHRD V3.3 *- R4S7B4_NICAT)	α-KG	12	-0,73	0,015
142	Solyc08g005050.4	factor de transcripción MYC2 (AHRD V3.3 *- R4S7B4_NICAT)	GABA	12	-0,68	0,024
142	Solyc08g005050.4	factor de transcripción MYC2 (AHRD V3.3 *- R4S7B4_NICAT)	Glu	12	-0,77	0,011
142	Solyc08g005050.4	factor de transcripción MYC2 (AHRD V3.3 *- R4S7B4_NICAT)	Glc	12	-0,63	0,037
146	Solyc08g016770.4	Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)	Fru	12	0,76	0,012
146	Solyc08g016770.4	Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)	Glu	12	0,78	0,010
146	Solyc08g016770.4	Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)	Xilosa	12	0,76	0,012
146	Solyc08g016770.4	Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)	GABA	12	0,79	0,009
146	Solyc08g016770.4	Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)	Glc	12	0,84	0,005
146	Solyc08g016770.4	Serina descarboxilasa (AHRD V3.3 *** A0A1U8F8Y3_CAPAN)	α-KG	12	0,81	0,007
164	Solyc09g015520.3	Proteína quinasa tipo receptor de repetición rica en leucina PXC2 (AHRD V3.3 *** A0A1U8ED78_CAPAN)	Glu	12	-0,62	0,039
170	Solyc09g082550.3	Transportador de sulfato (AHRD V3.3 *** Q70BL1_BRAOL)	Metanol	12	-0,68	0,024
170	Solyc09g082550.3	Transportador de sulfato (AHRD V3.3 *** Q70BL1_BRAOL)	Xilosa	12	-0,64	0,035
170	Solyc09g082550.3	Transportador de sulfato (AHRD V3.3 *** Q70BL1_BRAOL)	Glc	12	-0,63	0,037
170	Solyc09g082550.3	Transportador de sulfato (AHRD V3.3 *** Q70BL1_BRAOL)	Fru	12	-0,62	0,041
182	Solyc10g005080.3	Hipocótilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	Metanol	12	-0,79	0,009
182	Solyc10g005080.3	Hipocótilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	α-KG	12	-0,71	0,018
182	Solyc10g005080.3	Hipocótilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	Xilosa	12	-0,72	0,017
182	Solyc10g005080.3	Hipocótilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	Glc	12	-0,68	0,024
182	Solyc10g005080.3	Hipocótilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	Fru	12	-0,66	0,029
182	Solyc10g005080.3	Hipocótilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	GABA	12	-0,69	0,023
182	Solyc10g005080.3	Hipocótilo alargado tardío (AHRD V3.3 *** J9PV71_NICAT)	Glu	12	-0,69	0,023
196	Solyc12g042910.2	ADN fotoliasa (AHRD V3.3 *** A0A200PQM0_9MAGN)	Glc	12	-0,74	0,014
196	Solyc12g042910.2	ADN fotoliasa (AHRD V3.3 *** A0A200PQM0_9MAGN)	Fru	12	-0,71	0,018
196	Solyc12g042910.2	ADN fotoliasa (AHRD V3.3 *** A0A200PQM0_9MAGN)	Xilosa	12	-0,69	0,022
196	Solyc12g042910.2	ADN fotoliasa (AHRD V3.3 *** A0A200PQM0_9MAGN)	Metanol	12	-0,67	0,026
198	Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)	Xilosa	12	0,69	0,022
198	Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)	Glc	12	0,79	0,009
198	Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)	Fru	12	0,83	0,006
198	Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)	GABA	12	0,62	0,039
198	Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)	Metanol	12	0,79	0,009
198	Solyc12g056650.2	Proteína GIGANTEA (AHRD V3.3 *** A0A2G3B3F7_CAPCH)	Trp	12	0,65	0,031

Anexo 12. Lecturas de los genes detectados en el pan-genoma en cada uno de los genotipos evaluados: Querubín FCA (Q), Gema FCA (G), QxG (FQ), GxQ (FG)

id Gen	Proteína	Contig	Especie	Conteo de lecturas											
				Q	Q	Q	G	G	G	FQ	FQ	FQ	FG	FG	FG
TomatoPan005770	UDP-glicosiltransferasa	ctg003036_SRR5080077	<i>S. lycopersicum</i> var <i>cerasiforme</i>	0	0	0	244	78	333	180	23	15	38	67	87
TomatoPan007590	TIP41 isoforma X1	ctg005361_ERR418075	<i>S. lycopersicum</i> L.	71	106	59	0	0	0	25	24	27	58	50	26
TomatoPan016720	similar a la subunidad 1A del complejo 2 3 relacionado con la actina	ctg242632_BGV006775	<i>S. lycopersicum</i> var <i>cerasiforme</i>	0	1	0	298	74	434	88	118	80	128	235	170
TomatoPan017960	PREDICCIÓN: proteína no caracterizada LOC109236025	ctg243069_Plovdiv	<i>S. lycopersicum</i> var <i>cerasiforme</i>	0	0	0	55	3	65	15	35	33	48	60	29
TomatoPan027960	dedo de cinc	ctg380326_SRR1572267	<i>S. pimpinellifolium</i> (LA0722)	5	4	1	85	7	138	29	25	15	48	45	36
TomatoPan028520	similar a la zeatina O-glucosiltransferasa	ctg381003_SRR1572237	<i>S. pimpinellifolium</i> (LA1589)	1	0	0	29	7	38	28	10	15	57	33	34
TomatoPan030130	Era GTPasa	ctg387016_BGV015382	<i>S. pimpinellifolium</i>	0	0	2	256	64	321	102	79	45	99	71	82
TomatoPan031040	PREDICCIÓN: proteína no caracterizada LOC102589164	ctg443355_SRR1572688	<i>S. cheesmaniae</i>	328	300	225	0	0	0	157	115	85	124	127	115
TomatoPan041430	L-galactosa deshidrogenasa	ctg064313_SRR5080132	<i>S. lycopersicum</i> var <i>cerasiforme</i>	32	32	12	0	0	2	12	10	5	18	7	10
TomatoPan065840	UDP-glucosa iridoide similar a la glucosiltransferasa	ctg413050_BGV007198	<i>S. pimpinellifolium</i>	5	5	9	269	119	299	158	124	69	40	85	170
TomatoPan041580	inducción de arpa	ctg067071_SRR1572569	<i>S. lycopersicum</i> L.	2	2	0	1	0	5	0	0	0	31	13	33
TomatoPan006060	Proteína DESCONOCIDA	ctg003269_ERR418045	<i>S. lycopersicum</i> L.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56	36	59
TomatoPan056960	Caja F At1g65770 isoforma X1	ctg272729_BGV006229	<i>S. lycopersicum</i> var <i>cerasiforme</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	32	29