



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
LICENCIATURA EN RECURSOS NATURALES

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y MOLECULAR DEL FRUTO APOCÁRPICO EN TOMATE



Alumna: Freggiaro Celeste

Directora: Dra. Ing. Agr. Dana V. Vazquez

Co-Director: Dr. Ing. Agr. Gustavo R. Rodríguez

Lugar de trabajo: Cátedra de Genética FCA-UNR

Año: 2025

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	1
RESUMEN.....	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN.....	4
EL CULTIVO DE TOMATE: RELEVANCIA Y CARACTERÍSTICAS GENERALES ...	4
ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIVERSIDAD DEL TOMATE.....	6
IMPORTANCIA DE LA MORFOLOGÍA DEL FRUTO	6
EL FENOTIPO APOCÁRPICO EN LA ACCESIÓN “VOYAGE” DE TOMATE CULTIVADO	7
HIPÓTESIS	10
OBJETIVO GENERAL.....	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
SECCIÓN 1: DESARROLLO DE POBLACIONES SEGREGANTES PARA LOS DETERMINANTES GENÉTICOS DEL FRUTO APOCÁRPICO.....	11
MATERIAL VEGETAL.....	11
METODOLOGÍA	14
<i>Extracción y cuantificación de ADN</i>	14
<i>Caracterización genotípica con marcadores moleculares de ADN.....</i>	15
<i>Caracterización fenotípica</i>	18
RESULTADOS.....	19
CONCLUSIÓN PARCIAL.....	23
SECCIÓN 2: EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE POBLACIONES SEGREGANTES PARA LOS DETERMINANTES GENÉTICOS DE LA FORMA DEL FRUTO APOCÁRPICO.....	24
MATERIAL VEGETAL.....	24
METODOLOGÍA	25
<i>Caracterización Fenotípica</i>	25
<i>Análisis Estadístico.....</i>	27
RESULTADOS.....	28
CONCLUSIONES PARCIALES.....	36
SECCIÓN 3: ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LOS <i>LOC</i> I QUE CONTROLAN LA FORMA DEL FRUTO APOCÁRPICO EN TOMATE.....	37
MATERIAL VEGETAL.....	37
METODOLOGÍA	37
<i>Análisis estadístico</i>	37
RESULTADOS.....	38
CONCLUSIONES PARCIALES.....	46

DISCUSIÓN.....	48
CONCLUSIÓN FINAL.....	55
BIBLIOGRAFÍA.....	56
ANEXO I.....	62

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores, la Dra. Dana Valeria Vazquez y el Dr. Gustavo Rubén Rodríguez, por haberme dado la posibilidad de realizar esta tesina de grado, pero sobre todo por su dedicación permanente, su constante y paciente seguimiento. Gracias por su guía, ayuda y enseñarme en cada etapa de la tesina y de mi formación. Gracias por confiar en mí, por su acompañamiento y comprensión en todo momento, apoyándome siempre y en cuestiones que trascienden los límites académicos.

A todos los integrantes de la Cátedra de Genética de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (FCA-UNR), por todas sus contribuciones y, más aún, por haberme recibido con tanta amabilidad y afecto. Ha sido un privilegio formar parte de la cátedra.

Al grupo Genética y Mejoramiento de Tomate del Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR-CONICET) quiero expresar mi agradecimiento por su colaboración y predisposición a lo largo de este proceso. Ha sido un honor poder trabajar junto a un equipo tan comprometido, cuya dedicación y profesionalismo han sido una fuente constante de aprendizaje e inspiración. Al Ing. Agr. David Balaban, por su colaboración para llevar adelante los ensayos.

A mi familia, por ser el pilar fundamental en cada etapa de mi vida. Gracias por su amor incondicional, su apoyo constante y por estar siempre a mi lado en cada una de las decisiones. Mis amigos (Alber, Augusto, Emi, Estefi, Fede, Flor, Flor.B, Gina, Gino, Juli.D, Juli.T, Lari, Lu, Mili, Pau, Rodri, Romi, Sofi y Valen) y vecinos (Ceci, Facu.R, Facu.S, Feli y Nico) gracias por su compañía, su apoyo y por ser una fuente constante de alegría y motivación durante la carrera.

Por último, mi agradecimiento a los docentes de la FCA-UNR, cuyo compromiso con la educación ha sido fundamental para mi crecimiento académico y desarrollo profesional.

RESUMEN

La forma del fruto en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es un carácter de gran relevancia económica, biológica y evolutiva. La morfología del fruto en la dirección medio-lateral está controlada principalmente por los genes *LC* y *FAS*. El cultivar "Voyage" presenta un fenotipo único, con frutos apocárpicos. Estudios previos sugirieron que los *loci* responsables del fenotipo "Voyage" se localizan en la base de los cromosomas 6 (*Id6*) y 11 (*Id11*). El objetivo de este trabajo fue caracterizar morfológica y molecularmente poblaciones segregantes derivadas del cruzamiento entre "Voyage" de *S. lycopersicum* y la isolínea LA1589 de *Solanum pimpinellifolium*, que porta los alelos cultivados en los genes *FAS* y *LC*. Las poblaciones segregantes desarrolladas incluyen la segunda generación filial (F_2), autofecundación de la retrocruza RC_1 y RC_2 , que presentan diversas combinaciones alélicas para los determinantes del fruto apocárpico. Los valores de heredabilidad en sentido amplio (H^2) hallados variaron entre valores bajos y altos según la familia y el carácter analizado, siendo el mayor valor registrado en la variable "altura". El carácter tipo de carpelo no segregó de forma mendeliana en ninguna familia, aunque en las familias 23P4 y 23P6 se ajustó a lo esperado en una generación de RC_2 . En el análisis molecular, la interacción entre los marcadores *Id6* y *FAS* fue significativa para las variables ancho, alto y grado de irregularidad en la familia 23P3, siendo esta última variable altamente significativa. En conclusión, el locus *FAS* y la región genómica asociada al marcador PTZ14 influyen en el grado de irregularidad del fruto en el contexto genético de *S. pimpinellifolium*, aunque no son suficientes para explicar toda la variabilidad observada en el carácter.

Palabras claves: morfología de fruto - grado de irregularidad - tipo de carpelo - marcadores moleculares - *Solanum* spp.

ABSTRACT

The fruit shape in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a trait of great economic, biological, and evolutionary significance. Fruit morphology in the medio-lateral direction is primarily controlled by the *LC* and *FAS* genes. The cultivar "Voyage" exhibits a unique phenotype within the tomato germplasm, characterized by apocarpic fruits. Previous studies have suggested that the genetic determinants or *loci* underlying the "Voyage" phenotype are located at the base of chromosomes 6 (*Id6*) and 11 (*Id11*). The aim of the study was to morphologically and molecularly characterize segregating populations derived from the cross between the "Voyage" cultivar of *S. lycopersicum* and the LA1589 isogenic line of *Solanum pimpinellifolium*, which carries the cultivated alleles of the *FAS* and *LC* genes. The developed segregating populations included second filial generation (F_2), RC_1 (first backcross), its self-fertilized and second (RC_2) backcross generation, which exhibit extensive allelic combinations for the genetic determinants of apocarpic fruit. Broad-sense heritability (H^2) values ranged from low to high depending on the family and the trait analyzed. The highest H^2 value was observed for fruit height. The trait related to carpel type did not segregate in a mendelian proportion in any family. However, in families 23P4 and 23P6, segregation followed the expected pattern for an RC_2 generation. In the molecular analysis, the interaction between *Id6* and *FAS* was significant for fruit width, height, and lobedness degree (LD) in family 23P3 with LD being highly significant. In conclusion, the *FAS locus* and the genomic region associated with the PTZ14 marker influence the LD in the genetic context of *S. pimpinellifolium*. However, they are not enough to explain all the variability observed in the trait.

Keywords: fruit morphology - lobedness degree - carpel type - molecular markers - *Solanum* spp.

INTRODUCCIÓN

EL CULTIVO DE TOMATE: RELEVANCIA Y CARACTERÍSTICAS GENERALES

El tomate cultivado (*Solanum lycopersicum* L.) es una especie perteneciente a la familia Solanaceae, que incluye más de 3.000 especies de gran importancia económica, medicinal y ornamental (Rick, 1978). A nivel mundial, es una de las hortalizas más relevantes, siendo la segunda hortaliza con mayor producción luego de la papa (*Solanum tuberosum* L.) (FAOSTAT, 2023). Su importancia radica en los altos niveles de consumo, aportes económicos que genera su producción y la extensa superficie agrícola destinada a su cultivo.

La planta de tomate es una especie dicotiledónea, herbácea y perenne cultivada como anual (Nuez et al., 1995). Morfológicamente, se caracteriza por presentar un porte que puede ser erecto o rastrero, con un crecimiento determinado o indeterminado. Posee pubescencia y ramificación simpodial caracterizado por un tallo principal del que surgen hojas, tallos secundarios desde la axila de las hojas, e inflorescencias (Figura 1). Su sistema radicular está compuesto por una raíz principal, numerosas raíces secundarias y raíces adventicias. Las hojas son pinnadas compuestas que se disponen de manera alterna, están formadas por siete a nueve folíolos primarios lobulados, y además presenta una abundante pubescencia. Estos pelos glandulares son responsables del olor característico de la planta. Las inflorescencias, de tipo racimo, pueden ser simples o ramificadas y contienen entre cinco y quince flores, aunque algunos cultivares con frutos pequeños pueden desarrollar más de 30 flores por inflorescencia. Estas estructuras se desarrollan de manera opuesta y entre las hojas. Las flores son hermafroditas, y cuentan con cuatro verticilos. El cáliz de la flor es verde y persistente, formado por sépalos soldados en la base y recubiertos por una densa pubescencia. La corola es gamopétala, amarilla, generalmente con cinco pétalos distribuidos en forma de estrella. El androceo está formado por estambres adheridos a la corola, poseen anteras amarillas que están unidas para formar un tubo que rodea al pistilo. El estilo y el estigma suelen permanecer resguardados dentro del cono formado por los estambres, lo que facilita la autofecundación, la cual ocurre principalmente durante la antesis

(López Marín, 2017). Luego de la fecundación, el ovario experimenta un proceso de desarrollo que da lugar a un fruto carnoso clasificado como una baya, que puede ser bi o plurilocular (Figura 1).

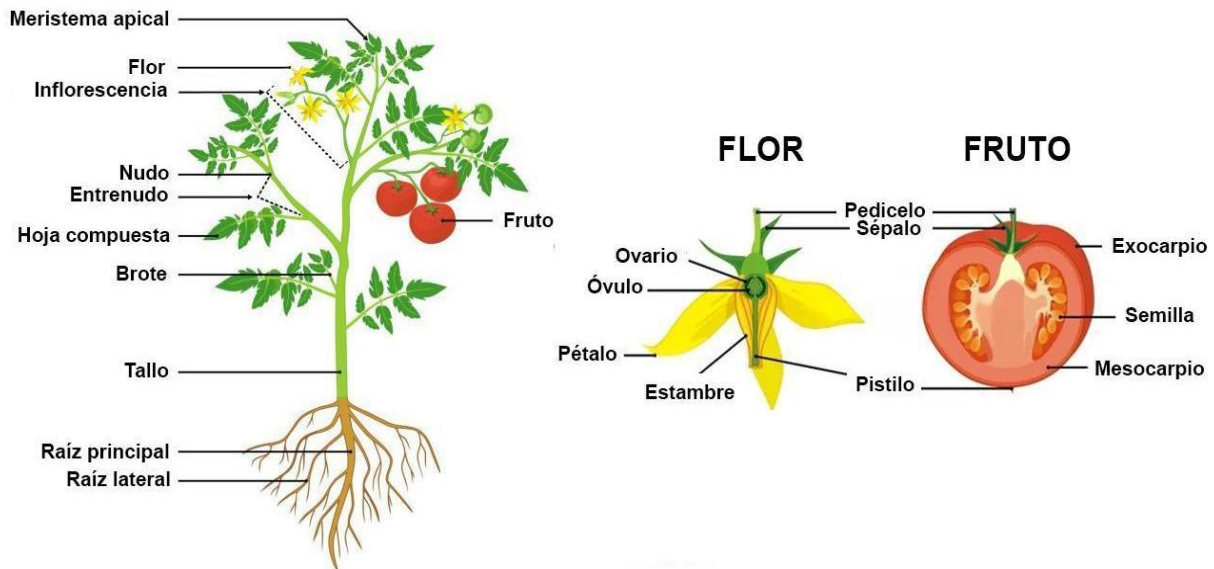


Figura 1: Representación morfológica de una planta de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Modificada de Gómez Rodríguez (2021).

El fruto de tomate es un producto comestible, que se destaca por su elevado valor nutricional. Se caracteriza por su elevado contenido de agua y vitaminas A, B, C y D. Además, contiene licopeno, el principal carotenoide que le otorga el color rojo a los frutos maduros, que junto con otros compuestos fenólicos desempeña una importante función antioxidante. Aporta una variedad de sales minerales esenciales, entre los que se incluyen potasio, cloro, fósforo, calcio, azufre, magnesio, sodio, hierro y cobre (Beecher, 1998).

Su constitución genética es diploide ($2n=2x=24$), con un número básico de 12 cromosomas, ciclo de cultivo corto, y capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales y de transformación genética, lo que lo consolida como uno de los cultivos modelo para el mejoramiento de especies autógamas y plantas con frutos climatéricos y carnosos (Kimura y Sinha, 2008).

ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIVERSIDAD DEL TOMATE

El tomate es originario de la región Andina de América del Sur, que abarca desde el sur de Ecuador hasta el norte de Chile. El proceso de domesticación comenzó por las culturas precolombinas en dos etapas, con dos centros independientes, la primera fue en Perú y Ecuador y la segunda en la región de la península de Yucatán en México (Peralta et al., 2008).

Se conocen 13 especies dentro del género *Solanum*, la sección *Lycopersicon*, de las cuales 12 son silvestres y una corresponde al tomate cultivado. Se ha identificado que la especie cultivada evolucionó a partir de la silvestre *Solanum pimpinellifolium*, siendo *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* un intermediario evolutivo. Desde una perspectiva evolutiva, la domesticación y mejoramiento del fruto de tomate introdujo importantes cambios fisiológicos en la especie (Peralta et al., 2008). Las consecuencias de estos procesos han sido la modificación del sistema reproductivo, el incremento de tamaño y diversidad de formas del fruto.

IMPORTANCIA DE LA MORFOLOGÍA DEL FRUTO

La morfología del fruto es un aspecto clave de la calidad del tomate, influyendo en el rendimiento, la preferencia del consumidor y el destino final de la producción. También tiene un impacto significativo en la demanda comercial y los requisitos de exportación. Aproximadamente el 60-70% de la producción nacional de tomate se destina al consumo en fresco, donde predominan los frutos redondos, achatados y los tipos “cherry” o cereza, mientras que el 30-40% restante se orienta a la industria de procesamiento, que prefiere los frutos alargados, como los de tipo perita (Ministerio de Economía, 2023). Desde el punto de vista biológico, conocer las bases genéticas que controlan la forma del fruto es importante para estudiar el desarrollo de los órganos vegetales.

El tomate cultivado presenta una gran diversidad en las formas y tamaños de los frutos en comparación con *S. pimpinellifolium* que posee frutos rojos de forma perfectamente esférica, con dos lóculos, y un peso de pocos gramos. Desde el punto de vista genético, la forma del fruto es un carácter de herencia cuantitativa, es decir, determinado por múltiples genes (Tanksley, 2004). Sin embargo, la amplia variabilidad de formas presentes en el germoplasma se

explica en gran medida por mutaciones en un número reducido de genes con efecto mayor. Los principales genes relacionados con la forma del fruto en el tomate incluyen *SUN*, *OVATE*, *LOCULE NUMBER (LC)*, *FASCIATED (FAS)*, *SOV1*, *GLOBE* y *FS8.1* (Liu et al., 2002; Cong et al., 2008; Xiao et al., 2008; Muños et al., 2011; Rodríguez et al., 2011; Rodríguez et al., 2013; Wu et al., 2018; Sierra-Orozco et al., 2021; Zhu et al., 2023). Los genes *SUN*, *OVATE*, *SOV1*, *GLOBE* y *FS8.1* controlan la forma en el plano próximo distal del fruto, con los alelos mutados dando frutos con mayor altura que diámetro (alargados), mientras que los alelos silvestres determinan una forma redonda. Los cultivares que tienen los alelos mutados en *LC* y *FAS* poseen alto número de lóculos y la forma de los frutos es generalmente achatada, por lo que son de mayor tamaño y peso (Rodríguez et al., 2011). La morfología del fruto puede evaluarse en diferentes dimensiones, los caracteres de la forma de fruto en la dirección medio-lateral, como el grado de irregularidad, están altamente relacionadas con otros caracteres como el tamaño y el peso del fruto y son controlados principalmente por los genes *FAS* y *LC* (Chu et al., 2019). La mutación en *FAS*, ubicada en el cromosoma 11, es consecuencia de una inversión de 294 kilobase (kb), con puntos de ruptura en el primer intrón del factor de transcripción *YABBY* y a 1 kb corriente arriba del codón de inicio *CLAVATA3 (SICLV3)* en tomate. Esta mutación interrumpe la regulación de *SICLV3*, lo que provoca una alteración en su expresión y, como resultado, un aumento significativo en el tamaño del fruto y en el número de lóculos (Cong et al., 2008; Huang y van der Knaap, 2011). La mutación en *LC*, ubicada en el cromosoma 2, se asocia con dos polimorfismos de un solo nucleótido (*SNP*) situados a 1.080 pares de bases (pb) corriente abajo del codón de terminación del gen *WUSCHEL (WUS)* en un elemento regulador putativo de la caja *CArG*. Esto genera la formación de frutos con mayor número de lóculos y tamaño (Muños et al., 2011; van der Knaap et al., 2014). Además, se ha observado que *LC* y *WUS* ejercen un efecto sinérgico sobre el tamaño y peso del fruto (Chu et al., 2019).

EL FENOTIPO APOCÁRPICO EN LA ACCESIÓN “VOYAGE” DE TOMATE CULTIVADO

El cultivar de tomate “Voyage” se caracteriza por presentar frutos apocárpicos, es decir que tiene los carpelos total o parcialmente separados,

formando ovarios independientes. El desarrollo de la sincarpia, o la fusión de los carpelos en un gineceo compuesto unificado, es un aspecto evolutivo clave en las angiospermas con numerosas ventajas adaptativas, relacionadas con la cantidad y la calidad de las semillas (Armbruster et al., 2002). Sin embargo, el proceso inverso, la separación de carpelos a partir de primordios de carpelos combinados durante el desarrollo del gineceo, se ha encontrado previamente en otras especies. Este rasgo, a su vez afecta la forma del fruto, ya que los frutos apocárpicos suelen presentar formas achatadas y marcadamente irregulares. Este fenotipo, presente en el cultivar “Voyage”, es único dentro de la especie de tomate y una oportunidad para explorar los determinantes genéticos de formas complejas.

Estudios previos han indicado que la manifestación del fenotipo “Voyage”, frutos no fusionados y marcadamente irregulares en su plano medio-lateral, depende de la presencia de alelos al estado cultivado en los genes *FAS* y *LC*. Aunque estos genes son esenciales para la expresión del fenotipo, no logran explicar completamente la variabilidad observada. Un análisis de *QTL-seq* realizado en dos poblaciones segregantes F₂ de cruzamientos intraespecíficos identificó nuevas regiones genómicas en los cromosomas 6, 8 y 11 (*Id6*, *Id8* y *Id11*) con un impacto significativo en el grado de irregularidad del fruto. En particular, el cromosoma 11 (*Id11*) mostró la mayor influencia, mientras que el cromosoma 6 (*Id6*) actuó como modificador. Además, se observó un efecto epistático entre ambos *loci* (Vazquez et al., 2022). Sin embargo, la complejidad del carácter, evidenciada por la variabilidad en su expresión y el efecto enmascarador de *FAS* y *LC* sobre otros genes menores o modificadores, ha dificultado la determinación precisa de las regiones genómicas involucradas y de los genes responsables del fenotipo “Voyage”.

Las Líneas Casi Isogénicas (NILs, del inglés *Near Isogenic Lines*) son líneas que contienen un único fragmento cromosómico proveniente de un progenitor donante, introducido dentro del fondo genético de otro progenitor que actúa como receptor a través de retrocruzadas sucesivas. El desarrollo de NILs en un fondo o contexto genético de genotipo silvestre permitiría estudiar la contribución de regiones genómicas específicas en un contexto genético uniforme.

Mediante el desarrollo y estudio de isolíneas casi isogénicas en el fondo genético de *S. pimpinellifolium* accesión LA1589, será posible analizar la interacción entre los alelos cultivados de *FAS* y *LC* con los alelos de *Id6* y *Id11*. Esto contribuirá a comprender cómo estos alelos modulan la expresión del fenotipo apocárpico e irregular del fruto en las poblaciones segregantes derivadas del cruzamiento con el cultivar “Voyage” de *S. lycopersicum*.

La NIL *lc/fas* utilizada en este estudio fue provista por el grupo de trabajo de Ester van der Knaap (University of Georgia, USA) y desarrollada por Chu et al. (2019) mediante seis generaciones de retrocruzamientos. Este proceso se llevó a cabo para introgresar, de manera independiente, los alelos mutantes en los genes *LC* y *FAS* desde cultivares portadores de dichos alelos hacia la accesión LA1589 de la especie silvestre *S. pimpinellifolium*. Para ello se hicieron seis retrocruzas entre el cultivar “Orange Strawberry” de *S. lycopersicum* y la accesión LA1589 como padre recurrente. El cv. “Orange Strawberry” porta los alelos mutantes para *LC* y *FAS*. Para reducir aún más el tamaño de regiones de introgresión en ambos *loci*, se realizaron tres retrocruzamientos adicionales hacia LA1589 y se identificaron puntos de recombinación cercanos a los genes objetivos, seguido por dos generaciones más de autofecundación. El fragmento introgresado que contiene el gen *LC* abarcó 184 kb en el cromosoma 2, mientras que el segmento que contiene el gen *FAS* se extendió por 351 kb en el cromosoma 11.

HIPÓTESIS

El fenotipo de fruto “Voyage” en tomate, que consiste en carpelos no fusionados y marcadamente irregulares en su plano medio-lateral, tiene mayor expresión con la presencia de los alelos cultivados en los genes *FAS* y *LC*.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar morfológica y molecularmente poblaciones segregantes derivadas del cruzamiento entre el cultivar “Voyage” de *S. lycopersicum* con la isolínea LA1589 de *S. pimpinellifolium* que porta los alelos cultivados en los genes *FAS* y *LC*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desarrollar poblaciones segregantes para los determinantes genéticos del fruto apocárpico.
- Evaluar fenotípicamente la segunda generación filial (F_2), la autofecundación de la primera retrocruza (RC_1) y la segunda retrocruza (RC_2) donde segregan los *loci* que determinan la forma del fruto apocárpico.
- Determinar el efecto individual y en combinación de los *loci* que controlan la forma del fruto apocárpico en tomate.

Para mayor comprensión del trabajo de investigación, el manuscrito se divide en tres secciones para responder a los objetivos específicos enunciados. En cada sección se describirán los materiales y métodos y los resultados logrados con sus conclusiones parciales.

SECCIÓN 1

DESARROLLO DE POBLACIONES SEGREGANTES PARA LOS DETERMINANTES GENÉTICOS DEL FRUTO APOCÁRPICO

MATERIAL VEGETAL

Los experimentos se realizaron en el módulo de Horticultura, localizado en el Campo Experimental Villarino de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (FCA-UNR), en la localidad de Zavalla (33° S, 61° W). El lugar cuenta con la infraestructura, los servicios y el equipamiento necesarios para la conducción de los experimentos de evaluación fenotípica de los caracteres. Entre ellas: dos vidrieras (4m x 12m), un invernadero de vidrio (5m x 6m) con regulación de temperatura y fotoperíodo y otro de polietileno (12m x 48m) con capacidad para conducir 1000 plantas de tomate. Además, posee una hectárea para conducir cultivos de tomate al aire libre. Cuenta con equipo de riego por goteo automatizado en todo el predio e incluso en los invernaderos y vidrieras.

Se desarrollaron poblaciones segregantes a partir del cruzamiento interespecífico entre el cultivar “Voyage” y una isólinea de *S. pimpinellifolium* que porta los alelos cultivados en los genes *LC* y *FAS* (NIL *lc/fas*) (Figura 2).

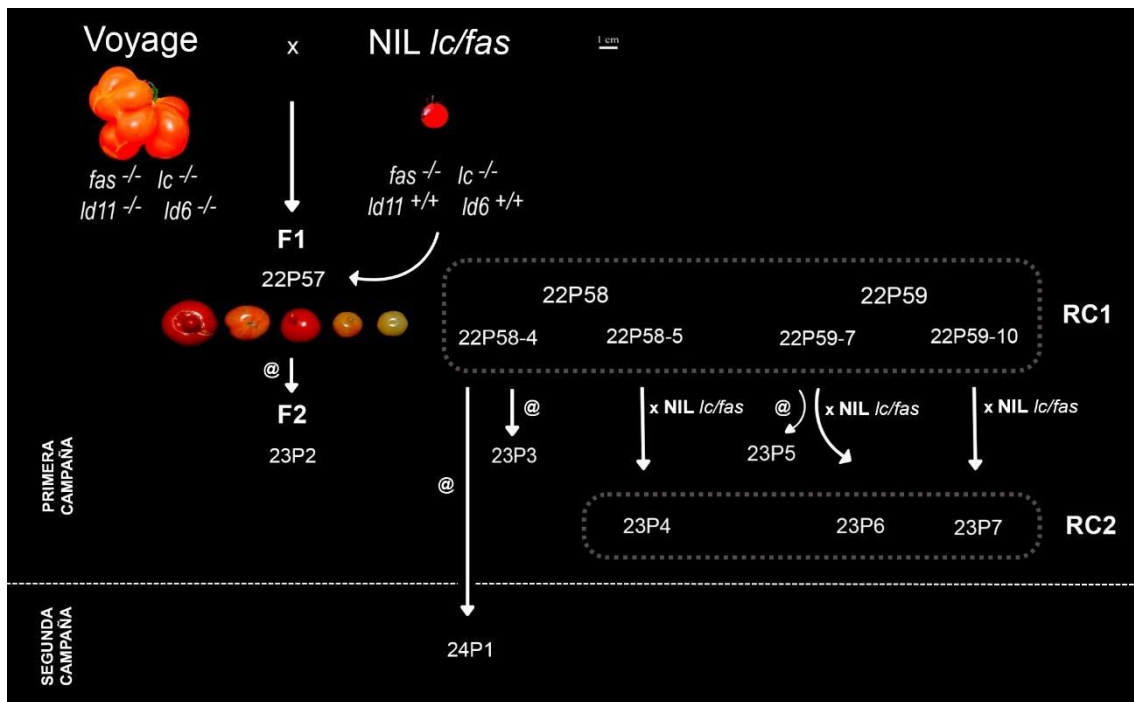


Figura 2: Esquema de desarrollo de poblaciones segregantes a partir del cruzamiento entre las líneas parentales "Voyage" y NIL *lc/fas*. Se incluyen imágenes representativas de los frutos de cada progenitor. Se indica la composición alélica para los genes *FAS* y *LC* y los determinantes genéticos del fenotipo apocárpico *ld6* y *ld11*. Nomenclatura alélica: -/- (homocigota con alelos cultivados) y +/+ (homocigota con alelos silvestres). El esquema ilustra las diferentes poblaciones segregantes obtenidas: segunda generación filial (F₂), retrocruza 1 (RC₁) y retrocruza 2 (RC₂). La línea horizontal blanca es la referencia de escala correspondiente a 1 cm.

Mediante un cruzamiento manual entre el cultivar "Voyage" y la NIL *lc/fas*, se obtuvo la primera generación filial (F₁). Para esto, se sembraron semillas de cada uno de los progenitores en bandeja de germinación de 72 celdas con sustrato N°1 de Dynamics (www.dynamicscompost.com.ar). Las bandejas se mantuvieron en invernadero con condiciones controladas de riego, temperatura y fotoperíodo 12 horas de luz. Cuando las plantas presentaron cuatro hojas verdaderas desplegadas, se realizó el trasplante en macetas. Las plantas se condujeron mediante tutorado y poda para favorecer el desarrollo de flores y frutos. Cuando las plantas del cultivar "Voyage" (genotipo utilizado como progenitor femenino) desarrollaron flores, éstas fueron emasculadas en forma manual aproximadamente un día antes de la apertura de la flor, cuando la corola cambia de color amarillo pálido a amarillo crema, pero aún se encuentra cerrada, para evitar la autofecundación siguiendo la metodología de Rick (1973). Para la

polinización se utilizaron flores en antesis de la línea NIL *lc/fas* (progenitor masculino), con corola amarilla y polen maduro, procediendo a la extracción de polen con pinzas. El polen se depositó sobre el estigma de las flores previamente emasculadas. Las flores polinizadas fueron etiquetadas con la información del cruzamiento y fecha de realización. Los frutos se dejaron crecer hasta alcanzar la madurez y se cosecharon.

Para la extracción y acondicionamiento de las semillas, los frutos se cortaron por el plano medio-lateral y su contenido locular se colocó en vasos de precipitado de 250 ml. Se agregó igual volumen de ácido clorhídrico al 25% v/v durante 30 minutos para eliminar los restos de tejidos que rodean las semillas. Luego, el contenido del vaso de precipitado se vertió en un colador y las semillas se enjuagaron con agua. Se colocaron nuevamente en el vaso de precipitado y se cubrieron con una solución de trisodio fosfato al 10% p/v durante 20 minutos, para eliminar cualquier contaminante externo. Finalmente, las semillas se lavaron exhaustivamente con agua, se dejaron secar sobre papel absorbente y se almacenaron en sobres debidamente rotulados. Se colocaron en una estufa durante tres días a 70 °C siguiendo las recomendaciones *TGRC (Tomato Genetics Resource Center, Universidad de Davis, California, EEUU)*.

Las semillas de la generación F₁ (“Voyage” x NIL *lc/fas*) fueron sembradas. Cuando las plantas F₁ desarrollaron flores, algunas se dejaron autofecundar, mientras que con otras se realizaron cruzamientos dirigidos y manuales con la NIL *lc/fas*, obteniendo así la RC₁ como se detalla en la Figura 2. Se lograron dos frutos de retrocruzas independientes, los cuales se cosecharon manualmente para la extracción y tratamiento de semillas. Se sembraron 22 semillas que dieron origen a la familia 22P58, y 15 semillas que originaron la familia 22P59. Se seleccionaron individuos de las familias 22P58 y 22P59 por marcadores moleculares de tipo InDel para los determinantes genéticos del fruto apocárpico. Se realizó una nueva caracterización molecular para confirmar su genotipo. Posteriormente, con las plantas RC₁ seleccionadas se iniciaron nuevos cruzamientos siguiendo el método de las retrocruzas, logrando así obtener una RC₂. Finalmente se cosecharon los frutos provenientes de todos los cruzamientos realizados y de las flores RC₁ que se autofecundaron. Posteriormente, este material vegetal se sembró y cultivó bajo condiciones

controladas en invernadero, para su evaluación fenotípica, dando lugar a la primera campaña de análisis. Esto se detalla en la sección 2.

En la segunda campaña de análisis se sembraron 220 semillas provenientes de la autofecundación de la RC₁ (22P58-4) y 36 semillas del cruzamiento proveniente entre la planta 23P3-8 (derivada de la autofecundación de RC₁) por la NIL *lc/fas*. Se evaluaron marcadores moleculares con el fin de identificar las plantas que presentaban recombinaciones genéticas en los determinantes del cromosoma 11 y 6. Las plantas seleccionadas se llevaron a maceta y se cultivaron bajo condiciones controladas en invernadero.

METODOLOGÍA

Extracción y cuantificación de ADN

La selección de plantas mediante marcadores moleculares de ADN se llevó a cabo en el Laboratorio PRAMIN de la FCA-UNR, el cual cuenta con el equipamiento adecuado, tales como genogrinder, espectrofotómetros, termocicladores, equipo de PCR en tiempo real, cubas de electroforesis vertical para separación de fragmentos, cubas de electroforesis horizontal para geles de agarosa, fuentes de poder (de 1000 y 3000 V), fotodocumentador de imágenes, microscopio óptico triocular de transmisión con sistema de epifluorescencia, centrifugas de mesa refrigerada, heladeras con freezer -20 °C, freezer verticales de -20 °C y -80 °C y cámaras para conservación de semillas y crecimiento de plántula.

Se extrajo ADN genómico de todas las plantas a partir de tejido de hojas jóvenes, siguiendo las metodologías descriptas por Bernatzky y Tanksley (1986) y Fulton et al. (1995). Se colocaron entre 4 y 6 primordios de hojas (con una superficie total cubierta de aproximadamente 1 cm) en tubos plásticos de 2 ml (previamente rotulados con el genotipo de las plantas) (Figura 3A). A cada tubo se le agregaron dos esferas de acero de 4 mm y 300 µl de mezcla del buffer de extracción, que incluye: bisulfito de sodio, buffer de extracción (0,35 M Sorbitol, 0,1 M Tris, 5 mM EDTA, pH 8,25), buffer de lisis nuclear (0,2 M Tris, 0,05 M EDTA, 2 M NaCl, 2 % CTAB, pH 8) y Sarkosyl 5 %. Luego se trituró el tejido vegetal en el Genogrinder hasta que estuviera completamente molido.

Se centrifugó a 12.000 rpm durante 2 minutos. Después, se añadieron 350 µl de mezcla del buffer de extracción a cada tubo y se mezcló por inversión. Los tubos se incubaron a 65 °C durante 30 minutos en estufa. En la campana de extracción, se adicionaron 600 µl de cloroformo isoamílico (mezcla de cloroformo e isoamil alcohol en una proporción 24:1). Los tubos se agitaron vigorosamente, y luego se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos, permitiendo separar los ácidos nucleicos de los lípidos y proteínas, concentrando el ADN en la fase acuosa superior.

En una nueva serie de tubos plásticos de 1,5 ml, se colocaron 600 µl de isopropanol. En la campana, se transfirió el sobrenadante o fase acuosa desde la primera serie de tubos a la segunda, que contenía el isopropanol, y se mezcló suavemente por inversión. Los tubos se centrifugaron a 12.000 rpm durante 5 minutos para precipitar el ADN. Posteriormente, se escurrió el isopropanol y se añadieron 600 µl de etanol al 70% para lavar el precipitado de ADN (Figura 3B). El etanol se eliminó y se dejó secar durante toda la noche.

Una vez que el precipitado estuvo completamente seco, se disolvió en 100 µl de TE (10 mM Tris pH 7,4 y 1 mM EDTA pH 8,0). La muestra se incubó 65 °C durante 15 minutos para disolver el ADN, se mezcló en un vórtice y se centrifugó a 10.000 rpm por 5 minutos. De esta manera, se obtuvo ADN puro para todas las muestras.

Se realizó la cuantificación del ADN para cada muestra mediante espectrofotometría, utilizando un equipo NanoDrop™ Lite (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, MA, EEUU). Finalmente, se realizó una dilución del ADN para igualar la concentración de las muestras a 10 ng/µl.

Caracterización genotípica con marcadores moleculares de ADN

Se utilizaron los marcadores PTZ14, asociado a *Id6*, y PTZ102, asociado a *Id11*, según lo reportado por Vazquez et al. (2022). Además, los cebadores PTZ112 y PTZ113 como marcadores del gen *FAS* (Huang y van der Knaap, 2011). Finalmente, los cebadores “lcn” que han sido descritos como marcadores del gen *LC* (Muños et al., 2011). Se realizó la amplificación de las regiones genómicas marcadas entre los cebadores directo (forward) y reverso (reverse) que se detallan en la Tabla 1 aplicando la metodología de PCR (*Polymerase*

Chain Reaction o reacción en cadena de la polimerasa). Se preparó la mezcla de reacción la cual contenía 20 ng de ADN genómico, 2 µl de dNTPs 2,5 mM, 1 µl de cloruro de magnesio (MgCl₂) 40 mM, 10 µM de cada cebador, 2 µl 10X de Taq buffer (50 mM KCl, 10 mM Tris-Cl pH 8,3) y 2 unidades de Taq polimerasa. El protocolo de amplificación utilizado varió de acuerdo con el marcador incorporado. Los protocolos utilizados fueron:

Fases del Proceso de Amplificación por PCR de los marcadores moleculares PTZ14, PTZ102 y LC

Inicio de la desnaturalización del ADN: 4 minutos a 94 °C.

Ciclos de amplificación o apareamiento (12 ciclos): que incluye la desnaturalización del ADN (30 segundos a 94 °C), hibridación (30 segundos a 58 °C) y extensión (1 minuto a 72 °C). Ciclos de amplificación o apareamiento (24 ciclos): que incluye la desnaturalización del ADN (30 segundos a 94 °C), hibridación (30 segundos a 54 °C) y extensión (1 minuto a 72 °C)

Elongación: 5 minutos a 72 °C y finalmente 16 °C durante infinite hold.

Fases del Proceso de Amplificación por PCR de FAS (Figura 3C)

Inicio de la desnaturalización del ADN: 5 minutos a 94 °C.

Ciclos de amplificación o apareamiento (34 ciclos): que incluye la desnaturalización del ADN (30 segundos a 94 °C), hibridación (30 segundos a 60 °C) y extensión (1 minuto a 72 °C).

Elongación: 5 minutos a 72 °C

Cebador ID	Secuencia	Posición física SL4.0 (pb)
PTZ14F	TTCTGGTCCTCCCAAAAATG	cr06: 42401105
PTZ14R	TGCTTGTCGTGTATCGTTCG	
PTZ102F	AGGCTTGATCCGAGGTAGGT	cr11: 49773016
PTZ102R	AATCTCCTCCCACCGTTCTT	
PTZ112F	TGCTAATTAGATTCCCACCAAG	cr11: 52946491
PTZ112R	AAGCCGTCACTCTGTCTTGT	
PTZ113F	CAGAAATCAGAGTCCAATTCCA	cr11: 53238004
PTZ113R	ATGGTGGGGTTTTCTGTTCA	
lcnSNP695F	GTCTCTTGGATGATGACTATTGCACTTT	cr02: 45189897
lcnSNP695R lev	AAAGTAGTACGAATTGTCCAATCAGTCAG	cr02: 45189364
lcnSNP695F cer	CTTTTCCTAAAAGATTTGGCATGAGGT	cr02: 45189418
lcnSNP695R	TCAGCGCCTCATTTTCTATAGTATTTGT	cr02:45189025

Tabla 1: Cebador ID: identificador del cebador, F: cebador forward, R: cebador reverse, SL4.0: versión del genoma de referencia, cr: cromosoma, pb: pares de bases.

La separación de los fragmentos amplificados se llevó a cabo en geles de agarosa al 3% p/v, en corridas electroforéticas de 2 horas con voltaje constante igual a 140V. La visualización se llevó a cabo mediante tinción con SYBR™ Safe (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, MA, EEUU) y un equipo de fotodocumentación ChemiDoc™ MP Imager (Bio-Rad Laboratories®, Hercules, California, EEUU) (Figura 3D).



Figura 3: Etapas del proceso de extracción y análisis molecular de ADN en tomate (*Solanum lycopersicum*). A) Recolección de tejido vegetal. B) Etapa del proceso de extracción de ADN, agregando 600 µl de etanol al 70%. C) Amplificación del ADN mediante PCR en el termociclador. D) Gel de agarosa 3% revelado con SYBR Safe, en la primera calle se observa el marcador de peso molecular (PM), en las demás el resultado presencia/ausencia de banda correspondiente al marcador molecular PTZ112 (que marca el gen *FAS*).

Caracterización fenotípica

Para analizar la eficacia de los cruzamientos manuales en los distintos genotipos, se evaluaron los frutos obtenidos por cruzamientos entre las plantas seleccionadas de las familias 22P58 y 22P59, y el híbrido entre “Voyage” y la NIL *lc/fas* (Figura 2). Los caracteres analizados fueron la cantidad de cruzamientos, el número de frutos desarrollados o cuajados, las semillas obtenidas, la probabilidad de éxito de cruzamiento (número de frutos cuajados/número de cruzamientos) y la eficiencia de cruzamiento (número de semillas/número de cruzamientos). Dichos cruzamientos dieron lugar a la segunda generación de retrocruza (RC₂).

Se evaluaron las diferencias significativas entre las medias de las familias 22P58 y 22P59 para todas las variables. Para esto, se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras independientes, considerando un nivel de significancia del 5%. Los análisis estadísticos y gráficos se llevaron a cabo

con el programa informático R, versión 4.2.1 (R Core Team, 2022).

RESULTADOS

En la Tabla 2 se puede observar la constitución genética de los progenitores, las plantas F₁ (22P57-1 y 22P57-2) y las plantas seleccionadas de la RC₁.

	PTZ14 (<i>Id6</i>)	PTZ102 (<i>Id11</i>)	PTZ112 y 113 (<i>FAS</i>)	lcnSNP695 (<i>LC</i>)
Voyage-1	1	1	1	1
Voyage-2	1	1	1	1
NIL <i>lc/fas</i>	3	3	2	2
NIL <i>lc/fas</i>	3	3	2	2
22P57-1	2	2	1	1
22P57-2	2	2	1	1
22P58-4	2	2	2	1
22P58-5	1	2	1	1
22P58-6	3	3	2	1
22P59-1	3	1	1	1
22P59-3	3	1	1	1
22P59-7	2	3	1	1
22P59-10	1	1	1	1

Tabla 2: Caracterización genética de los alelos en los marcadores PTZ14, PTZ102, y de los genes *FAS* y *LC* de los genotipos parentales, híbridos y plantas seleccionadas de las familias 22P58 y 22P59. Los valores indican el estado alélico: 1 (homocigoto mutante o cultivado), 2 (heterocigoto) y 3 (homocigoto silvestre).

Los datos moleculares demostraron que el progenitor femenino “Voyage” presentó una constitución genética homocigota para los alelos mutantes en todos los marcadores moleculares evaluados, lo que reflejó su origen cultivado (Tabla 2). Por su parte, el progenitor masculino NIL *lc/fas*, demostró ser homocigota para los alelos de tipo silvestre en los marcadores PTZ14 y PTZ102, y heterocigota en los genes *FAS* y *LC*.

Por otro lado, las plantas F_1 (22P57-1 y 22P57-2) presentaron una constitución heterocigota para los marcadores PTZ14 y PTZ102, mientras que los genes *FAS* y *LC* resultaron homocigotas para los alelos cultivados.

Se seleccionaron siete plantas de la RC_1 que mostraron recombinaciones en los *loci* localizados en los cromosomas 6 y 11, con el objetivo de evaluar la herencia de los alelos en *Id6* y *Id11*. Las plantas seleccionadas fueron: 22P58-4, 22P58-5, 22P58-6, 22P59-1, 22P59-3, 22P59-7, 22P59-10.

El análisis estadístico de las familias 22P58 y 22P59 mostró diferencias significativas entre las medias en la variable número de cruzamientos ($p < 0,05$), mientras que para el resto de las variables analizadas (número de frutos cuajados, semillas, probabilidad de éxito de cruzamiento y eficiencia de cruzamiento), no se encontraron diferencias significativas entre las familias (Figura 4).

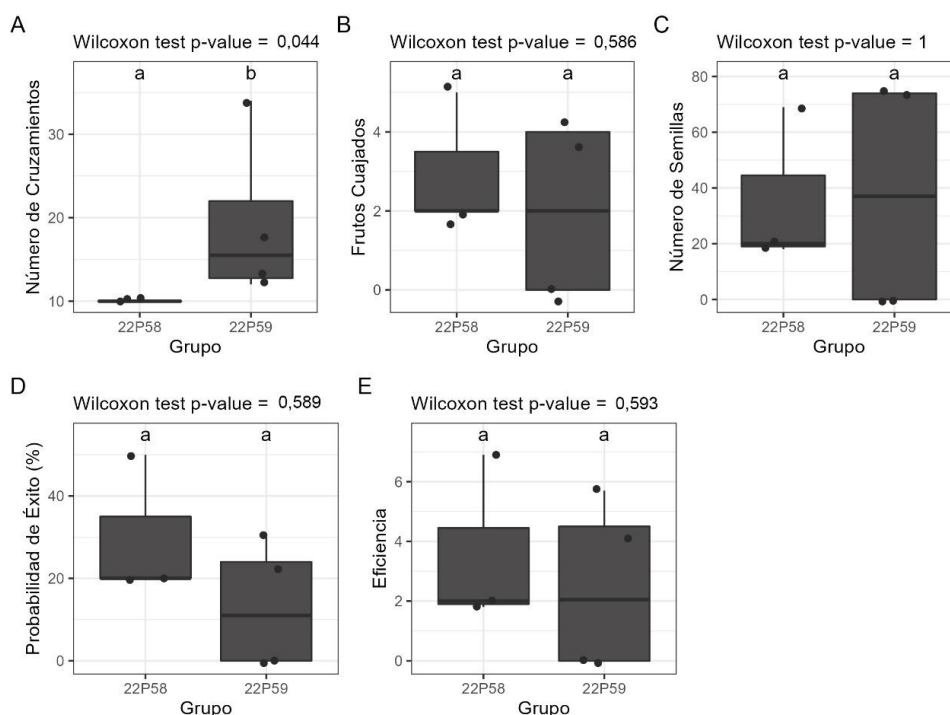


Figura 4: Comparación de las variables analizadas: número de cruzamiento, frutos cuajados, número de semillas, probabilidad de éxito de cruzamiento y eficiencia entre los dos grupos de familias (22P58 y 22P59) mediante la prueba de Wilcoxon. Se muestran los valores de p para cada parámetro evaluado.

Si bien la eficiencia de cruzamiento no presentó diferencias significativas entre las familias, los valores más altos se observaron en los cruzamientos que

incluyeron las plantas 22P58-4, 22P59-7 y 22P59-10 (Tabla 3). Por el contrario, los cruzamientos en los que participaron las plantas 22P59-1 y 22P59-3 no resultaron en la formación de frutos.

Progenitor Femenino	N° de Cruzamiento	N° de Frutos Cuajados	Semillas	Probabilidad de éxito de Cruzamiento (%)	Eficiencia
22P58-4	10	5	69	50	6,9
22P58-5	10	2	18	20	1,8
22P58-6	10	2	20	20	2,0
22P59-1	34	0	0	0	0,0
22P59-3	12	0	0	0	0,0
22P59-7	18	4	74	22	4,1
22P59-10	13	4	74	30	5,7

Tabla 3: Rendimiento de cruzamientos en las familias 22P58 y 22P59 con la NIL *lc/fas*. Se muestran los valores para el número de cruzamientos realizados, frutos cuajados, semillas obtenidas, probabilidad de éxito de cruzamiento (%) y eficiencia de cruzamiento en diferentes progenitores femeninos cruzados con NIL *lc/fas*.

Como resultado del trabajo experimental de esta sección, se obtuvieron 21 semillas a partir de la autofecundación de la F₁ ("Voyage" x NIL *lc/fas*) designada como 22P57, que luego derivaron en la población 23P2. Asimismo, los cruzamientos entre la F₁ y NIL *lc/fas* produjeron 17 semillas, las cuales no fueron consideradas en la primera y segunda campaña.

Por otra parte, de los frutos derivados de la autofecundación de una RC₁ (22P58-4), se obtuvieron más de 500 semillas. Estas semillas dieron lugar a la población 23P3. En el cruzamiento 22P58-4 y NIL *lc/fas*, se cosecharon cinco frutos, que generaron un total de 69 semillas. El cruzamiento entre 23P58-5 (RC₁) y NIL *lc/fas* resultó en dos frutos, con un total de 18 semillas (nueve semillas por fruto). Estas semillas originaron la población 23P4. De forma similar, el cruzamiento entre 22P58-6 (RC₁) y NIL *lc/fas* produjo 20 semillas. Los

cruzamientos en los cuales estuvieron involucrados las plantas 22P58-4 y 22P58-6, con la NIL *lc/fas*, no se sembraron durante las campañas analizadas.

En cuanto a los cruzamientos entre las plantas 23P59-7 (RC₁) y 22P59-10 (RC₁), con la NIL *lc/fas*, ambos dieron lugar a cuatro frutos cada uno, obteniéndose un total de 74 semillas por cruzamiento. Estas semillas derivaron en las poblaciones 23P6 y 23P7, respectivamente. Además, la autofecundación de la planta 23P59-7 generó cuatro frutos con un total de 60 semillas. Éstas dieron lugar a la población 23P5.

Las semillas cosechadas fueron sembradas para realizar la primera campaña de evaluación de segregación de los determinantes genéticos de fruto apocárpico en tomate. Cabe destacar que no se cosecharon frutos de autofecundación de las plantas 22P58-5, 22P58-6 y 22P59-10

En la segunda campaña de evaluación, de las 210 plantas autofecundadas RC₁, se seleccionaron un total de 47 plantas que dieron lugar a la población 24P1 (Figura 2). La Tabla 4 muestra la cantidad de plantas seleccionadas según diferentes marcadores y su agrupación con base en la constitución genotípica.

PTZ14 (<i>Id6</i>)	PTZ102 (<i>Id11</i>)	PTZ112 y 113 (<i>FAS</i>)	lcnSNP695 (<i>LC</i>)	Grupo	Plantas obtenidas
1	1	1	1	G1	2
3	3	3	1	G2	4
3	3	1	1	G3	1
3	1	1	1	G4	3
1	1	3	1	G5	0
1	3	3	1	G6	5
1	3	1	1	G7	5
3	1	3	1	G8	0
3	2	1	1	G9	5
3	2	3	1	G10	5
3	3	2	1	G11	12
1	1	2	1	G12	0
2	1	1	1	G13	5

Tabla 4: Constitución genética y cantidad de plantas seleccionadas y su agrupamiento en base a los diferentes marcadores PTZ14, PTZ102 y aquellos del gen *FAS*. Nomenclatura alélica: 1 genotipo homocigoto para los alelos mutantes (alelos como “Voyage”), 2: heterocigoto, y 3: genotipo homocigoto para los alelos de tipo silvestre.

CONCLUSIÓN PARCIAL

Se desarrollaron poblaciones segregantes derivadas del cruzamiento entre el cultivar “Voyage” y la isolínea NIL *lc/fas*, abarcando generaciones F₂, RC₁ (incluyendo su autofecundación) y RC₂. Estas poblaciones presentaron diversas combinaciones alélicas para los determinantes genéticos del fruto apocárpico. A través de la caracterización molecular de las plantas RC₁, se identificaron individuos con recombinaciones en los cromosomas 6 y 11, lo que permitirá analizar el efecto de los alelos *Id6* y *Id11* en un fondo genético donde *LC* y *FAS* están fijados o no segregan. Estos avances permitirán establecer asociaciones entre la segregación fenotípica y genotípica, aportando información clave para comprender la herencia del carácter apocárpico y su interacción con otros genes mayores.

SECCIÓN 2

EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE POBLACIONES SEGREGANTES PARA LOS DETERMINANTES GENÉTICOS DE LA FORMA DEL FRUTO APOCÁRPICO

MATERIAL VEGETAL

Durante la primera campaña, se sembraron en bandejas de germinación semillas de generaciones avanzadas de autofecundaciones y retrocruzas (Tabla 5). Luego de 48 días, las plántulas fueron trasplantadas al invernadero de la Sección de Horticultura. Se llevaron un total de 16 plantas de la familia 23P2, 143 de la familia 23P3, 17 de la familia 23P4, 23 de la familia 23P5, 48 de la familia 23P6 y 35 de la familia 23P7 (Figura 2). Las plantas se distribuyeron en doble hilera apareadas sobre lomos recubiertos con plástico negro, empleando un diseño completamente aleatorizado. El riego se realizó mediante sistema de goteo, de acuerdo con el requerimiento de las plantas, para evitar el estrés hídrico. Las plantas fueron conducidas mediante tutorado con hilos y se realizaron podas periódicas para optimizar su desarrollo (Figura 5). Las plantas fueron fertilizadas y se realizó control de plagas y enfermedades de acuerdo con el manejo común para la zona.

	Familia	Siembra	Trasplante
F^2	23P2	21 semillas	16 plantas
RC^1	23P3	150 semillas	143 plantas
	23P5	25 semillas	23 plantas
RC^2	23P4	18 semillas	17 plantas
	23P6	50 semillas	48 plantas
	23P7	35 semillas	35 plantas

Tabla 5: Cantidad de semillas sembradas y plantas trasplantadas a campo por familia.



Figura 5: Diferentes etapas del cultivo de tomate. A) Momento de la siembra en bandejas de germinación. B) Emergencia de los cotiledones a los 10 días de la siembra. C) Plántula de tomate a los 20 días de la siembra. D) Plantas conducidas en la primera campaña del cultivo.

Durante la segunda campaña, luego de la selección de combinaciones genéticas para los determinantes del fruto apocárpico, se trasplantaron 35 plantas 24P1 derivadas de la autofecundación de la planta 22P58-4 (RC₁). Esta campaña se llevó a cabo bajo invernáculo, las plantas fueron trasplantadas en macetas de 20 cm³ con $\frac{1}{3}$ perlita $\frac{2}{3}$ sustrato Kekkila y dispuestas de manera aleatoria, bajo condiciones óptimas para el desarrollo del cultivo, según se indicó previamente.

METODOLOGÍA

Caracterización Fenotípica

Se cosecharon manualmente entre cuatro y ocho frutos por planta en los estados de madurez verde maduro, pintón o rojo maduro. El estado verde maduro es la etapa en la que el fruto, aunque aún está inmaduro, ha alcanzado su tamaño máximo y contiene semillas maduras y viables. En el estado pintón,

el fruto presenta aproximadamente un 10 % de su superficie con el color característico de madurez. El rojo maduro es el estado fisiológico final, en el que el fruto ha desarrollado completamente su color de madurez, acompañado de la máxima acumulación de carotenoides (Giovannoni, 2004). Entre los caracteres analizados, se incluyen:

- Caracteres Cuantitativos

Peso (g): medido con balanza digital al momento de la cosecha.

Altura y diámetro (cm) de fruto: medido con calibre en el plano próximo-distal y medio-lateral, respectivamente. A partir de estos datos se calculó el índice de forma (altura/diámetro) donde valores cercanos a uno indican una forma perfectamente esférica, valores mayores a uno corresponden a una forma alargada, y valores menores a uno corresponden a frutos más achatados.

Luego, los frutos se cortaron en la dirección medio-lateral, se secaron con papel absorbente, se colocaron hacia abajo en un escáner y se digitalizaron ambas mitades a 600 pixeles por pulgadas, para obtener una imagen por planta. Las imágenes se analizaron con el programa *Tomato Analyzer* (Rodríguez et al., 2010). Los caracteres analizados fueron: perímetro (cm), área (cm²), ancho y alto máximo, espesor y área del pericarpio, grado de irregularidad externa y número de lóculos (Figura 6). El número de lóculos se determinó manualmente contando la cantidad de cavidades internas de los frutos en las que se alojan las semillas.

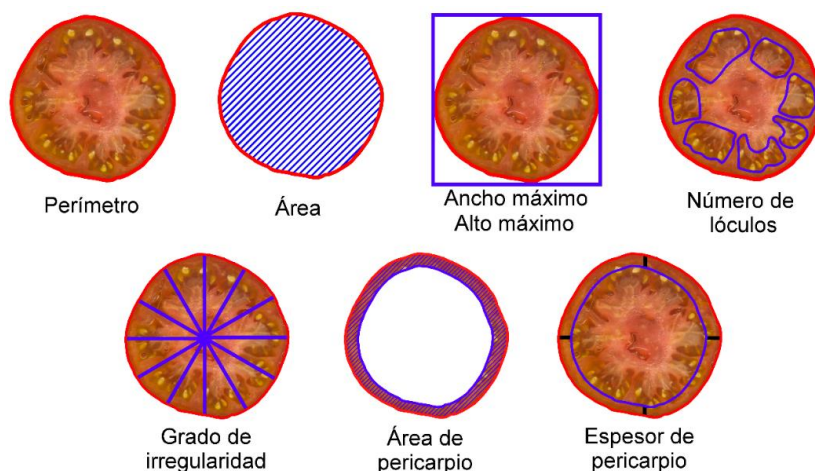


Figura 6: Esquema representando el análisis de caracteres morfológicos en la dirección medio-lateral con el programa *Tomato Analyzer* 4.0. Adaptado de la Tesis de la Dra. Dana Valeria Vazquez (2022).

- Caracteres cualitativos

Para cada planta cosechada, se determinó visualmente el carácter tipo de carpelos, diferenciando entre frutos normales (carpelo fusionado) y frutos apocárpicos (carpelos no fusionados) (Figura 7). Dado que la expresión del carácter de los carpelos mostró variabilidad dentro de la planta, se consideró no fusionada si la planta presentaba al menos un fruto con el fenotipo apocárpico.



Figura 7: Representación del carácter tipo de carpelo: fruto normal (carpelos fusionados) y fruto apocárpico (carpelos no fusionados). Adaptada de la Tesis de la Dra. Dana Valeria Vazquez (2022).

Análisis Estadístico

Para cada familia, se calcularon sobre las variables analizadas el valor promedio, el error estándar, el valor máximo, mínimo, primer y tercer cuartil (q_1 y q_3) y la varianza. La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro y Wilk (1965), considerando como distribuciones normales aquellas con valores donde el estadístico W fue superior a 0,85. Para todos los caracteres con distribución normal, se estimó la heredabilidad en sentido amplio (H^2) mediante un análisis de varianza (ANOVA), clasificándose los valores en altos ($> 0,50$), medios (0,25 - 0,50) y bajos ($< 0,25$) de acuerdo a Stansfield (1971).

Las correlaciones fenotípicas entre caracteres se determinaron mediante la prueba de Spearman.

Para evaluar la segregación del carácter tipo de carpelo, se consideró que el fruto normal es dominante sobre el fruto apocárpico puesto que éste es el fenotipo dominante en las F_1 de los cruzamientos. En la generación F_2 y en las familias derivadas de la autofecundación de una RC_1 , se analizó la segregación

de este carácter utilizando los modelos mendelianos esperados (3:1) y distintos modelos de epistasis doble (9:7, 13:3 y 15:1), mediante la prueba de bondad de ajuste Chi-cuadrado (χ^2). Además, en las familias provenientes de una RC₂, se verificó que el 100% de los frutos fueran normales.

Todos los análisis estadísticos y gráficos se llevaron a cabo con el programa informático R, versión 4.2.1 (R Core Team, 2022). Se utilizaron las funciones de estadísticas básicas y los paquetes *ggcorrplot* (Kassambara, 2019), *corrplot* (Wei y Simko, 2017), *ggplot2* (Wickham, 2016), *patchwork* y *dplyr* (Wickham et al., 2023).

RESULTADOS

De las 282 plantas trasplantadas a invernáculo en la primera campaña, sólo se lograron evaluar un total de 99 plantas para los caracteres cuantitativos ya que el ensayo fue afectado por la presencia de nemátodos y enfermedades de suelo. En la Tabla 6 se detalla la cantidad de plantas evaluadas, plantas muertas y número de frutos totales por familia en la primera campaña. Para el carácter cualitativo, tipo de carpelo, se evaluaron 116 plantas en la primera campaña.

Familias	Plantas Evaluadas	Plantas Muertas	Número de Frutos Totales
L ² 23P2	8	8	37
RC ₁ ©	23P3	93	50
	23P5	12	11
RC ₂	23P4	8	9
	23P6	38	10
	23P7	24	11
Total	99	183	553

Tabla 6: Cantidad de plantas evaluadas, muertas y número de frutos totales evaluados por familia en la primera campaña.

En la Figura 8 se muestra la distribución de las diferentes variables morfológicas discriminadas por familia. La familia 23P2 presentó mayor mediana en la mayoría de las variables, excepto en el índice de forma y espesor de pericarpio. Por otro lado, la familia 23P6 presentó los valores más bajos y menor dispersión en la mayoría de las variables.

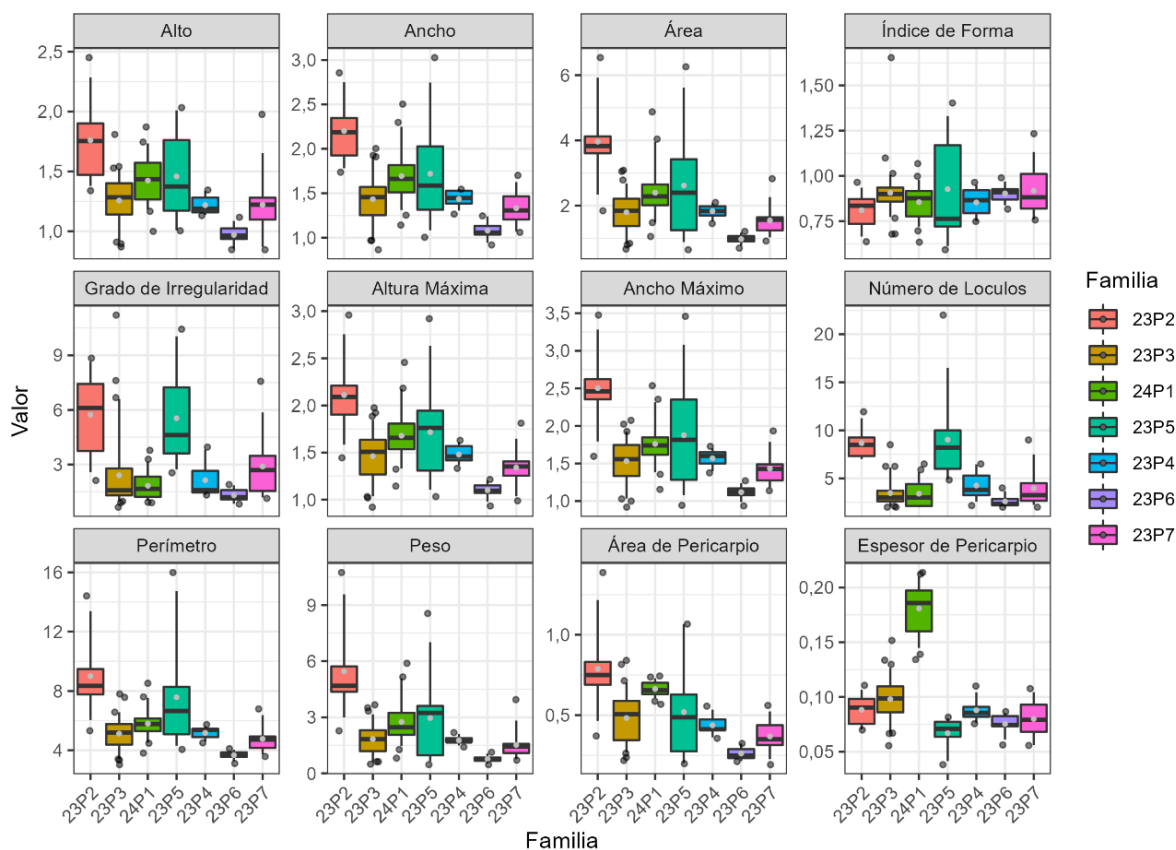


Figura 8: Distribución de las diferentes variables morfológicas discriminadas por familia. En el eje X se presentan las distintas poblaciones evaluadas, mientras que en el eje Y se muestran los valores correspondientes a cada variable morfológica cuantitativa analizada. Los puntos grises indican el valor medio de cada variable para cada familia. Las cajas representan el rango intercuartílico (IQR), donde el límite inferior y superior de la caja corresponden al primer y tercer cuartil, respectivamente, y la línea central dentro de la caja muestra la mediana. Líneas enteras indican los percentiles 5% (0,05) y 95% (0,95). Los puntos fuera de estos límites son considerados *outliers*.

La familia 23P5, se destacó por presentar mayor dispersión en las variables peso, ancho, alto y área. En estas variables se observó que las familias que pertenecen al grupo de RC₂ (23P4, 23P6 y 23P7) presentaron menor dispersión en comparación a las familias que provienen de autofecundación de RC₁ (23P3, 24P1 y 23P5).

En la variable índice de forma, la familia 23P5, fue la que presentó una mayor dispersión, mientras que todas las familias han presentado una distribución asimétrica. Para número de lóculos, las familias 23P2 y 23P5 fueron las que presentaron los mayores valores, con un máximo de 18 y 22 lóculos respectivamente. Además, dichas familias fueron las que presentaron mayor dispersión y mediana en la variable grado de irregularidad. En esta última variable, todas las familias han presentado una distribución asimétrica.

Para el espesor del pericarpio, con excepción de las familias 23P3 y 24P1, se observaron valores similares, con medianas bajas y poca dispersión, reflejando una mayor uniformidad en la variable.

En la Figura 9 se muestran los histogramas de frecuencia de todas las variables para las familias 23P2 y 23P3, mientras que el resto de las familias se muestra en el ANEXO I (Figura suplementaria 1). La familia 23P2 presentó distribución normal para todas las variables analizadas; mientras que, en el resto de las familias al menos una variable mostró una distribución no normal. Las dos variables que presentaron distribución no normal con más frecuencia fueron número de lóculos y grado de irregularidad.

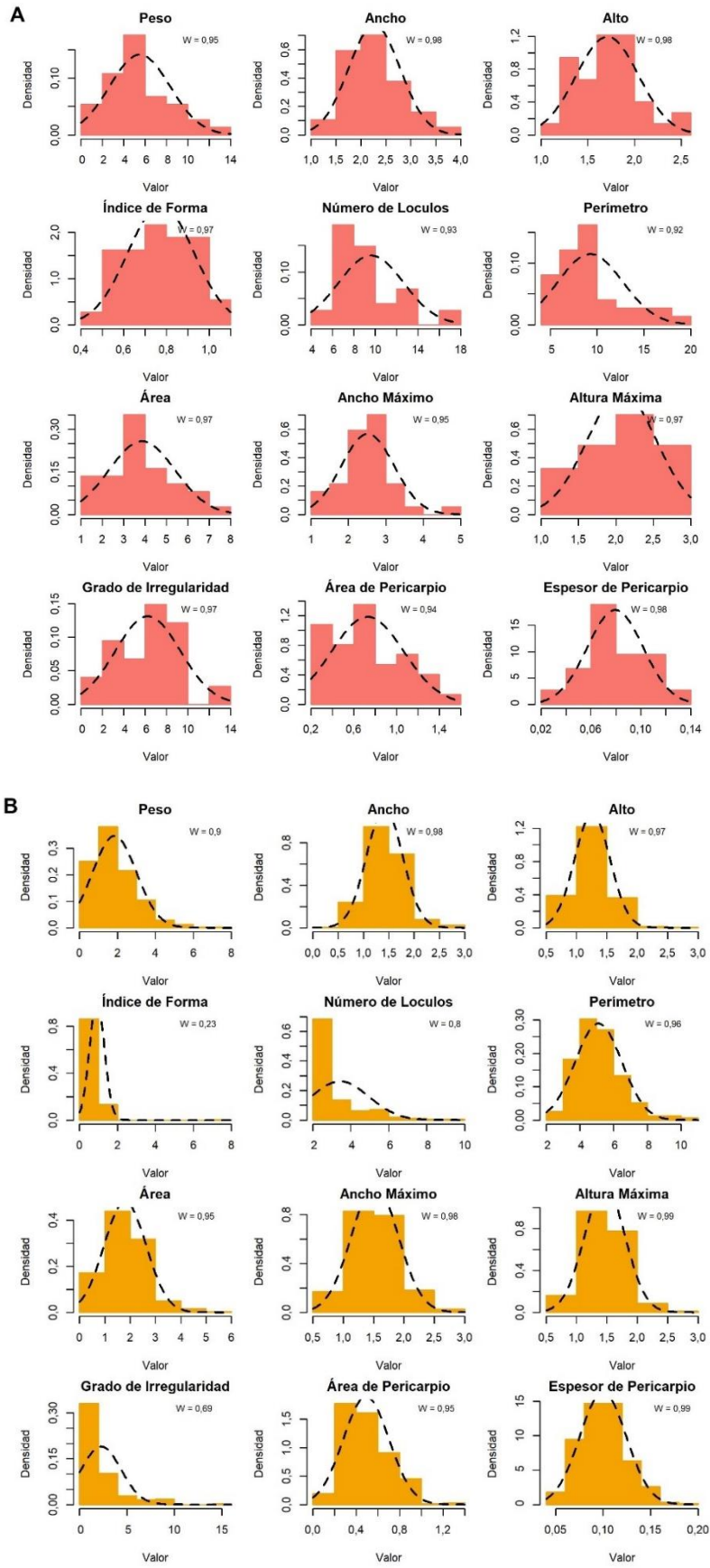


Figura 9: Histogramas de frecuencias de todas las variables analizadas en las familias: A) 23P2 y B) 23P3.

En la Tabla 7 se presentan los valores de heredabilidad en sentido amplio (H^2) para los distintos caracteres analizados en las diferentes familias. Se observaron valores que oscilaron entre un mínimo de 0,00 registrado para la variable índice de forma en la familia 23P6, y un máximo de 0,64 correspondiente a la variable altura en la familia 23P5. Los valores de H^2 de las variables número de lóculos y grado de irregularidad no se calcularon en varias familias, debido a que estas variables presentaron una distribución no normal.

	23P2	23P3	24P1	23P5	23P4	23P6	23P7
Peso	0,48***	0,45***	0,53***	nc	0,04 ns	0,24**	nc
Ancho	0,27*	0,52***	0,54***	0,44**	0,04 ns	0,32**	0,36**
Alto	0,39**	0,52***	0,58***	0,64***	0,04 ns	0,36**	nc
Índice de Forma	0,25*	nc	0,44***	0,32*	0,3***	0*	0,39***
Nº Lóculos	0,36**	nc	nc	nc	nc	nc	nc
Perímetro	0,39**	0,57***	0,51***	nc	0,05 ns	0,26**	0,35**
Área	0,47***	0,5***	0,59***	0,53***	0,06 ns	0,21*	nc
Ancho Máximo	0,41**	0,53***	0,56***	0,57***	0,05 ns	0,43**	0,27*
Alto Máximo	0,58***	0,56***	0,58***	0,46***	0,16*	0,16*	0,34**
Grado Irregularidad	0,41**	nc	nc	0,5***	nc	0,23*	nc
Área de Pericarpio	0,21 ns	0,55***	nc	nc	0,07*	0,34***	0,24**
Espesor de Pericarpio	0,25*	0,46***	0,44***	0,18 ns	0,25**	0,46***	0,58***

Tabla 7: Valores de heredabilidad en sentido amplio (H^2) para los caracteres analizados en las diferentes familias. Abreviaciones: nc=no calculado (cuando el carácter resultó con distribución no normal), p-valor del ANOVA: >0,05=ns=no significativo, *<0,05=significativo, **<0,01=muy significativo, ***<0,001=altamente significativo.

Se destacó que en la familia 23P2 el valor más alto se correspondió a la variable alto máximo ($H^2 = 0,58^{**}$). Por su parte, en la familia 23P3 se registraron valores altos en las variables ancho y alto ($H^2 = 0,52^{***}$), perímetro ($H^2 = 0,57^{***}$), ancho máximo ($H^2 = 0,53$), alto máximo ($H^2 = 0,56$) y área de pericarpio ($H^2 = 0,55$). En la familia 24P1, las mayores estimaciones de H^2 se observaron en las variables peso ($H^2 = 0,53$), ancho ($H^2 = 0,54$), alto ($H^2 = 0,58$), perímetro ($H^2 = 0,51$), área ($H^2 = 0,59$), ancho máximo ($H^2 = 0,56$) y alto máximo ($0,58$). En la familia 23P5 las variables alto, área y ancho máximo presentaron valores de H^2 elevados, alcanzando 0,64, 0,53 y 0,57 respectivamente. Además, la familia 23P7 presentó una H^2 de 0,58 para la variable espesor de pericarpio. En

23P6, la cual dio no significativa. Por otro lado, el grado de irregularidad y el número de lóculos mostraron una correlación positiva significativa en la mayoría de las familias. Sin embargo, en la familia 23P6 esta relación fue negativa y no significativa, y en la familia 23P2 fue positiva y no significativa. El grado de irregularidad mostró correlaciones positivas con ancho y perímetro, excepto en la familia 23P6. Sin embargo, para todas las familias se observó una correlación negativa entre grado de irregularidad y alto.

En todas las familias el espesor de pericarpio presentó una correlación positiva alta con el área del pericarpio, excepto en la familia 24P1 que presentó una correlación negativa alta. En las familias 23P3, 24P1, 23P4, 23P6 y 23P7 se encontraron correlaciones negativas entre el espesor del pericarpio y grado de irregularidad. Por su parte, se encontraron correlaciones no significativas entre el espesor del pericarpio y grado de irregularidad en las familias 23P2 y 23P5.

En la Figura 11 se muestra la diversidad de frutos para todas las familias evaluadas. En la Tabla 8, se presenta la proporción esperada de plantas con frutos normales y plantas con frutos apocárpicos, de acuerdo al tipo de herencia analizada en cada población.

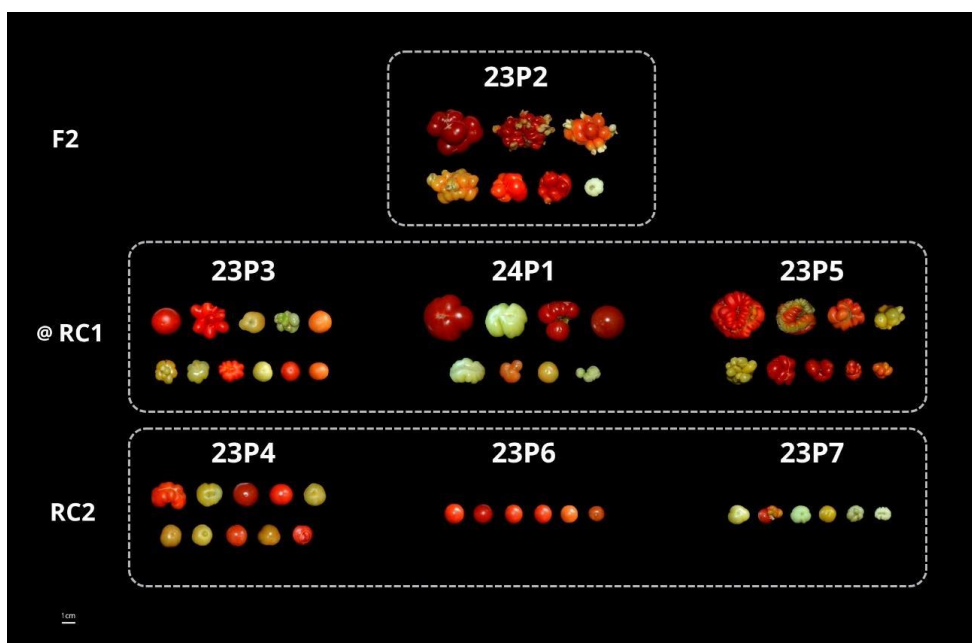


Figura 11: Vista de base de frutos representativos en las diferentes familias analizadas, donde se observa la segregación para el carácter tipo de carpelos. La línea horizontal blanca es la referencia de escala correspondiente a 1 cm.

Familia	Número de Plantas		Proporción Esperada	χ^2	p-valor	
	Frutos Normales	Frutos Apocárpicos				
F ₂ 23P2			3:1	33,06	<0,001	
			9:7	16,50	<0,001	
		1	8	13:3	39,84	<0,001
				15:1	55,31	<0,001
RC ₁ @ RC ₁	23P3	48	8	3:1	36	<0,001
				9:7	272,25	<0,001
				13:3	6,25	<0,001
				15:1	20,25	<0,001
RC ₂	23P5	0	11	3:1	68,06	<0,001
				9:7	38,28	<0,001
				13:3	79,87	<0,001
				15:1	106,54	<0,001
RC ₂	23P4	11	0	1:0	0	>0,05
	23P6	13	0	1:0	0	>0,05
	23P7	14	2	1:0	4	<0,05

Tabla 8: Proporción esperada entre cantidad de plantas con frutos normales y frutos apocárpicos que se esperan de acuerdo al tipo de herencia analizada en cada población. χ^2 = valor del estadístico Chi-Cuadrado. Un valor de p >0,05 indica que la segregación se ajustó las proporciones esperadas.

El carácter tipo de carpelo (normales/apocárpicos) no se ajustó a la proporción mendeliana 3:1 en su segregación ni a ninguno de los modelos epistáticos evaluados (9:7, 13:3, 15:1) en la F₂ (23P2) y en las familias que provienen de la autofecundación de la RC₁ (23P3 y 23P5, Tabla 8). En las familias RC₂, la 23P4 y 23P6 fueron frutos 100% normales como se esperaba, mientras que en la familia 23P7 aparecieron dos plantas con frutos apocárpicos. Por otro lado, la familia 24P1 no fue considerada en este análisis, ya que las plantas fueron seleccionadas mediante marcadores moleculares.

CONCLUSIONES PARCIALES

- La primera campaña estuvo afectada por la presencia de nemátodos y enfermedades del suelo, lo que redujo significativamente la cantidad de plantas evaluadas.
- Las variables número de lóculos y grado de irregularidad presentaron una distribución no normal en la mayoría de las familias.
- La familia 23P2 presentó valores más altos en la mayoría de los atributos evaluados, mientras que 23P6 mostró las menores dimensiones y menor dispersión de datos.
- Se encontraron valores de heredabilidad en sentido amplio que varían entre bajos y altos según la familia y el carácter analizado.
- La segregación del tipo de carpelo (frutos normales o frutos apocárpicos) no se ajustó a una proporción mendeliana en ninguna de las familias evaluadas. En las familias 23P4 y 23P6, segregó el carácter en concordancia con lo esperado de una generación de retrocruza, frutos 100% normales.

SECCIÓN 3

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LOS *LOC*I QUE CONTROLAN LA FORMA DEL FRUTO APOCÁRPICO EN TOMATE

MATERIAL VEGETAL

Las plantas usadas para la extracción del ADN genómico fueron aquellas evaluadas fenotípicamente durante ambas campañas productivas (Sección 2).

METODOLOGÍA

La metodología empleada para la extracción y cuantificación de ADN, así como para la caracterización genotípica mediante el uso de marcadores moleculares de ADN, se encuentra detallada en el apartado “Metodología” de la Sección 1.

Análisis estadístico

Se evaluó la segregación de los marcadores moleculares PTZ14 y del gen *FAS* mediante la prueba de χ^2 , considerando una proporción esperada de 1:2:1 en las generaciones F_2 y RC_1 , correspondiente a la segregación mendeliana esperada para un *locus*. En la familia 24P1, se analizó la segregación de los marcadores en el total de plantas antes de realizar la selección. Para la generación RC_2 , donde se fijaron los alelos mutantes o silvestres, se consideró una proporción esperada de 1:1.

El *locus LC* no fue incluido en el análisis, ya que no mostró segregación en ninguna de las familias analizadas, lo que indicó que el alelo mutante estaba fijo en todas las plantas progenitoras. Durante la primera campaña, el marcador molecular PTZ102 también fue excluido, ya que amplificó bandas de un peso molecular distinto al esperado y mostró un exceso de heterocigota, así como homocigotas con alelos silvestres en las familias 23P2 y 23P3, cuya planta madre era heterocigota para este marcador.

El análisis de asociación entre los marcadores PTZ14 y *FAS* y las variables fenotípicas se llevó a cabo en la familia 23P3, ya que el número de

plantas en las familias 23P2, 23P4, 23P5, 23P6 y 23P7 fue insuficiente para un análisis estadístico robusto. Se empleó el método de análisis de un solo punto (SPA, single point analysis) mediante ANOVA, con ajuste de Bonferroni (Collard et al., 2005).

En la segunda campaña, se utilizó la prueba *t-Student* (Gosset, 1908) para determinar la existencia de diferencias significativas entre las medias de los distintos grupos según su constitución genética. Este análisis se realizó considerando únicamente aquellos grupos con tres o más plantas.

Todos los análisis estadísticos y gráficos se llevaron a cabo con el programa informático R, versión 4.2.1 (R Core Team, 2022). Se utilizaron las funciones de estadísticas básicas y los paquetes *tidyverse* (Wickham et al., 2019), *ggpubr* (Kassambara, 2020), *rstatix* (Kassambara, 2021), *ggplot2* (Wickham, 2016), *emmeans* (Lenth, 2025)

RESULTADOS

En la Tabla 9 se muestran, para cada marcador y familia analizada, el número de individuos observados clasificados según su constitución genética: homocigotos para alelos del progenitor "Voyage" (1), heterocigotos (2), y homocigotos para alelos del progenitor NIL *lc/fas* (3). Además, se incluyen la proporción esperada de cada genotipo y el tipo de cruzamiento realizado.

Familia	Marcador Molecular	N° de Individuos Observados			Proporción Esperada	χ^2	p-valor	
		1	2	3				
		F_2	23P2	PTZ14				1
		PTZ112 y PTZ113	9	-	-	1:0:0	0	>0,05
@ RC ¹	23P3	PTZ14	14	21	12	1:2:1	5,68	>0,05
		PTZ112 y PTZ113	7	38	2		163,93	<0,001
	24P1	PTZ14	41	122	44	1:2:1	258,93	<0,001
		PTZ112 y PTZ113	47	126	34		421,93	<0,001
	23P5	PTZ14	3	5	1	1:2:1	1,18	>0,05
		PTZ112 y PTZ113	9	-	-	1:0:0	0	>0,05
RC ²	23P4	PTZ14	-	9	-	0:1:0	0	>0,05
		PTZ112 y PTZ113	6	3	-	1:1	2,25	>0,05
	23P6	PTZ14	-	8	3	1:1	6,25	<0,01
		PTZ112 y PTZ113	1	10	-		20,25	<0,001
	23P7	PTZ14	-	15	-	0:1:0	0	>0,05
		PTZ112 y PTZ113	2	13	-	1:1	30,25	<0,001

Tabla 9: Número de individuos observados con constitución genética homocigoto para alelos como el progenitor "Voyage" (1), heterocigoto (2) u homocigoto para alelos como el progenitor NIL *lc/fas* (3) y proporciones esperadas para los marcadores moleculares (PTZ14 y *FAS* detectado con los cebadores PTZ112 y PTZ113) de acuerdo con el tipo de herencia analizada en cada población. χ^2 = valor del estadístico Chi-Cuadrado. Un valor de $p > 0,05$ indica que la segregación se ajustó las proporciones esperadas.

En la planta que originó la familia 23P2 (22P57, Tabla 2), el marcador molecular de *FAS* (detectado con los cebadores PTZ112 y PTZ113) presentó el genotipo homocigoto para los alelos mutantes, mientras que el marcador PTZ14 mostró el genotipo heterocigoto. En este último, en la descendencia (23P2), se observó una proporción 1:2:1, lo que indica un patrón de segregación mendeliana (Tabla 9). En la familia 23P3, el marcador PTZ14 segregó según la proporción esperada, mientras que *FAS* no siguió el patrón de segregación mendeliana. La Figura 12 presenta un gel de agarosa que muestra la segregación del marcador PTZ14, con los tres genotipos esperados: homocigoto

para alelos cultivados, heterocigoto y homocigoto para alelos silvestres. Finalmente, en la familia 23P5, ambos marcadores se ajustaron a la proporción esperada: PTZ14 mostró una segregación 1:2:1, mientras que *FAS* presentó un genotipo homocigoto para los alelos mutantes en todas las plantas analizadas.

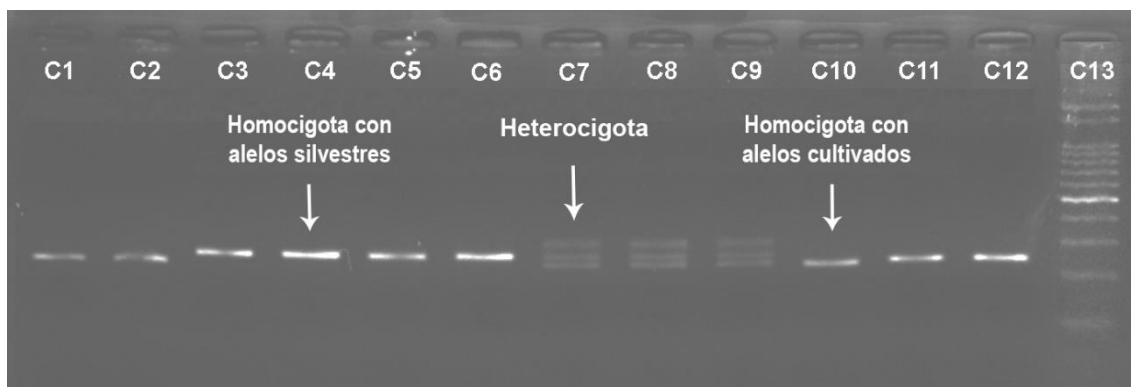


Figura 12: Resultado del marcador molecular INDEL PTZ14, revelado en un gel de agarosa al 3% con SYBR Safe. Se observa una banda de 242 pb que detecta el genotipo homocigoto para alelos cultivados (C1, C2, C10), mientras que la banda de 270 pb, corresponde al genotipo homocigoto para alelos silvestres (C3, C4, C5, C6, C11, C12). La presencia simultánea de ambas bandas indica un genotipo heterocigoto (C7, C8, C9). En la última calle del gel (C13) se muestra el marcador de peso molecular.

En las familias de la generación RC₂, solo en la familia 23P4, el marcador de *FAS* segregó según la proporción esperada de 1:1. En cambio, en el caso del marcador PTZ-14, la familia 23P6 no mostró la segregación esperada de 1:1, mientras que en las familias 23P4 y 23P7 se observó un 100% de individuos con genotipo heterocigoto, tal como se esperaba.

En la Tabla 10 se presentan los valores de probabilidad asociados con la segregación de los marcadores moleculares y los caracteres cuantitativos estudiados en la familia 23P3. El análisis reveló que el marcador PTZ14 tuvo un efecto significativo sobre la variable grado de irregularidad. Los valores medios de cada genotipo para este marcador se ilustran en los gráficos de caja de la Figura 13.

Carácter	PTZ14 (Id6)	PTZ112 y PTZ113 (FAS)	Id6*FAS
Peso	ns	ns	ns
Ancho	ns	0,008**	0,03*
Alto	ns	ns	0,02*
Índice de Forma	ns	0,051*	ns
Nº de Lóculos	ns	<0,0001***	ns
Perímetro	ns	0,0023**	ns
Área	ns	ns	ns
Ancho Máximo	ns	0,01**	ns
Alto Máximo	ns	ns	ns
Grado de Irregularidad	0,0002***	<0,0001***	<0,0001***
Área de Pericarpio	ns	ns	ns
Espesor de Pericarpio	ns	ns	ns

Tabla 10: Valor de p para los marcadores PTZ14 y FAS, y su interacción, sobre las variables evaluadas en la familia 23P3. p-valor: >0,05=ns=no significativo, *<0,05=significativo, **<0,01=muy significativo, ***<0,001=altamente significativo.

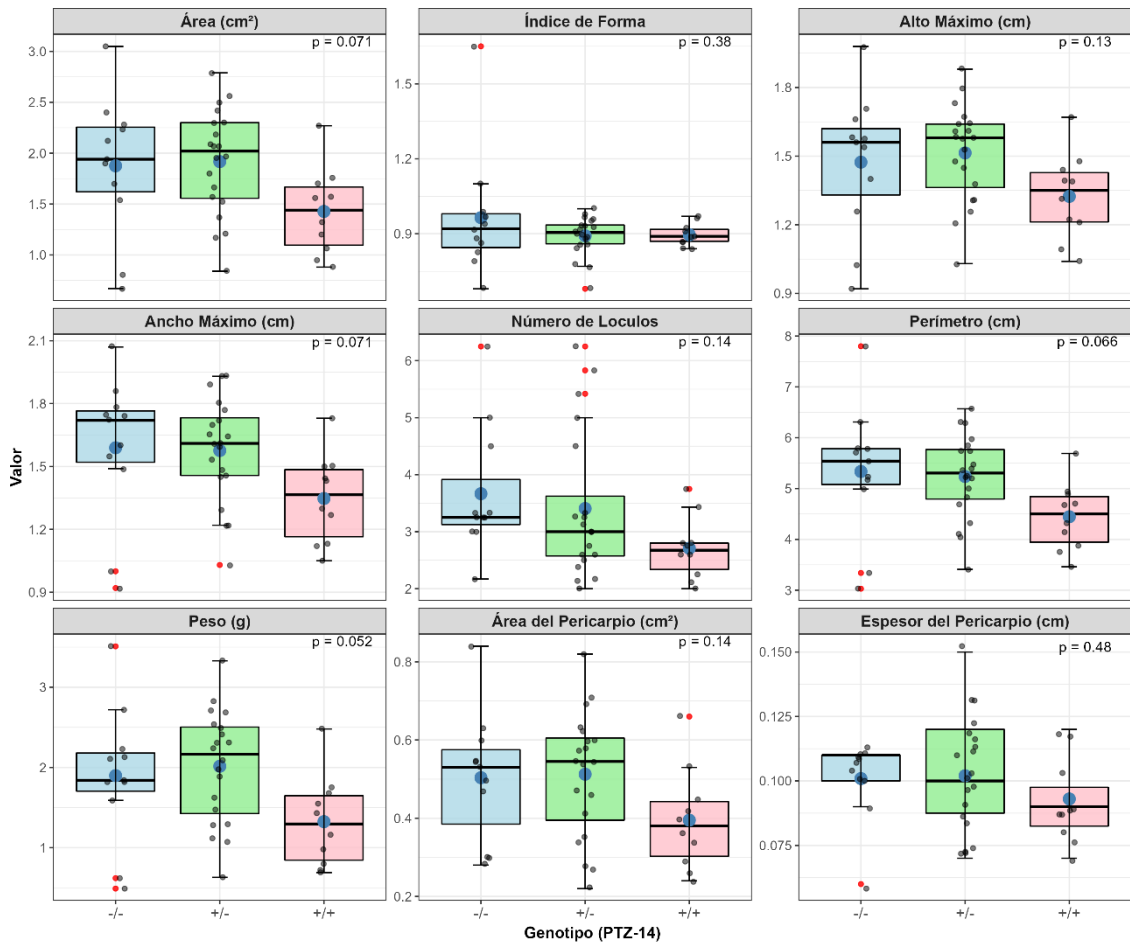


Figura 13: Gráfico de cajas que muestra las distribuciones de las variables en la familia 23P3, donde el marcador PTZ14 no presentó un efecto significativo ($p > 0,05$). El punto azul representa el valor medio de cada variable. Nomenclatura: -/- (homocigota con alelos de cultivados), +/- (heterocigota) y +/+ (homocigota con alelos silvestres).

El marcador de *FAS* presentó efectos significativos sobre el ancho del fruto, el índice de forma, el número de lóculos, el perímetro, el ancho máximo y el grado de irregularidad (Tabla 10). En la Figura 14 se muestran los gráficos de caja para los valores observados en la familia 23P3 para el marcador de *FAS*. La presencia de homocigotos con alelos cultivados en el gen *FAS* incrementó el valor medio de las variables ancho máximo, número de lóculos y perímetro. En cuanto al índice de forma, la presencia de homocigotos con alelos cultivados en *FAS* produjo frutos más achatados, lo que se traduce en un menor valor de este índice (Figura 14).

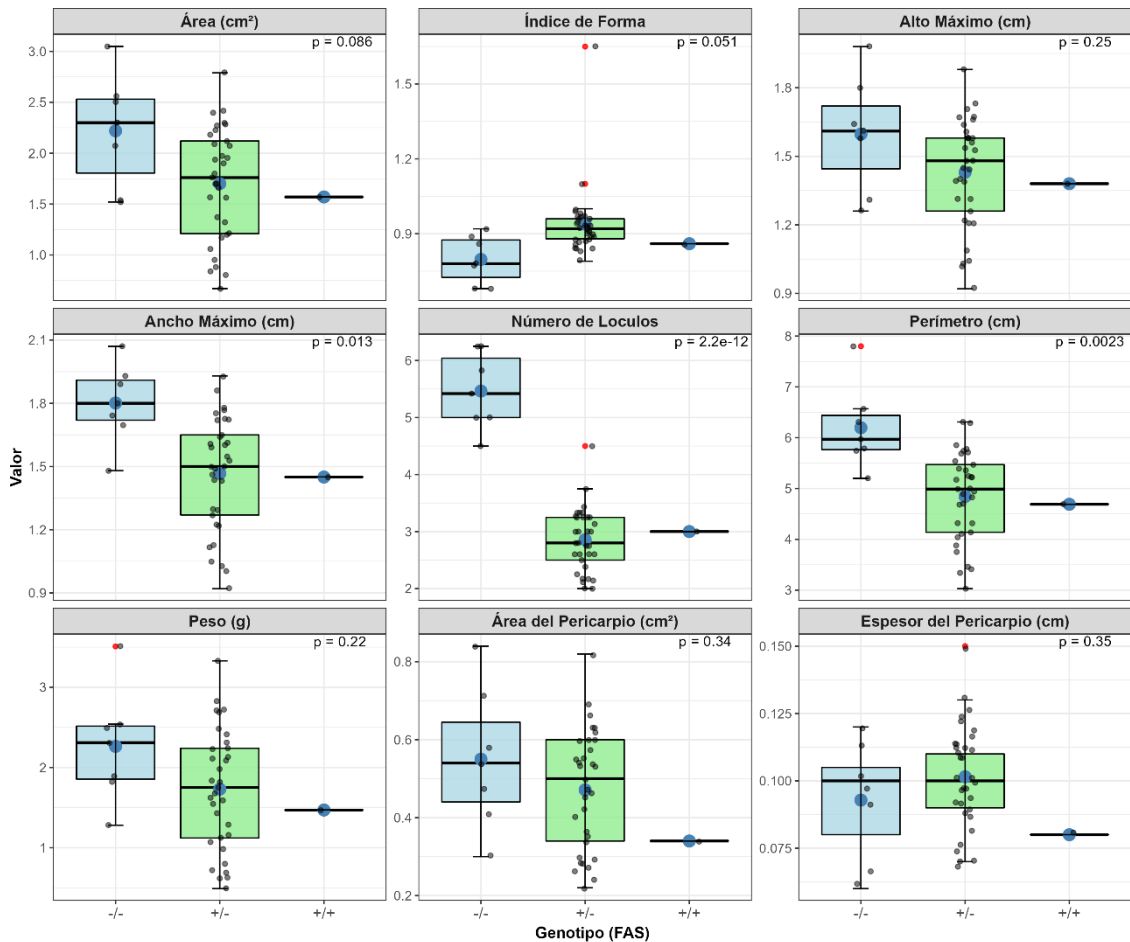


Figura 14: Gráfico de cajas que muestra las distribuciones de las variables en la familia 23P3 para el marcador de *FAS*. El punto azul representa el valor medio de cada variable. Nomenclatura: -/- (homocigota con alelos de cultivados), +/- (heterocigota) y +/+ (homocigota con alelos silvestres).

Al realizar el ANOVA con dos criterios de clasificación, se detectaron interacciones significativas entre los marcadores de *Id6* y *FAS* para las variables ancho, alto y grado de irregularidad (Tabla 10). En la Figura 15 se presentan los gráficos de caja con los valores observados para estas variables en la familia 23P3, considerando la interacción entre los marcadores moleculares de *Id6* y *FAS*. Se observó que cuando ambos marcadores son homocigotos para los alelos cultivados, los valores medios de estas características son más altos. En particular, para la variable grado de irregularidad, se encontró un valor alto cuando PTZ14 es heterocigoto y *FAS* es homocigoto con alelos cultivados (Figura 15). En el análisis no se encontraron combinaciones en las que PTZ14 fuera 1 y *FAS* 3, PTZ14 fuera 3 y *FAS* 1, ni cuando ambos marcadores fueran 3.

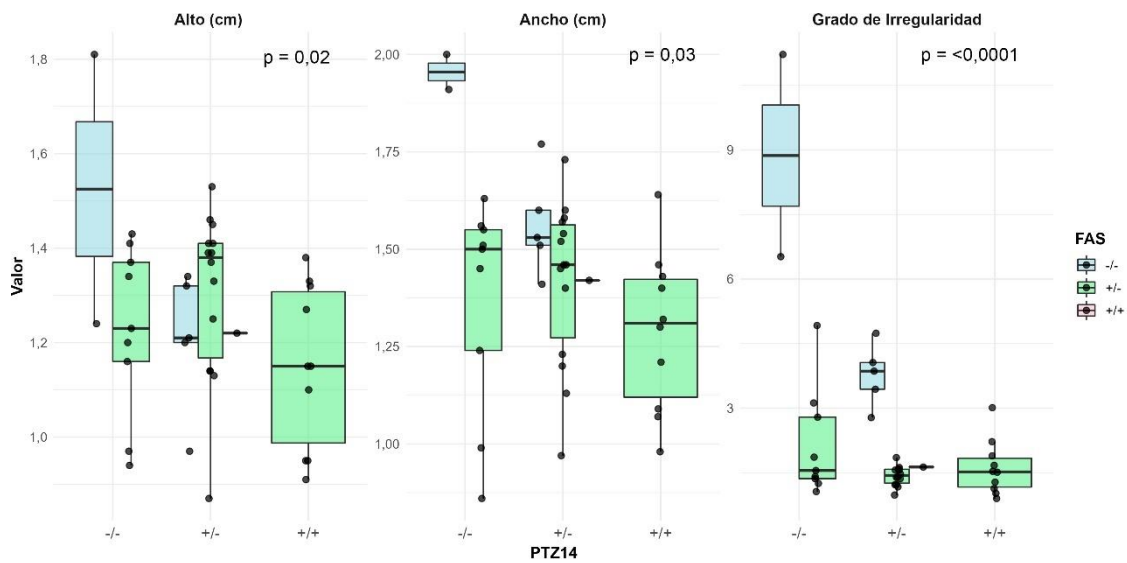


Figura 15: Gráfico de cajas que muestra las distribuciones de las variables alto, ancho y grado de irregularidad en la familia 23P3, considerando la interacción entre los marcadores PTZ14 y *FAS*. Los genotipos de *FAS* se discriminan por color: azul para homocigoto con alelos de “Voyage” (genotipo -/-), verde para heterocigoto (+/-), y rosa para homocigoto con alelos silvestres (+/+). La caja indica el rango intercuartílico, donde el límite inferior corresponde al primer cuartil (q1) y el límite superior al tercer cuartil (q3). La línea dentro de la caja marca la mediana. Los extremos de los bigotes indican el rango de los datos dentro de 1,5 veces el rango intercuartílico desde los cuartiles, y los puntos indican las plantas con distintos genotipos.

Luego de caracterizar molecularmente la población 24P1 y establecer grupos en función de su constitución genética para los marcadores moleculares PTZ14, PTZ102 y *FAS*, los valores medios de cada variable entre los grupos se compararon mediante pruebas de *t-Student*. En la Tabla 11 se presenta la cantidad de variables diferenciales entre los grupos conformados según la constitución genética de los marcadores moleculares en la segunda campaña. Los detalles de cada uno de estos grupos, que corresponden a diferentes combinaciones de alelos de PTZ14, PTZ102 y *FAS*, se describieron previamente en la Tabla 4. Los valores medios y desvíos estándar de cada una de las variables en los diferentes grupos se encuentran en el ANEXO I (Tabla suplementaria 1). Los valores de *t* y de probabilidad (p-valor) en cada combinación de grupo se encuentra en el ANEXO I (Tabla suplementaria 2 a, b, c y d). Es importante destacar que, aunque se evaluaron aproximadamente 50 plantas, no se encontró ninguna combinación en la que PTZ14 y PTZ102

estuvieran en estado homocigoto para los alelos mutantes, mientras que *FAS* estuviera homocigoto para los alelos silvestres (grupo G5). Tampoco se encontraron plantas en el grupo G8, donde PTZ14 y *FAS* fueran homocigotos para los alelos silvestres y PTZ102 homocigoto para los alelos mutantes, ni en el grupo G12, en el que PTZ14 y PTZ102 estuvieran en estado homocigoto para los alelos mutantes y *FAS* en estado heterocigoto (Tabla 4). Aunque el número de plantas evaluadas fue bajo, la probabilidad de observar cada genotipo era al menos del 0,0625.

	G2	G4	G6	G7	G9	G10	G11	G13
G2	2	7	2	7	0	0	2	
G4		6	0	2	1	1	0	
G6			2	3	5	0	8	
G7				1	2	1	0	
G9					3	0	3	
G10						0	1	
G11							1	

Tabla 11: Cantidad de variables significativamente diferenciales entre grupos (G) de genotipos evaluados en la familia 24P1.

Al comparar el G1, que presenta una constitución genética homocigota mutante para PTZ14, PTZ102 y *FAS*, con el G2, homocigoto silvestre para los tres marcadores evaluados, se observaron diferencias significativas en las variables número de lóculos, grado de irregularidad y espesor del pericarpio.

Por otro lado, el G6 y el G13 se diferenciaron en ocho variables: ancho, índice de forma, número de lóculos, perímetro, área, ancho máximo, alto máximo y grado de irregularidad (Tabla 11). Cabe resaltar que esta última variable sólo mostró diferencias significativas entre estos dos grupos, los cuales se diferenciaron genéticamente en los tres marcadores evaluados (Tabla 4).

En las comparaciones entre el G4 y el G6, se encontraron diferencias significativas en las variables ancho, índice de forma, perímetro, ancho máximo, área y espesor del pericarpio. Ambos grupos presentaron diferencias en la

constitución génica de los tres marcadores analizados. De manera similar, el G2 y el G6 mostraron diferencias significativas en varias variables, como ancho, perímetro, área, alto y ancho máximo, así como área y espesor del pericarpio. En este caso, los grupos se diferenciaron solo en los alelos que llevaban para el marcador PTZ14, mientras que para PTZ102 y *FAS* fueron homocigotos con alelos silvestres.

Entre el G2 y el G9, se encontraron diferencias significativas en siete variables: peso, ancho, alto, número de lóculos, perímetro, área y ancho máximo. Además, el G6 y el G10 se diferenciaron en las variables ancho, perímetro, área, ancho máximo y alto máximo.

Al analizar las comparaciones entre los grupos G2 y G4, G2 y G7, G6 y G7, G7 y G10, y G2 y G13, se encontraron diferencias significativas en las variables índice de forma y número de lóculos. En todos estos casos, los grupos se diferenciaron en el marcador de *FAS*. En particular, el G6 y el G7 se diferenciaron únicamente en el marcador de *FAS*.

El G6 y G9 se diferenciaron en tres variables: índice de forma, número de lóculos y espesor del pericarpio. Además, el G9 se diferenció del G10 en las variables peso, alto y ancho máximo. Por su parte, el G9 y el G13 se diferenciaron en número de lóculos, perímetro y ancho máximo.

En cuanto a las comparaciones entre el G4 y el G9, se observaron diferencias en dos variables: ancho e índice de forma. El G4 también se diferenció significativamente del G10 y G11 en la variable índice de forma. El G7 se diferenció del G9 y G11 solo en una variable: índice de forma, mientras que el G13 mostró diferencias significativas con el G10 y G11 en la variable número de lóculos.

CONCLUSIONES PARCIALES

- El marcador molecular PTZ14 segregó de acuerdo con una proporción mendeliana 1:2:1 en todas las poblaciones, con la excepción de la familia 24P1, en la cual se observó una mayor frecuencia de genotipos heterocigotos. *FAS* solo segregó conforme a la proporción esperada en la familia 23P4.

- En la familia 23P3, el marcador PTZ14 se asoció únicamente con la variable grado de irregularidad, mientras que *FAS* se asoció con múltiples variables: ancho, índice de forma, número de lóculos, perímetro, ancho máximo y grado de irregularidad.
- La interacción entre *Id6* y *FAS* en la familia 23P3 resultó significativa en tres variables: ancho, alto y grado de irregularidad. En particular, la interacción para grado de irregularidad fue altamente significativa.
- En las poblaciones 23P3 y 24P1, *FAS* presentó un mayor efecto sobre el grado de irregularidad.
- Se identificaron diferencias significativas en varias variables morfológicas entre los grupos analizados, destacándose la influencia de la constitución genética en las características de los frutos. Las diferencias más notables se encontraron entre los grupos con genotipos homocigotos para los alelos cultivados y los de alelos silvestres, especialmente en las variables como número de lóculos, grado de irregularidad y espesor del pericarpio.
- Las comparaciones entre grupos con constitución genética similar, como G6 y G7, mostraron diferencias solo en unas pocas variables, lo que sugiere que la variabilidad fenotípica en estos casos está principalmente influenciada por un único marcador, como *FAS*.

DISCUSIÓN

Las líneas casi isogénicas (NILs) son recursos genéticos de gran valor para el estudio de las bases genéticas de caracteres de importancia agronómica y de calidad. El uso de poblaciones de NILs ofrece múltiples ventajas, entre ellas la posibilidad de aislar regiones específicas del genoma del donante e introgresarlas en un contexto genético de interés. Esto permite revelar *QTLs* que, de otro modo, podrían quedar enmascarados por la alta proporción del genoma donante y los efectos de solapamiento. Además, la interacción entre los alelos del donante y el fondo genético del receptor puede dar lugar a la aparición de fenotipos novedosos, no presentes en las líneas parentales, generando una variabilidad fenotípica inesperada (Lippman et al., 2007).

El desarrollo de NILs en el contexto genético del ancestro silvestre del tomate cultivado permitiría conservar los alelos silvestres en todos los *loci* involucrados en la determinación del tamaño y la forma del fruto, caracteres que han sido modificados a lo largo del proceso de domesticación del tomate (Peralta et al., 2008). Este enfoque ha sido ampliamente utilizado para la identificación de genes y el estudio de sus interacciones en la determinación de la morfología del fruto, tanto en el eje próximo-distal (Xiao et al., 2008; Wu et al., 2015) como en el eje medio-lateral (Chu et al., 2019).

En este estudio, la NIL utilizada resultó heterocigota en el marcador molecular *FAS*, en contraste con lo esperado, ya que, según lo reportado, debería ser homocigota para el alelo mutante (Chu et al., 2019). Este resultado sugiere que la NIL pudo haber perdido su pureza genética, lo que podría haber ocurrido debido a un cruzamiento no controlado durante su mantenimiento. En este contexto, la "pureza genética" se refiere a la estabilidad genotípica de la línea, es decir, a la conservación de su perfil alélico esperado a lo largo de las generaciones. A pesar de esta posible contaminación en la línea parental, las plantas F_1 generadas a partir de ella presentaron la constitución homocigota esperada para los alelos cultivados de *FAS*. Esto indica que la NIL original no era genéticamente uniforme en este *locus* y que, en lugar de ser completamente homocigota, estaba segregando para *FAS*.

En el desarrollo de las poblaciones segregantes, la mayoría de los cruza-
mientos realizados con la NIL *fas/lc* dieron lugar a frutos con semillas, lo que
permitió obtener poblaciones segregantes F_2 , RC_1 y RC_2 . Sin embargo, en los
cruzamientos en los que participaron las plantas 22P59-1 y 22P59-3 no se obtu-
vieron frutos. Dado que el alelo cultivado de *FAS* corresponde a una mutación
estructural producto de una gran inversión cromosómica, es posible que esta
alteración afecte la formación de gametas viables, reduciendo así la eficiencia
reproductiva en ciertas combinaciones genéticas (Cong et al., 2008; Huang y van
der Knaap, 2011).

Durante la evaluación de las poblaciones segregantes, se observó una
alta mortalidad de las plantas, lo que resultó en una reducción significativa en el
tamaño poblacional de las familias estudiadas durante la primera campaña. La
presencia de nematodos y enfermedades del suelo afectó negativamente el nú-
mero de individuos evaluados, lo que pudo haber influido en la composición ge-
nómica final de las familias, generando un sesgo en la representación de ciertos
genotipos y complicando la interpretación de la segregación observada. Este
efecto también podría haber limitado la posibilidad de realizar ciertos análisis y
dificultado la obtención de resultados sólidos, especialmente en las familias con
un número inicial reducido de individuos. La familia más numerosa al inicio del
experimento fue la 23P3, con 143 plantas trasplantadas, de las cuales solo 50
pudieron ser evaluadas (Tablas 5 y 6). A pesar de esta reducción, el número de
plantas analizadas resultó ser suficiente para obtener datos confiables. Investi-
gaciones futuras podrían explorar la interacción entre la resistencia a estreses
bióticos y la presencia del alelo *FAS* en diferentes fondos genéticos.

La familia 23P2 presentó los valores de mediana más altos, lo que indicó
la presencia de frutos más grandes, con mayor número de lóculos, mayor grado
de irregularidad y una forma más achatada. Estos resultados pueden explicarse
por su origen en una F_2 , producto de la autofecundación de la F_1 , que presenta
una constitución heterocigota para los *loci* PTZ14 y PTZ102, pero con los alelos
de *FAS* y *LC* fijos en su estado mutante. Esta configuración genética es consis-
tente con la alta proporción del genoma de “Voyage” en la generación F_2 (50%),
en comparación con otras poblaciones como RC_1 (25%) y RC_2 (12,5%). Estos

resultados son congruentes con estudios previos que han demostrado que los genes *FAS* y *LC*, cuando se encuentran en su estado mutante, están asociados con un mayor número de lóculos, una forma de fruto más irregular o fasciada, y un aumento en el tamaño del fruto (Barrero y Tanksley, 2004; Lippman y Tanksley, 2001; Rodríguez et al., 2011).

Adicionalmente, la familia 23P2, como generación F_2 , mostró distribución normal en la mayoría de las variables, lo que refleja una recombinación más uniforme de los alelos parentales. Mientras que, al analizar el conjunto de familias, las dos variables que presentaron distribución no normal con mayor frecuencia fueron el número de lóculos y el grado de irregularidad. Estas variables mostraron una distorsión hacia los valores más bajos. El número de lóculos es una variable discreta, ya que los tomates silvestres suelen tener entre 2 y 3 lóculos (Chu et al., 2019), mientras que la segregación de los alelos PTZ14 y PTZ102 incrementa el número de lóculos dependiendo de la familia (Vazquez et al., 2022).

Las características fenotípicas de las familias analizadas muestran una alta variabilidad, especialmente en el número de lóculos y el grado de irregularidad. La distribución y dispersión de estas variables dependen en gran medida del origen genético de cada familia. La familia 23P5, derivada de la autofecundación de una RC_1 , cuya constitución genética es heterocigota para PTZ14 y homocigota con alelos cultivados para *FAS* y *LC*, presentó los valores más elevados y la mayor dispersión en las variables número de lóculos y grado de irregularidad. Aunque estas variables no alcanzaron una distribución normal, su comportamiento mostró menor asimetría en comparación con otras familias. Esto sugiere que, en la familia 23P5, las variables grado de irregularidad y número de lóculos están probablemente influenciadas por la interacción de los alelos en segregación.

Valores altos de heredabilidad indican que la variación entre individuos se debe principalmente a causas genéticas, lo que implica que hay poca influencia de factores ambientales sobre el fenotipo (Kearsey y Pooni, 1996). El carácter que presentó el mayor valor de heredabilidad fue la altura ($H^2=0,64$) correspondiente a la familia 23P5. En la familia F_2 (23P2), las variables número de lóculos

y grado de irregularidad mostraron valores de heredabilidad (H^2) de 0,36 y 0,41, respectivamente. Estos valores están acorde a estudios previos, donde el número de lóculos presentó valores de 0,67 y 0,28 en dos poblaciones F_2 derivadas de cruzamientos intraespecíficos entre cultivares que diferían para su grado de irregularidad. En cuanto al grado de irregularidad, los valores de heredabilidad fueron intermedios en ambas poblaciones, siendo superior en F_2 derivada del cruzamiento de “Voyage” ($H^2=0,34$) (Vazquez et al., 2022). La diferencia en la heredabilidad podría estar relacionada con la combinación específica de alelos en cada cruzamiento.

Los caracteres de morfología asociados al tamaño del fruto, como el perímetro y el área, presentaron una alta correlación, lo cual es consistente con estudios previos (Adhikari et al., 2020; Vazquez et al., 2022). En la mayoría de las familias analizadas, se observó una correlación positiva entre el grado de irregularidad y el número de lóculos, lo cual coincide con trabajos anteriores, como los de Gonzalo et al. (2009), Chu et al. (2019) y Vazquez et al. (2022). Sin embargo, los dos primeros estudios analizaron las correlaciones considerando la forma en el plano medio-lateral, mientras que Vazquez et al. (2022) estudiaron este carácter en una colección de cortes en el plano próximo-distal de cultivares de tomate y su segregación en cruzamientos entre cultivares. En este trabajo, el grado de irregularidad se correlacionó positivamente con el ancho y el perímetro, pero negativamente con la altura. Estos resultados indican que los frutos más irregulares tienden a presentar formas más achatadas. Asimismo, en la mayoría de las familias se encontró una correlación positiva alta entre el espesor del pericarpio y el área del pericarpio. Sin embargo, la familia 24P1 presentó una correlación negativa alta, lo que podría explicarse por factores ambientales, ya que esta campaña se evaluó en maceta y a través de la selección asistida por marcadores moleculares.

El análisis de la herencia del carácter tipo de carpelo en el cruzamiento entre “Voyage” (fruto apocárpico) y la NIL *fas/lc* (fruto normal) indicó que el fenotipo de fruto normal domina sobre el fenotipo apocárpico. De manera consistente, estudios previos que evaluaron la herencia de este carácter en generaciones derivadas del cruzamiento entre los cultivares “Voyage” y “Old Brooks” también identificaron que los frutos normales son dominantes sobre los

frutos apocárpicos (Vazquez et al., 2022). Sin embargo, Barrero y Tanksley (2004) observaron que los frutos apocárpicos dominan sobre frutos normales en la F₁ derivada de cruzamientos entre la accesión "LA0767" de *S. lycopersicum* (fruto apocárpico) y accesiones cultivadas con frutos normales. Esto indicaría que la acción génica cambia de acuerdo con el contexto genético en el que se encuentren los determinantes genéticos del fenotipo, que existen más de un *locus* en el control del carácter y/o la existencia de alelos múltiples en el *locus*.

La segregación observada en la generación F₂ y en las autofecundaciones de RC₁ no se ajustó a los modelos de segregación mendeliana evaluados. Esta falta de ajuste podría explicarse por el bajo número de individuos analizados, lo que limita la capacidad de detectar patrones genéticos. En estudios previos, como el realizado por Vazquez et al. (2022), se reportó que en una población F₂ de 53 plantas con frutos normales y 30 con frutos apocárpicos, la segregación se ajustó a un modelo de epistasis doble recesiva (9:7), lo que sugiere que la expresión de este carácter podría estar influenciada por la interacción de dos *loci*. Por otro lado, Mahfud y Murti (2020), por su parte, informaron que el carácter de carpelos en tomate, en su variante de fruto compuesto, estaba controlado por una interacción entre dos genes con epistasis doble dominante, resultando en una proporción de 15:1 (fruto único: fruto compuesto). De manera similar, Barrero y Tanksley (2004) observaron que la segregación para el rasgo de carpelos no fusionados en cruzamientos entre "LA0767" y accesiones cultivadas seguía una proporción 3:1, con dominancia del rasgo no fusionado. Sin embargo, en los cruces con especies silvestres de frutos pequeños, todas las plantas F₁ presentaron carpelos no fusionados, lo que refuerza la idea de que la expresión del carácter depende del contexto genético. Este contexto puede explicar la variabilidad observada en la segregación del carácter tipo de carpelo en el cultivar "Voyage", sugiriendo la influencia de interacciones génicas complejas.

Una limitante que existe en este trabajo, fue la presencia de expresividad en carácter grado de irregularidad. La expresividad se refiere al grado o intensidad con la que se manifiesta el fenotipo de un individuo con un genotipo determinado, dando lugar a un rango de fenotipos. Se ha reportado que la penetrancia y expresividad del carácter fasciado en tomate son variables

(Barrero y Tanksley, 2004), en dicho estudio se observó que los alelos mutantes del gen *FAS* no solo están asociados con la fasciación del fruto, sino también con la presencia de carpelos no fusionados. El efecto de expresividad se reportó también para los caracteres de múltiples pistilos en trigo (Zhu et al., 2019) y número de flores en garbanzo (Srinivasan et al., 2006), espiguillas multifloras en panojas de avena y altura de planta en arroz (Umar et al., 2010).

El marcador molecular PTZ14 segregó de forma mendeliana (1:2:1) en todas las poblaciones, con excepción de la familia 24P1 en la que se presentaron más genotipos heterocigotos. La segregación distorsionada ocurre cuando las frecuencias de genotipos observados se desvían de las proporciones mendelianas esperadas en una población dada (Koide et al., 2012). Las distorsiones en la segregación de un carácter o marcador pueden estar influenciadas por múltiples factores de origen genético, ambiental o por la interacción entre ambos (Xu et al., 1997). Al analizar la segregación de los marcadores PTZ14 y *FAS* (detectado por los cebadores PTZ112 y PTZ113) en forma conjunta, algunas combinaciones alélicas de estos dos loci independientes (ubicados en los cromosomas 6 y 11 respectivamente), no se observaron en la descendencia, a pesar de que su frecuencia esperada era de 1/16. Estos resultados sugieren la existencia de un locus que podría estar asociado a un gen letal, cuya presencia en determinadas combinaciones impediría la viabilidad de los individuos que las portan.

Al analizar la asociación de las variables cuantitativas y los marcadores, se observó que el gen *FAS* tiene un efecto significativo en el número de lóculos y el grado de irregularidad del fruto. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que indican que mutaciones en el gen *FAS* incrementan el número de lóculos y promueven una forma fasciada en los frutos (Cong et al., 2008; Chu et al., 2019). El efecto de *FAS* es causado por una inversión en la base del cromosoma 11 del genoma de tomate que interrumpe el promotor del tomate *SICLV3* (Huang y van der Knaap, 2011; Xu et al., 2015), esta alteración genera un aumento del número de lóculos y tamaño del fruto.

En conjunto, nuestros resultados destacan la importancia de considerar la interacción entre fondo genético, estructura cromosómica y ambiente al estudiar caracteres morfológicos en tomate. La generación de nuevas NILs y la aplicación

de técnicas de secuenciación de lectura larga podría aportar información clave para esclarecer los mecanismos genéticos subyacentes a la morfología del fruto.

CONCLUSIÓN FINAL

A partir del estudio de familias derivadas del cruzamiento interespecífico entre el cultivar “Voyage” y la NIL *lc/fas* fue posible identificar interacciones significativas entre los marcadores moleculares de las regiones genómicas de interés *ld6* y *FAS*, y caracteres de morfología, siendo destacable el grado de irregularidad. Si bien no fue posible determinar el tipo de herencia para el carácter tipo de carpelos, el fenotipo normal mostró dominancia sobre el fruto apocárpico y se observó segregación para el fenotipo apocárpico en las distintas familias derivadas, demostrando que el *locus FAS* y la región genómica asociada al marcador PTZ14 influyen en la variabilidad de los caracteres tipo de carpelo y grado de irregularidad en el contexto genético de *S. pimpinellifolium*. Sin embargo, estos factores resultan insuficientes para explicar toda la variabilidad observada en el carácter, lo que sugiere la existencia de otros *loci* que también contribuyen a la expresión del rasgo.

BIBLIOGRAFÍA

- Adhikari P, McNellie J, Panthee DR. 2020. Detection of quantitative trait *loci* (Qtl) associated with the fruit morphology of tomato. *Genes* 11(10): 1-15.
- Armbruster WS, Debevec EM, Willson MF. 2002. Evolution of syncarpy in angiosperms: theoretical and phylogenetic analyses of the effects of carpel fusion on offspring quantity and quality. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 657-672
- Barrero LS, Tanksley SD. 2004. Evaluating the genetic basis of multiple-*locus* fruit in a broad cross section of tomato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 109(3): 669-679.
- Beecher GR. 1998. Nutrient content of tomatoes and tomato products. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 218: 98-100.
- Bernatzky R, Tanksley SD. 1986. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics* 112: 887-898
- Chu YH, Jang JC, Huang Z, van der Knaap E. 2019. Tomato *locus* number and fruit size controlled by natural alleles of *lc* and *fas*. *Plant Direct* 3: 1-20.
- Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK. 2005. An introduction to markers, quantitative trait *loci* (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica* 142: 169-196.
- Cong B, Barrero LS, Tanksley SD. 2008. Regulatory change in YABBY-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size during tomato domestication. *Nature Genetics* 40: 800-804.
- FAOSTAT. 2023. Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Acceso: Enero 2025)
- Fulton TM, Chunwongse J, Tanksley SD. 1995. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 13: 207-209.
- Giovannoni JJ. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. *Plant Cell* 16(SUPPL.): 170-181.

Gonzalo MJ, Brewer MT, Anderson C, Sullivan D, Gray S, van Der Knaap E. 2009. Tomato fruit shape analysis using morphometric and morphology attributes implemented in tomato analyzer software program. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134 (1): 77-87.

Gomez Rodriguez F. 2021. Caracterización fenotípica y molecular del mutante insercional de tomate 1600-etmm [Título de Grado en Biotecnología, Universidad de Almería] <http://hdl.handle.net/10835/13490>

Gosset WS. 1908. "The probable error of a mean". *Biometrika* 6(1): 1-25.

Huang Z, van der Knaap E. 2011. Tomato fruit weight 11.3 maps close to fasciated on the bottom of chromosome 11. *Theoretical and Applied Genetics* 123(3): 465-474.

Kassambara A. 2019. ggcorrplot: Visualization of a correlation matrix using "ggplot2". R package version 0.1. 3. <https://cran.r-project.org/web/packages/ggcorrplot/index.html>

Kassambara A. 2020. ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. R package version 0.4.0. <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>

Kassambara A. 2021. rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests. R package version 0.7.0. <https://CRAN.R-project.org/package=rstatix>

Kearsey M, Pooni H. 1996. *The Genetical Analysis of Quantitative Traits*. Londres: Chapman and Hall, pp 396.

Kimura S, Sinha N. 2008. *Tomato (Solanum lycopersicum): A Model Fruit-Bearing Crop*. Cold Spring Harbor Protocols: pdb.emo105

Koide Y, Shinya Y, Ikenaga M, Sawamura N, Matsubara K, Onishi K, Kanazawa A, Sano Y. 2012. Complex genetic nature of sex-independent transmission ratio distortion in Asian rice species: the involvement of unlinked modifiers and sex-specific mechanisms. *Heredity* 108: 242-247.

Lenth R. 2025. *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means*. R package version 1.10.7-100001, <https://rvlenth.github.io/emmeans/>

Lippman Z, Tanksley SD. 2001. Dissecting the Genetic Pathway to Extreme Fruit Size in Tomato Using a Cross Between the Small-Fruited Wild Species *Lycopersicon pimpinellifolium* and *L. esculentum* var. Giant Heirloom. *Genetics* 158 (0016–6731): 413-422.

Lippman Z, Semel Y, Zamir D. 2007. An integrated view of quantitative trait variation using tomato interspecific introgression lines. *Current Opinion in Genetics & Development* 17: 545-52.

Liu J, Van Eck J, Cong B, Tanksley SD. 2002. A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 13302-13306.

López Marín L. 2017. Manual técnico del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*). Costa Rica, Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), pp 126

Nuez F, Rodríguez Del Rincón Á, Tello J, Cuartero J, Segura B. 1995. El cultivo del tomate (Mundi Prensa (ed.1995).

Mahfud M, Murti RH. 2020. Inheritance pattern of fruit color and shape in multi-pistil and purple tomato crossing. *Agrivita* 42 (3): 572-583.

Ministerio de Economía. 2023. Producción de tomate en Argentina: Evolución del cultivo 2023. <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/produccion-de-tomate-en-argentina-evolucion-del-cultivo-2023.pdf> (Acceso: Enero 2025).

Muños S, Ranc N, Botton E, Bérard A, Rolland S, Duffé P, Carretero Y, Le Paslier MC, Delalande C, Bouzayen M, Brunel D, Causse M. 2011. Increase in tomato *locusle* number is controlled by two single-nucleotide polymorphisms located near WUSCHEL. *Plant Physiology* 156: 2244-2254.

Peralta IE, Spooner DM, Knapp S. 2008. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae) (Vol. 84). *Systematic Botany Monographs*.

R Core Team. 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org>

Rick CM. 1973. Potential genetic resources in tomato species: clues from observations in native habitats. *Basic Life Sciences* 2: 255-269.

Rick C. 1978. The tomato. *Sci Am* 239: 76-87.

Rodríguez GR, Moyseenko JB, Robbins MD, Huarachi Morejón N, Francis DM, van der Knaap E. 2010. Tomato Analyzer: a useful software application to collect accurate and detailed morphological and colorimetric data from two-dimensional objects. *Journal of Visualized Experiments* 37: 1-12.

Rodríguez GR, Muños S, Anderson C, Sim SC, Michel A, Causse M, Gardener BBM, 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(1): 275-285.

Rodríguez GR, Kim HJ, van Der Knaap E. 2013. Mapping of two suppressors of OVATE (*sov*) *loci* in tomato. *Heredity* 111(3): 256-264.

Shapiro SS, Wilk MB. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52(3-4): 591-611.

Sierra-Orozco E, Shekasteband R, Illa-Berenguer E, Snouffer A, van der Knaap E, Lee TG, Hutton SF. 2021. Identification and characterization of GLOBE, a major gene controlling fruit shape and impacting fruit size and marketability in tomato. *Horticulture Research* 8(1).

Srinivasan S, Gaur PM, Chaturvedi SK, Rao BV. 2006. Allelic relationships of genes controlling number of flowers per axis in chickpea. *Euphytica* 152(3): 331-337.

Stansfield WD. 1971. *Genética. Teoría y 440 problemas resueltos*. Segunda ed. Serie Schaum, McGraw-Hill, México 405 pp.

Tanksley SD. 2004. The Genetic, Developmental, and Molecular Bases of Fruit Size and Shape Variation in Tomato. *Plant Cell* 16: 181-189.

Umar M, Basha PO, Puri A, Rajpurohit D, Randhawa GS, Sharma TR, Dhaliwal HS. 2010. A candidate gene OsAPC6 of anaphase-promoting complex of rice identified through T-DNA insertion. *Functional y Integrative Genomics* 10(3): 349-358.

van der Knaap E, Chakrabarti M, Chu YH, Clevenger JP, Illa-Berenguer E, Huang Z, Keyhaninejad N, Mu Q, Sun L, Wang Y, Wu S. 2014. What lies beyond the eye: The molecular mechanisms regulating tomato fruit weight and shape. *Frontiers in Plant Science*, 5(MAY): 1-14.

Vazquez DV, Pereira da Costa JH, Godoy FNI, Cambiaso V, Rodriguez GR. 2022. Genetic basis of the lobedness degree in tomato fruit morphology. *Plant Science* 319: 111258.

Wei T, Simko V. 2017. R package “corrplot”: visualization of a correlation matrix. Version 0.84.

Wickham H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. <https://ggplot2.tidyverse.org>

Wickham H, Averick M, Bryan J, Chang W, McGowan LDA, François R, Grolemund G, Hayes A, Henry L, Hester J, Kuhn M, Pedersen TL, Miller E, Bache SM, Müller K, Ooms J, Robinson D, Seidel DP, Spinu V, ... Yutani H. 2019. Welcome to the tidyverse. *Journal of Open Source Software* 4(43): 1686.

Wickham H, François R, Henry L, Müller K, Vaughan D. 2023. dplyr: A grammar of data manipulation (R package version 1.1.4). <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>

Wu S, Clevenger JP, Sun L, Visa S, Kamiya Y, Jikamaru Y, Blakeslee J, van der Knaap E. 2015. The control of tomato fruit elongation orchestrated by sun, ovate and fs8,1 in a wild relative of tomato. *Plant Science* 238: 95-104.

Wu S, Zhang B, Keyhaninejad N, Rodríguez GR, Kim HJ, Chakrabarti M, IllaBerenguer E, Taitano NK, Gonzalo MJ, Díaz A, Pan Y, Leisner CP, Halterman D, Buell CR, Weng Y, Jansky SH, van Eck H, Willemsen J, Monforte AJ, van der Knaap E. 2018. A common genetic mechanism underlies morphological diversity in fruits and other plant organs. *Nature Communications* 9(1): 1-12.

Xiao H, Jiang N, Schaffner E, Stockinger EJ, van der Knaap E. 2008. A retrotransposon-mediated gene duplication underlies morphological variation of tomato fruit. *Science* 319: 1527-1530.

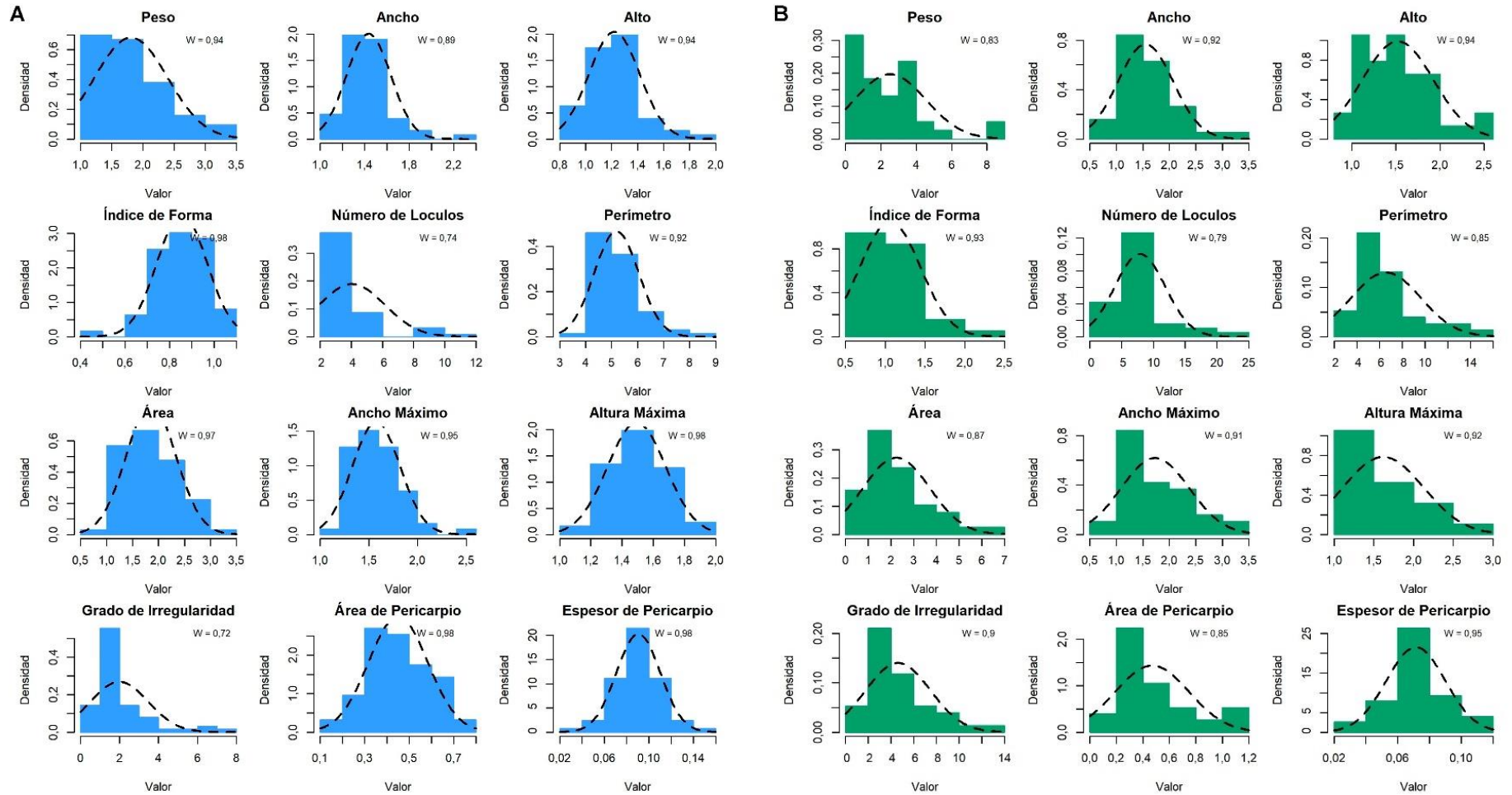
Xu C, Liberatore KL, Macalister CA, Huang Z, Chu YH, Jiang K, Brooks C, Ogawa-Ohnishi M, Xiong G, Pauly M, van Eck J, Matsubayashi Y, van Der Knaap E, Lippman ZB. 2015. A cascade of arabinosyltransferases controls shoot meristem size in tomato. *Nature Genetics* 47(7): 784-792.

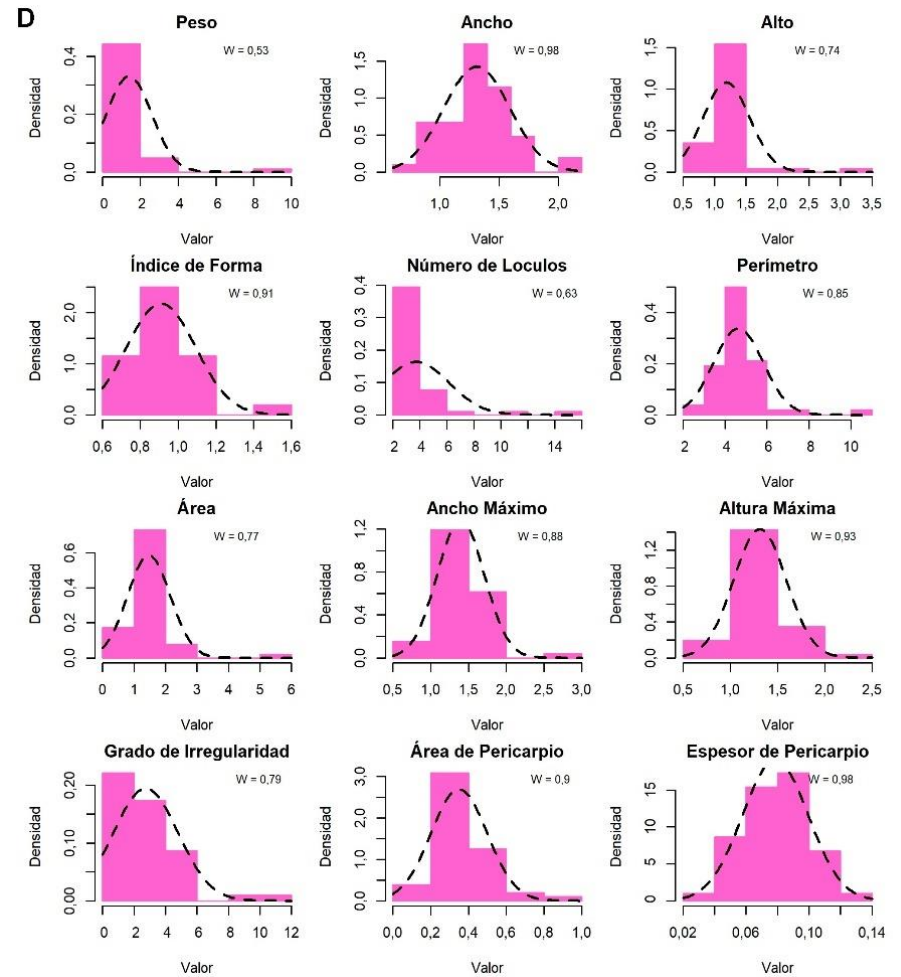
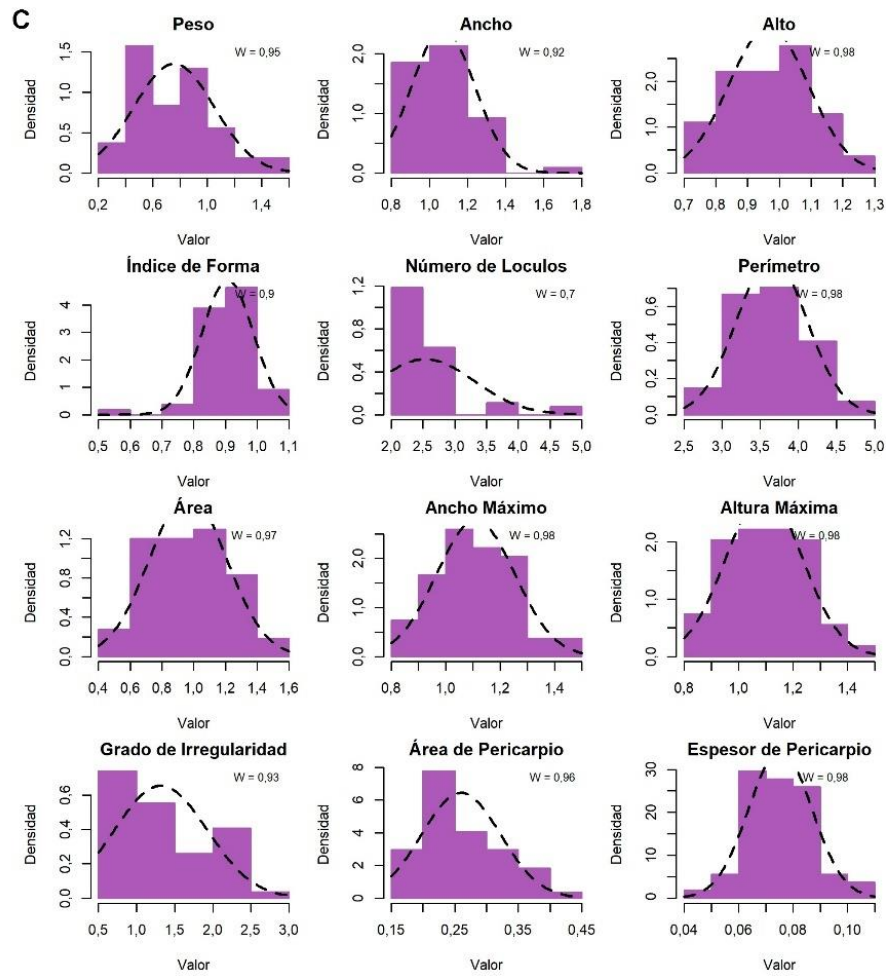
Xu Y, Zhu L, Xiao J, Huang N, McCouch SR. 1997. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F₂, backcross, doubled haploid, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular & general genetics* 253(5): 535-545.

Zhu Q, Deng L, Chen J, Rodríguez GR, Sun C, Chang Z, Yang T, Zhai H, Jiang H, Topcu Y, Francis D, Hutton S, Sun L, Li CB, van der Knaap E. 2023. Redesigning the tomato fruit shape for mechanized production. *Nature Plants* 9(10): 1659-1674.

Zhu X, Ni Y, He R, Jiang Y, Li Q, Niu J. 2019. Genetic mapping and expressivity of a wheat multi-pistil gene in mutant 12TP. *Journal of Integrative Agriculture* 18(3): 532-538.

ANEXO I





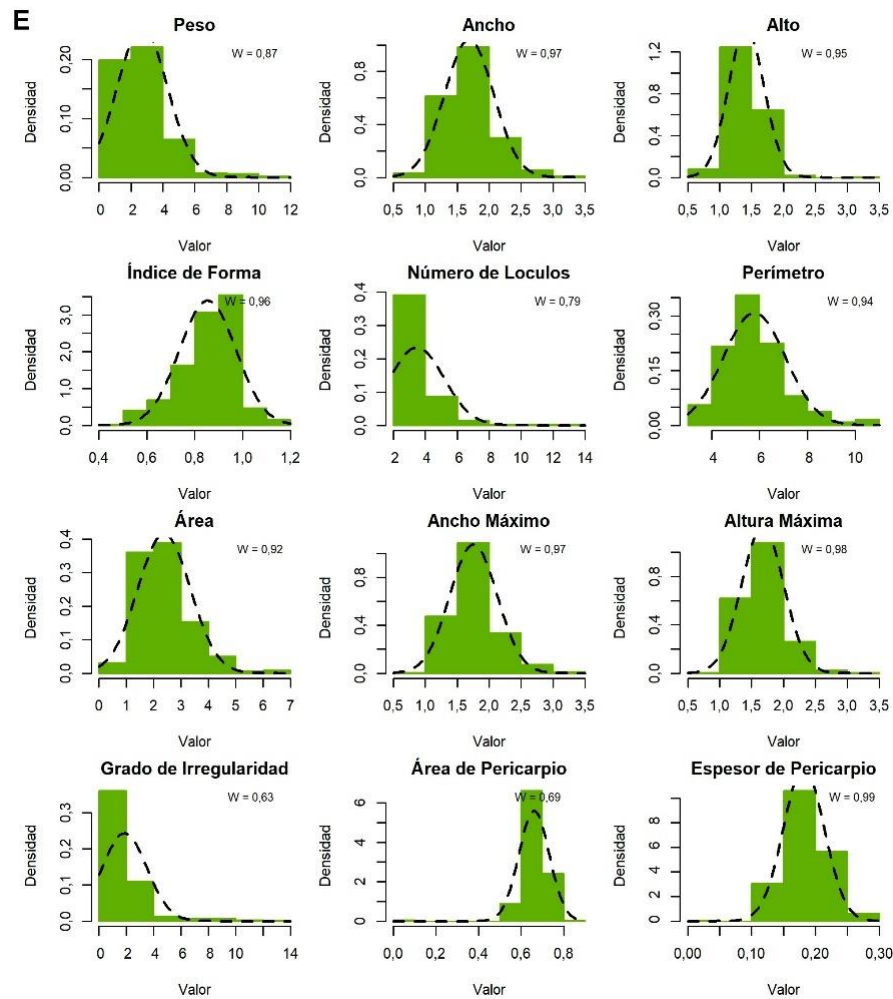
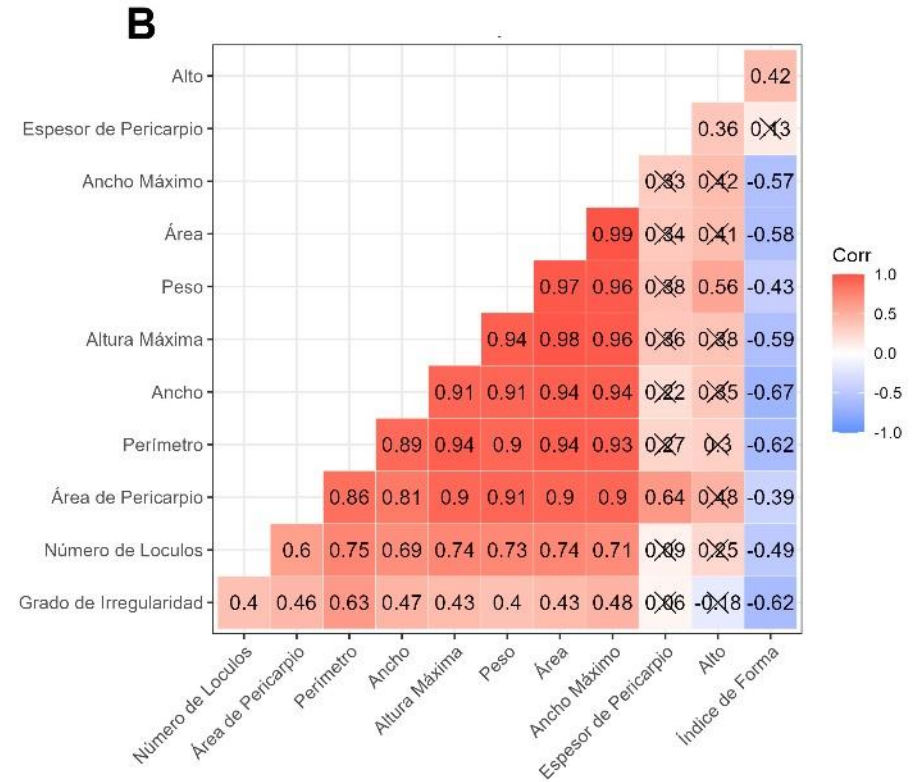
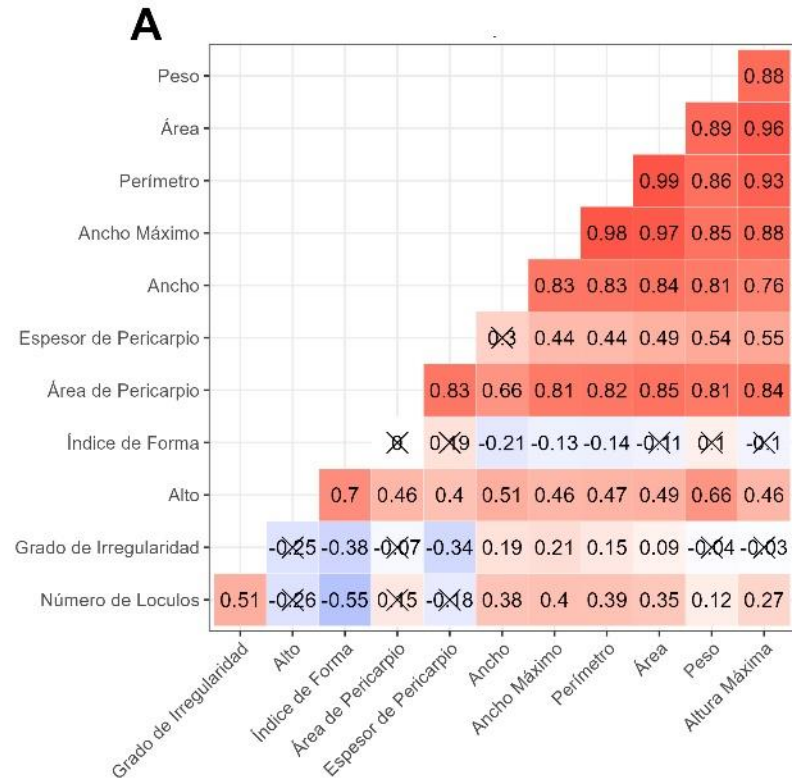
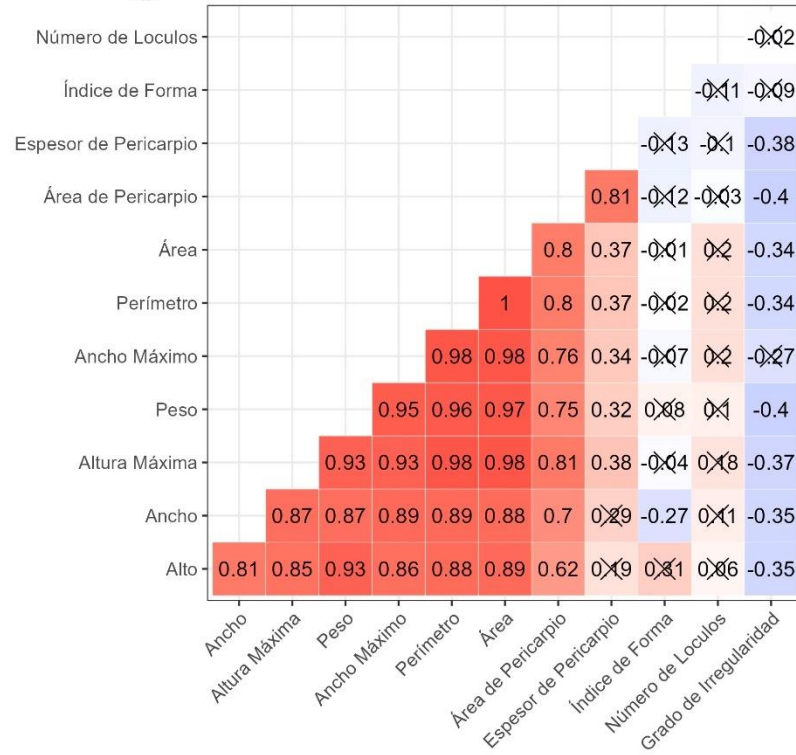


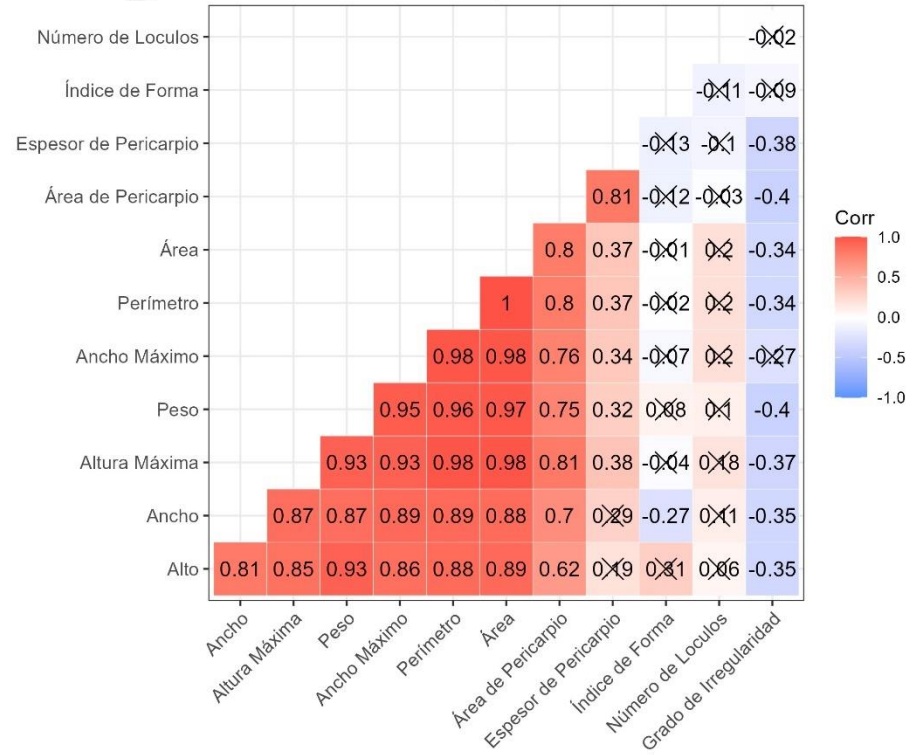
Figura suplementaria 1: Histogramas de frecuencias de todas las variables analizadas en las familias 23P4 (A), 23P5 (B), 23P6 (C), 23P7 (D) y 24P1 (E).



C



D



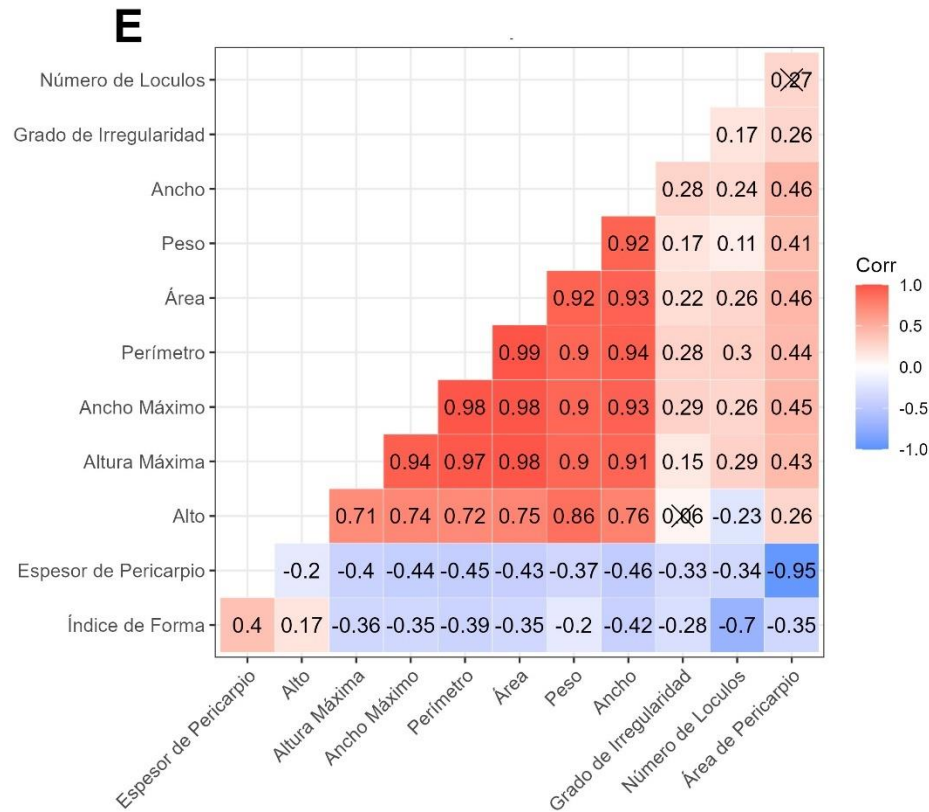


Figura suplementaria 2: Matriz de correlación que representa la asociación fenotípica entre los caracteres analizados en la familia 23P4 (A), 23P5 (B), 23P6 (C), 23P7 (D) y 24P1 (E). El color de las celdas indica la magnitud de las correlaciones, tanto positivas como negativas. Las correlaciones fuertes y positivas se destacan en rojo oscuro, mientras que los tonos más claros representan asociaciones más débiles. Del mismo modo, las correlaciones fuertes y negativas se resaltan en celeste oscuro, con tonalidades más claras para relaciones más débiles. Las cruces indican correlaciones no significativas al 5 %.

	G1	G2	G4	G6	G7	G9	G10	G11	G13
	media ± de	media ± de	media ± de	media ± de	media ± de	media ± de	media ± de	media ± de	media ± de
P	3,03 ± 1,20	3,02 ± 0,53	3,62 ± 1,54	2,44 ± 0,62	3,22 ± 2,15	1,91 ± 0,53	3,23 ± 0,93	2,20 ± 0,69	2,57 ± 0,41
A	1,80 ± 0,16	1,78 ± 0,13	1,93 ± 0,29	1,47 ± 0,15	1,87 ± 0,54	1,49 ± 0,16	1,80 ± 0,21	1,57 ± 0,20	1,74 ± 0,07
H	1,42 ± 0,26	1,59 ± 0,10	1,42 ± 0,16	1,42 ± 0,16	1,36 ± 0,27	1,29 ± 0,12	1,64 ± 0,22	1,38 ± 0,16	1,35 ± 0,17
IdF	0,79 ± 0,07	0,90 ± 0,04	0,75 ± 0,05	0,97 ± 0,07	0,75 ± 0,09	0,87 ± 0,04	0,91 ± 0,05	0,90 ± 0,04	0,79 ± 0,09
NL	4,71 ± 0,41	2,24 ± 0,26	4,51 ± 0,99	2,20 ± 0,28	4,51 ± 1,27	3,32 ± 0,81	2,32 ± 0,46	2,74 ± 0,94	5,13 ± 1,00
Per	6,46 ± 0,45	5,97 ± 0,37	6,43 ± 0,94	5,14 ± 0,42	6,35 ± 1,82	5,15 ± 0,43	6,02 ± 0,58	5,33 ± 0,79	6,09 ± 0,05
Ar	2,73 ± 0,47	2,56 ± 0,31	2,91 ± 0,93	1,92 ± 0,29	2,92 ± 1,52	1,88 ± 0,37	2,60 ± 0,47	2,00 ± 0,52	2,46 ± 0,11
Am	1,87 ± 0,20	1,85 ± 0,11	1,97 ± 0,29	1,57 ± 0,13	1,92 ± 0,55	1,56 ± 0,13	1,86 ± 0,18	1,62 ± 0,20	1,81 ± 0,03
Hm	1,86 ± 0,04	1,74 ± 0,11	1,83 ± 0,33	1,51 ± 0,12	1,83 ± 0,51	1,51 ± 0,15	1,75 ± 0,17	1,54 ± 0,25	1,73 ± 0,03
GI	3,35 ± 0,61	1,57 ± 0,38	2,15 ± 1,06	1,40 ± 0,27	2,10 ± 0,77	1,61 ± 0,51	1,45 ± 0,82	1,90 ± 0,74	2,17 ± 0,24
ArP	0,70 ± 0,00	0,67 ± 0,03	0,69 ± 0,03	0,63 ± 0,02	0,67 ± 0,06	0,65 ± 0,06	0,67 ± 0,04	0,66 ± 0,06	0,67 ± 0,04
EP	1,16 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,18 ± 0,04	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,18 ± 0,03

Tabla suplementaria 1: Valores medio y desvió estándar (de) para cada variable en cada uno de los grupos (G). Abreviaciones P: peso, A: ancho, H: alto, IdF: índice de forma, NL: número de lóculos, Per: pericarpio, Ar: área, Am: ancho máximo, Hm: alto máximo, GI: grado de irregularidad, ArP: área de pericarpio, EP: espesor de pericarpio.

	G1/G2		G2/G4		G2/G6		G2/G7		G2/G9		G2/G10		G2/G11		G2/G13	
	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	T	p-valor	t	p-valor	t	p-valor	t	p-valor
P	0,01	0,99	-0,74	0,49	1,48	0,18	-0,20	0,85	2,97	0,03	0,38	0,72	-1,89	0,11	-1,21	0,28
A	0,23	0,83	-0,95	0,38	3,21	0,01	-0,36	0,74	2,80	0,03	0,14	0,89	-1,74	0,13	-0,49	0,65
H	-1,23	0,29	1,67	0,16	1,82	0,11	1,57	0,16	3,79	0,01	0,43	0,68	-2,20	0,07	-2,30	0,07
IdF	-2,54	0,06	4,48	0,007	-1,86	0,10	3,12	0,02	0,89	0,41	0,54	0,61	0,00	>0,99	-2,18	0,05
NL	9,41	0,0007	-4,55	0,006	0,21	0,84	-3,91	0,02	-2,53	0,04	0,29	0,78	1,02	0,35	5,71	0,0023
Per	1,42	0,23	-0,91	0,40	3,06	0,02	-0,45	0,68	2,89	0,03	0,13	0,90	-1,49	0,19	0,62	0,58
Ar	0,56	0,60	-0,74	0,50	3,20	0,02	-0,52	0,63	2,79	0,03	0,16	0,88	-1,84	0,12	-0,51	0,63
Am	0,15	0,89	-0,74	0,49	3,39	0,01	-0,28	0,80	3,47	0,01	0,05	0,96	-2,06	0,08	-0,59	0,58
Hm	1,48	0,21	-0,57	0,59	2,91	0,02	-0,41	0,70	2,40	0,06	0,12	0,91	-1,47	0,19	-0,07	0,94
GI	2,59	0,01	-1,04	0,35	0,76	0,47	-1,26	0,25	-0,13	0,90	-0,26	0,80	0,79	0,46	2,38	0,06
ArP	2,47	0,09	-0,98	0,37	2,49	0,04	-0,08	0,94	0,48	0,65	-0,10	0,93	-0,30	0,78	0,11	0,92
EP	-3,46	0,04	1,27	0,26	-2,49	0,04	0,11	0,92	0,58	0,58	0,00	>0,99	-0,36	0,73	0,00	>0,99

Tabla suplementaria 2a: Estadístico *t-Student* y p-valor en las comparaciones entre los grupos (G) para cada una de las variables. Abreviaciones P: peso, A: ancho, H: alto, IdF: índice de forma, NL: número de lóculos, Per: pericarpio, Ar: área, Am: ancho máximo, Hm: alto máximo, GI: grado de irregularidad, ArP: área de pericarpio, EP: espesor de pericarpio. En negrita se resaltan p-valores significativos (< 0,05).

	G4/G6		G4/G7		G4/G9		G4/G10		G4/G11		G4/G13		G6/G7		G6/G9	
	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor
P	1,57	0,17	0,28	0,79	2,12	0,09	-0,43	0,69	-1,67	0,16	-1,14	0,32	-0,78	0,48	1,36	0,21
A	3,02	0,02	0,18	0,86	2,61	0,04	-0,71	0,51	-1,96	0,11	-1,12	0,32	-1,57	0,19	-0,17	0,87
H	-0,01	0,99	0,34	0,74	1,21	0,28	1,44	0,21	-0,32	0,76	-0,51	0,64	0,44	0,67	1,36	0,21
IdF	-4,70	0,003	0,06	0,95	-3,44	0,02	4,06	0,01	4,20	0,009	0,71	0,52	4,41	0,002	2,45	0,04
NL	3,97	0,06	-2,3E-03	0,99	1,76	0,14	-4,00	0,06	-2,42	0,06	0,77	0,49	-3,99	0,02	-2,91	0,02
Per	2,74	0,03	0,07	0,94	2,47	0,06	-0,73	0,50	-1,70	0,15	-0,63	0,59	-1,44	0,22	-0,03	0,98
Ar	2,32	0,06	-0,01	0,99	2,06	0,09	-0,59	0,58	-1,68	0,15	-0,84	0,49	-1,44	0,22	0,19	0,86
Am	2,70	0,04	0,13	0,90	2,54	0,06	-0,62	0,56	-1,90	0,12	-0,91	0,46	-1,39	0,24	0,11	0,91
Hm	2,06	0,09	0,01	0,99	1,76	0,14	-0,45	0,67	-1,37	0,23	-0,54	0,64	-1,37	0,24	-0,01	0,99
GI	1,19	0,35	0,07	0,94	0,90	0,40	-0,99	0,37	-0,37	0,72	0,03	0,98	-1,92	0,09	-0,79	0,45
ArP	3,30	0,02	0,55	0,60	0,99	0,37	-0,80	0,48	-0,80	0,46	-0,69	0,53	-1,46	0,20	-0,69	0,54
EP	-3,01	0,02	-0,63	0,55	-0,86	0,43	0,85	0,43	0,63	0,56	0,82	0,46	1,31	0,23	2,97	0,02

Tabla suplementaria 2b: Estadístico *t-Student* y p-valor en las comparaciones entre los grupos (G) para cada una de las variables. Abreviaciones P: peso, A: ancho, H: alto, IdF: índice de forma, NL: número de lóculos, Per: pericarpio, Ar: área, Am: ancho máximo, Hm: alto máximo, GI: grado de irregularidad, ArP: área de pericarpio, EP: espesor de pericarpio. En negrita se resalta los p-valores significativos (< 0,05).

	G6/G10		G6/G11		G6/G13		G7/G9		G7/G10		G7/G11		G7/G13		G9/G10	
	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>T</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor
P	1,51	0,17	-0,55	0,60	0,32	0,76	1,32	0,26	8,6E-04	0,99	-0,90	0,40	-0,50	0,63	2,45	0,04
A	2,67	0,03	0,82	0,44	2,82	0,03	1,33	0,22	-0,25	0,81	-1,04	0,33	-0,53	0,62	2,29	0,06
H	1,75	0,12	-0,39	0,71	-0,61	0,57	0,45	0,67	1,66	0,14	0,14	0,89	-0,05	0,96	2,78	0,03
IdF	-1,28	0,24	-1,81	0,11	-3,19	0,02	-2,54	0,04	3,28	0,01	3,07	0,02	0,69	0,51	1,24	0,26
NL	0,47	0,65	1,10	0,35	4,96	0,04	1,62	0,15	-3,26	0,01	-2,32	0,06	0,72	0,50	-2,14	0,08
Per	2,63	0,03	0,44	0,67	4,93	0,008	1,42	0,23	-0,34	0,74	-1,04	0,33	-0,32	0,77	2,41	0,06
Ar	2,68	0,03	0,29	0,78	3,04	0,02	1,47	0,21	-0,40	0,70	-1,14	0,29	-0,68	0,54	2,39	0,06
Am	2,75	0,03	0,43	0,68	3,00	0,02	1,43	0,23	-0,22	0,83	-1,04	0,33	-0,44	0,68	2,68	0,04
Hm	2,45	0,04	0,18	0,86	3,08	0,02	1,20	0,27	-0,31	0,77	-1,06	0,32	-0,44	0,68	2,07	0,08
GI	0,12	0,90	1,40	0,21	4,02	0,007	1,09	0,31	-1,23	0,26	-0,40	0,70	0,14	0,89	-0,33	0,75
ArP	1,56	0,16	0,80	0,48	2,10	0,08	0,46	0,66	-0,15	0,89	-0,32	0,76	0,00	>0,99	0,34	0,74
EP	-1,49	0,18	-1,97	0,09	-1,50	0,18	0,16	0,88	0,09	0,93	-0,14	0,89	0,08	0,94	0,33	0,75

Tabla suplementaria 2c: Estadístico *t-Student* y p-valor en las combinaciones de los grupos (G) para cada una de las variables. Abreviaciones P: peso, A: ancho, H: alto, IdF: índice de forma, NL: número de lóculos, Per: pericarpio, Ar: área, Am: ancho máximo, Hm: alto máximo, GI: grado de irregularidad, ArP: área de pericarpio, EP: espesor de pericarpio. En negrita se resalta los valores de p-valor significativos (< 0,05).

	G9/G11		G9/G13		G10/G11		G10/G13		G11/G13	
	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor	<i>t</i>	p-valor
P	0,67	0,53	1,78	0,13	1,77	0,13	1,11	0,32	-0,82	0,45
A	0,60	0,57	2,49	0,06	1,54	0,17	0,44	0,68	-1,36	0,23
H	0,90	0,40	0,53	0,62	1,91	0,10	1,87	0,12	0,25	0,81
IdF	0,84	0,43	-1,59	0,17	0,51	0,63	2,29	0,07	2,12	0,09
NL	-0,93	0,39	2,66	0,04	-0,81	0,45	-5,07	0,004	-3,25	0,02
Per	0,39	0,71	4,36	0,02	1,42	0,21	-0,25	0,82	-1,94	0,15
Ar	0,38	0,72	2,54	0,06	1,71	0,14	0,50	0,64	-1,47	0,20
Am	0,48	0,65	3,28	0,02	1,78	0,13	0,41	0,70	-1,93	0,15
Hm	0,16	0,88	2,44	0,06	1,40	0,21	0,17	0,87	-1,55	0,22
GI	0,64	0,55	1,73	0,14	-0,81	0,45	-1,44	0,21	-0,60	0,57
ArP	0,12	0,91	0,46	0,66	0,20	0,85	-0,16	0,88	-0,31	0,77
EP	0,00	>0,99	0,34	0,75	0,27	0,80	0,00	>0,99	-0,25	0,81

Tabla suplementaria 2d: Estadístico *t-Student* y p-valor en las comparaciones entre los grupos (G) para cada una de las variables. Abreviaciones P: peso, A: ancho, H: alto, IdF: índice de forma, NL: número de lóculos, Per: pericarpio, Ar: área, Am: ancho máximo, Hm: alto máximo, GI: grado de irregularidad, ArP: área de pericarpio, EP: espesor de pericarpio. En negrita se resaltan los p-valores significativos (< 0,05).