

Universidad Politécnica de Valencia

Máster en Mejora Genética Vegetal

Instituto Universitario de Conservación y
Mejora de la Agrodiversidad Valenciana
(COMAV)

Evaluación de retrocruces avanzados de berenjena en condiciones de bajo nitrógeno

Autor: Reyes David Moya Muñoz

Tutor: Santiago Vilanova Navarro

Directora experimental: Gloria Villanueva Párraga



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrodiversidad Valenciana

Resumen

La berenjena (*Solanum melongena*) es una hortaliza muy importante en muchas áreas tropicales y subtropicales del mundo, siendo la tercera solanácea más producida a nivel mundial. Sin embargo, los recursos genéticos y las herramientas biotecnológicas para su investigación no han sido desarrollados lo suficiente. Por otro lado, el aporte de N en la agricultura tiene un coste medioambiental considerable, haciendo necesaria la adaptación del sistema de cultivo hacia uno de bajos insumos. La berenjena se encuentra en una situación de vulnerabilidad ante estos cambios debido a los efectos de cuello de botella genético acontecidos durante su domesticación y a la disponibilidad limitada de recursos genéticos accesibles para su mejora genética.

Con el objetivo de crear material pre-mejora que pueda servir para aumentar la diversidad fenotípica en futuros programas de mejora, García-Fortea y colaboradores (2020), se encuentran desarrollando en el COMAV tres líneas de introgresión (ILs) con material proveniente de tres especies representantes de los distintos grupos del acervo genético de la berenjena *S. insanum*, *S. dasyphyllum*, y *S. elaeagnifolium*. En el presente Trabajo Fin de Máster, se seleccionaron un total de 143 ILs de dicha colección y se evaluaron en condiciones de bajo nitrógeno, comparándolas además con los parentales recurrentes. Se observaron efectos significativos de las condiciones de cultivo de alto y bajo nitrógeno en los parentales recurrentes. Entre las líneas se observó una gran variabilidad y se encontraron diferencias significativas para algunos caracteres de importancia agronómica como el peso del fruto, o en la eficiencia de utilización de nitrógeno (NUtE) en algunas de las ILs evaluadas, encontrándose además genotipos con unas características agronómicas superiores a las mostradas por los parentales. La evaluación de estos materiales puede contribuir al desarrollo de nuevas variedades de berenjena mejoradas para una agricultura más sostenible.

Abstract

Aubergine (*Solanum melongena*) is a very important vegetable in many tropical and subtropical areas of the world, being the third most produced solanaceae worldwide. However, genetic resources and biotechnological tools for its study have not been sufficiently developed. On the other hand, N input in agriculture has a significant environmental cost, making it necessary to adapt the cultivation system towards a low-input system. Aubergine is vulnerable to these changes due to the genetic bottleneck effects that occurred during its domestication and the limited availability of available genetic resources for breeding.

With the aim of creating pre-breeding material that can be used to increase phenotypic diversity in future breeding programmes, García-Forte and collaborators (2020) are developing at COMAV three introgression lines (ILs) with material from three species representing the different groups of the aubergine gene pool *S. insanum*, *S. dasyphyllum*, and *S. elaeagnifolium*. In this Master's thesis, a total of 143 ILs were selected from this collection and evaluated under low nitrogen conditions and compared with the recurrent parents. Significant effects of high and low nitrogen growing conditions were observed in the recurrent parents. Among the lines, a large variability was observed and significant differences were found for some agronomically important traits such as fruit weight, or in nitrogen utilization efficiency (NUtE) in some of the ILs evaluated, and genotypes with higher agronomic characteristics to those shown by the parents were also found. The evaluation of these materials may contribute to the development of new improved aubergine varieties for a more sustainable agriculture.

Índice

Resumen.....	2
Abstract	3
1. Introducción	6
1.1. La berenjena.....	6
1.1.1. Taxonomía y origen	6
1.1.2. Descripción botánica	7
1.1.3. Especies silvestres relacionadas.....	7
1.1.4. Importancia económica.....	8
1.2. Cambio climático.....	9
1.2.1. Cambio climático y la mejora genética	9
1.2.2. Erosión genética como consecuencia del cambio climático	10
1.2.3. Cultivo sostenible	10
1.2.4. Nitrógeno y problemática asociada	11
1.2.5. Eficiencia del Uso del Nitrógeno	12
1.3. Mejora Genética Vegetal.....	13
1.3.1. La introgresión.....	13
1.4. Calidad nutricional	15
2. Objetivos	17
3. Materiales y métodos	18
3.1. Material vegetal	18
3.2. Genotipado.....	18
3.3. Condiciones de cultivo	20
3.4. Caracterización fenotípica.....	22
3.5. Composición	25
3.6. Análisis de la calidad	26
3.6.1. Contenido de ácido clorogénico.....	26
3.6.2. Contenido de polifenoles totales	26
3.7. Análisis de datos.....	27
4. Resultados	28
4.1. Efecto de las condiciones de cultivo	28
4.2. Búsqueda de caracteres diferenciales en las líneas de retrocruce.....	30
4.3. Análisis de componentes principales	32
4.4. Correlaciones entre caracteres evaluados	38
5. Discusión	42
5.1. Efecto de las condiciones del cultivo	42

5.2.	Búsqueda de caracteres diferenciales en las líneas de retrocruce	43
5.3.	Análisis de componentes principales	44
5.4.	Análisis de correlaciones	46
6.	Conclusiones.....	47
7.	Bibliografía	48

1. Introducción

1.1. La berenjena

1.1.1. Taxonomía y origen

La berenjena (*Solanum melongena* L.) es una planta que pertenece a la familia *Solanaceae* y originaria del sudeste asiático. Su clasificación taxonómica es la siguiente (Vorontsova y Knapp, 2016):

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Tribu	Solaneae
Género	<i>Solanum</i>
Subgénero	<i>Leptostemonum</i>
Sección	<i>Melongena</i>
Especie	<i>Solanum melongena</i> L.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la berenjena

Dentro de la familia de las Solanáceas, el género *Solanum* engloba aproximadamente la mitad de la diversidad de las especies de la familia, contando con unas 1800 especies. Se pueden encontrar en él plantas de todo tipo, desde herbáceas, pasando por arbustivas hasta arbóreas y, en muchos casos, son espinosas y contienen glicoalcaloides venenosos como la solanina, presente en todas las partes de la planta (Barceloux, 2009). *Solanum melongena* pertenece a uno de los grupos no tuberosos del género *Solanum*, tratándose de una especie diploide con un número cromosómico de $n=12$. Se distribuye por todos los continentes, a excepción de la Antártida, en una amplia variedad de hábitats, desde selvas tropicales hasta los desiertos más secos (Knapp et al., 2019).

A diferencia de la mayoría de las solanáceas cultivadas, originarias del continente americano, la berenjena es una de las pocas especies originarias del Viejo Mundo (Meyer et al., 2012). La hipótesis histórica de Lester y Hasan (1991) sugiere que *Solanum incanum* fue el antecesor silvestre de la berenjena cultivada (*S. melongena*). Este podría haberse desarrollado como una maleza entre los cultivos hortícolas de Asia tropical. Luego habría sido adoptado progresivamente como un taxón semi-cultivado, y expuesto a una selección progresiva, primero hacia tipos primitivos y luego hacia tipos avanzados con frutos grandes de varias formas y colores.

Sin embargo, recientes estudios basados en la variabilidad morfológica y molecular indican que la berenjena es el resultado de la domesticación de la especie silvestre *S. insanum* L. y no de *S. incanum* L. tal y como se creía (Meyer et al., 2012; Page et al., 2019). Esta especie silvestre se encuentra principalmente en el sudeste de Asia y presenta muchas similitudes morfológicas con las formas cultivadas de *S. melongena*. Además, es posible la obtención de híbridos completamente fértiles y con meiosis regular entre las dos especies (Knapp et al., 2013).

Desde el Centro Indio de domesticación, considerado como centro primario, la berenjena se extendió a China y la Región Mediterránea, que se consideran centros secundarios

de diversidad (Prohens et al., 2005; Cericola et al. 2013). Desde la zona Indo-Birmana y con ayuda de los árabes, la berenjena se introdujo en la Península Ibérica a través de la ruta de la seda. A partir de los tipos introducidos por los árabes surgieron variedades locales adaptadas a diversas condiciones de la Península como consecuencia de la selección (tanto natural como artificial), la recombinación, la migración, la deriva genética y los cruzamientos espontáneos entre individuos de poblaciones diferentes (Prohens et al., 2003). Finalmente, desde aquí se extendió al resto de Europa, y fue introducida en América tras su descubrimiento.

1.1.2. Descripción botánica

Se trata de una planta herbácea anual de crecimiento indeterminado, con un sistema radicular fuerte y bien desarrollado, tanto en profundidad como lateralmente. Presenta un tallo semileñoso, cilíndrico rígido y generalmente erecto que puede alcanzar una altura de 0,5-1,5 m (Illesca & Vesperinas, 1989).

Las hojas son sencillas, alternas ovadas u oblongo-ovadas y con un tamaño de hasta 15-25 cm de largo. Son pilosas en la cara abaxial y suelen presentar espinas en las nerviaciones prominentes o en el peciolo de las hojas (Illescas & Vesperinas, 1989).

Las flores, de color blanco o violeta de un tono más o menos intenso según la variedad, suelen aparecer en forma solitaria o bien formando ramilletes de dos o más, llegando en algunos casos a grupos de hasta 4-5 flores. La corola es rotada, de 2,5 a 4,5 cm de diámetro. Las anteras tienen de 6 a 8 mm de largo, el estilo puede ser exerto o inserto. El cáliz es persistente, tomentoso y espinoso (Knapp et al., 2013).

Los frutos de berenjena son muy variables, con formas redondeadas hasta completamente alargadas, un tamaño de 2-30 cm de largo y con la epidermis lisa o corrugada. Presentan una amplia gama de colores como morado oscuro, violeta, negro, blanco o amarillo en su estado de madurez fisiológica, y pueden ser lisas o estriadas. La pulpa es carnosa, de coloración amarilla, blanca o verde, produciéndose un pardeamiento de la carne del fruto al entrar en contacto con el aire por su elevado contenido en ácido clorogénico y la actividad polifenol oxidasa (PPOs) (Daunay & Hazra, 2012; Mishra et al., 2013; Plazas et al., 2013a,b).

1.1.3. Especies silvestres relacionadas

Desde los inicios de la humanidad y con la aparición de la Agricultura, una serie de largos procesos de domesticación empezaron a llevarse a cabo hasta llegar a lo que hoy conocemos como las formas modernas de los cultivos a partir de estas especies, que hoy en día coexisten con nuestros cultivos. En el caso concreto de la berenjena, esta posee muchas especies silvestres relacionadas las cuales crecen en una amplia gama de condiciones ambientales, incluidas áreas desérticas y entornos extremos (Syfert et al. 2016). Se ha descubierto que algunos de estos parientes silvestres son resistentes o tolerantes a algunas enfermedades y plagas que podrían estar aumentando su incidencia debido al incremento de las temperaturas (Namisy et al., 2019). No obstante, la explotación de los recursos genéticos de la berenjena, y en particular de sus especies silvestres relacionadas, ha sido históricamente muy limitado.

En función de su parentesco o distancia filogenética, las especies silvestres se agrupan en tres niveles definidos como germoplasma primario, secundario y terciario. El germoplasma primario incluye aquellas especies que pueden cruzarse entre sí, generando una descendencia completamente fértil. El germoplasma secundario lo componen aquellas especies que pueden cruzar con las especies cultivadas, aunque en ocasiones la tasa de éxito es menor, pudiendo la descendencia del cruce presentar problemas de fertilidad. Finalmente, el germoplasma terciario

lo componen aquellas especies filogenéticamente relacionadas, pero con las que existen grandes barreras reproductivas. La dificultad de realizar cruzamientos es aún mayor en el caso del germoplasma terciario, haciendo que los cigotos formados, en el caso de que se produzca la fecundación, sean anómalos, letales o den lugar a híbridos completamente estériles (Harlan & de Wet, 1971; Khush and Brar, 1992; Dwivedi et al., 2008).

S. insanum, una de las especies más interesantes para aumentar la variabilidad de la berenjena común. Se trata de una maleza ampliamente distribuida se caracteriza por crecer en zonas áridas y terrenos infértiles. Esto sugiere que esta especie presenta un gran potencial para la adaptación a la sequía, así como a otros estreses abióticos ambientales (Ranil et al., 2017; Lester & Hasan, 1991). Los niveles de ácido clorogénico presentes en esta especie son muy elevados, con lo que sería muy útil usarla para mejorar este carácter (Stommel & Whitaker, 2003).

Por otra parte, como representante del grupo de germoplasma secundario está *S. dasyphyllum*. Se trata de una especie adventicia que se encuentra normalmente como mala hierba en zonas poco transformadas por el ser humano. Suele tener pelos y espinas en tallos, hojas y cáliz, lo que la hace una especie poco atractiva para animales y humanos. Es una especie africana utilizada comúnmente como planta medicinal con un gran potencial fitoquímico (Bukanya and Carrasco 1994; Kidane et al., 2014).

Finalmente, como representante del germoplasma terciario está *S. elaeagnifolium*, especie que, aunque es nativa del norte y el sur de América (Knapp et al. 2017), es una maleza dispersada por todo el mundo con unos niveles de tolerancia al estrés hídrico muy elevado (Christodoulakis et al., 2009). Además, esta especie presenta un perfil de compuestos fenólicos muy interesante, lo cual le confiere un potencial enorme para la mejora nutricional de la berenjena (Kaushik et al., 2015).

1.1.4. Importancia económica

Tal y como hemos dicho con anterioridad, la berenjena pertenece a la familia de las solanáceas, la cual está conformada por 98 géneros (Olmstead & Bohs, 2008), convirtiéndose en la tercera familia del reino vegetal en importancia económica. En el año 2019 la producción de berenjena a nivel global fue de 55,19 millones de toneladas de berenjenas en una superficie de cultivo final de 1,85 millones de hectáreas (FAO, 2019). La mayor parte de la producción esta aglutinada en la región asiática, llegando hasta el 94,2% en el año 2019.

En cuanto a la Unión Europea, España se sitúa en segunda posición con una producción de 245.140 toneladas de berenjena que solo es superada por Italia donde se producen 300.620 toneladas (Figura 1). En el caso de España, el 65% de la producción es destinada a la exportación, fundamentalmente a la Unión Europea. La producción de berenjena se concentra en Andalucía, más concretamente en Almería, donde en 2019 se generó el 78% del total del cultivo de berenjena en España (Fepex, 2019). El constante crecimiento de la población ha hecho que sea necesario la utilización de variedades híbridas, así como la utilización de técnicas de cultivo intensivas como el aprovechamiento de invernaderos, lo cual ha generado un aumento del rendimiento en los últimos años de los cultivos, haciendo posible un crecimiento de la producción mundial de berenjena.

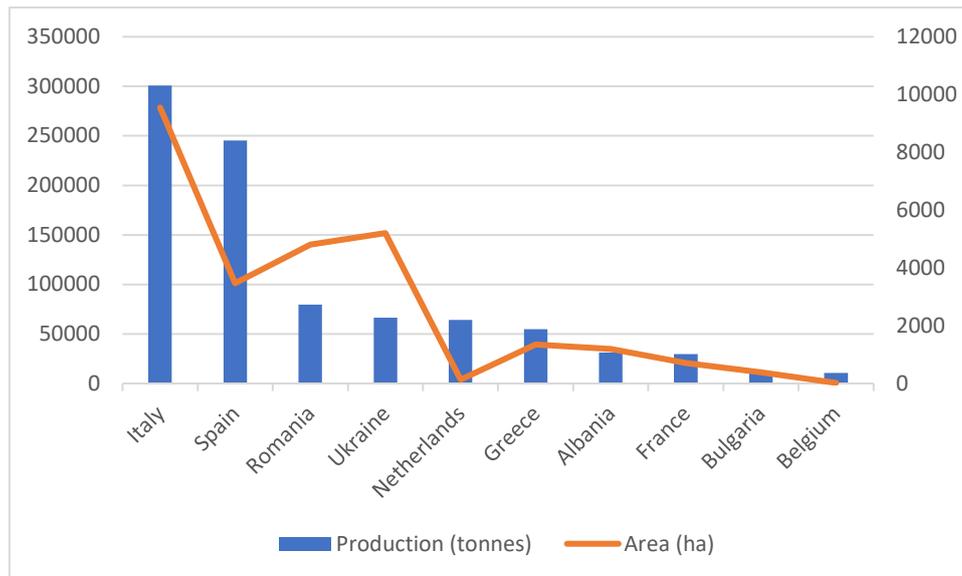


Figura 1. Producción (eje principal) y área cultivada (eje secundario) del cultivo de la berenjena en los principales países productores de Europa en el año 2019 (datos FAO, 2021).

1.2. Cambio climático

1.2.1. Cambio climático y la mejora genética

En los últimos 150 años la emisión masiva de CO₂, un gas de efecto invernadero, a la atmósfera resultante de la utilización de combustibles fósiles como el carbón, petróleo y gas natural ha traído como consecuencia un aumento de las concentraciones de CO₂ de unas 280 ppm a más de 400 ppm en la actualidad (Betts et al., 2016). Aunque los incrementos de concentración de CO₂ van a contribuir a una mejora en la productividad agrícola debido a la mejora en la eficiencia fotosintética, a nivel global los efectos del cambio climático tales como la variación en los patrones de pluviometría, incremento de la temperatura media, el incremento de los eventos extremos y la subida en los niveles de ozono van a provocar un descenso de la productividad. Además, el avance del mar como consecuencia del deshielo de los polos, así como nuevos eventos atmosféricos como inundaciones o tornados en zonas donde antes no había, supondrán también un problema para la agricultura ocasionando pérdidas de terrenos cultivables, salinización de acuíferos y limitando el agua dulce disponible para riego (Anwar et al., 2013; Bebbber et al., 2013). En definitiva, los cultivos se verán sometidos a una serie de estreses abióticos que limitarán su productividad, causando un impacto directo sobre los cultivos.

Por lo que respecta a la Península Ibérica, diversos modelos indican que va a ser una de las regiones europeas en las que la productividad agrícola va a decrecer más debido al cambio climático, con descensos de alrededor del 30% de la productividad en la mayor parte del territorio (Císcar, 2009).

Los programas de mejora genética enfocados a la adaptación al cambio climático implican la búsqueda de resistencias o tolerancias a dichos factores abióticos. Sin embargo, estas resistencias suelen ser cuantitativas y están controladas por un alto número de genes, haciendo muy complicado su estudio y posterior uso (Collins et al. 2008). Incrementar el rendimiento agrícola, al mismo tiempo que se produce el fenómeno del cambio climático es todo un reto, y

requerirá nuevas estrategias con el objetivo de obtener nuevas variedades con una mayor resiliencia (Fita et al. 2015). Los esfuerzos que se están llevando a cabo para mejorar la tolerancia a estreses relacionados con el cambio climático se están centrando en la tolerancia a la sequía, resistencia a altas temperaturas, tolerancia a la salinidad, tolerancia a nuevos patógenos, y aumento de la resiliencia (Ruiz de Galarreta et al. 2018).

1.2.2. Erosión genética como consecuencia del cambio climático

La erosión genética es la pérdida de diversidad genética de una especie (Carrillo, 2016). En la mejora de plantas, la erosión genética de las variedades tradicionales y de las especies silvestres relacionadas produce una pérdida irreversible de diversidad genética, la cual deja de ser aprovechable para el mejorador. La erosión genética de las variedades tradicionales, al ser reemplazadas por variedades mejoradas, ha provocado la desaparición de muchas de estas (van de Wouw et al., 2010). Afortunadamente, en la mayoría de los cultivos importantes, las labores de recolección y conservación de variedades tradicionales realizadas por investigadores y bancos de germoplasma ha permitido conservar una parte importante de la diversidad antes de que esta desapareciera de los campos de cultivo. También en especies silvestres emparentadas con los cultivos se ha hecho un esfuerzo de recolección y conservación de las mismas. Así, a nivel global, los bancos de germoplasma conservan más de 7 millones de accesiones de especies cultivadas y silvestres relacionadas (FAO, 2010).

Una de las consecuencias del cambio climático puede ser la erosión genética, tanto de variedades locales como de especies silvestres no conservadas todavía ex situ (Burke et al., 2009; Dempewolf et al., 2014). En el caso de las variedades locales, éstas son el resultado de la evolución y selección natural y artificial de éstas para adaptación a condiciones locales (Cubero, 2016). El rápido cambio climático va a provocar variaciones ambientales importantes en los agroecosistemas, de forma que muchas variedades tradicionales actualmente cultivadas, a pesar de ser biodiversas, no van a ser capaces de adaptarse a las nuevas condiciones, lo que puede abocarlas a su desaparición (Bellon & van Etten, 2014). En algunos casos, la diversidad puede mantenerse por migración a nuevas áreas donde se den las condiciones ambientales adecuadas, pero muchas variedades pueden quedar excluidas del proceso o perder una parte importante de la diversidad durante la migración. En el caso de las especies silvestres, a lo largo de su evolución, han sufrido episodios de cambio climático adaptándose a los mismos mediante variación en las frecuencias alélicas y/o migración (Pauls et al., 2013).

1.2.3. Cultivo sostenible

La agricultura de bajos insumos puede definirse como sistemas gestionados con un uso reducido de insumos, lo que suele dar lugar a un sistema que sufre algún tipo de limitación o estrés, como deficiencias de nitrógeno y fósforo o un suministro inadecuado de agua, que en última instancia provoca pérdidas de rendimiento. Estos sistemas no son necesariamente orgánicos en la práctica (según la definición del USDA), ya que las operaciones convencionales de bajos insumos y orgánicas de altos insumos no son desconocidas en todo el mundo. Sin embargo, los bajos insumos se asocian a menudo y se utilizan como sinónimo de sistemas de producción ecológica, especialmente en los países desarrollados. Los sistemas de bajos insumos han reducido el uso de fertilizantes, si bien no han sido eliminados (ya sean de origen inorgánico u orgánico), así como el de pesticidas y herbicidas (ya sean biológicos, inorgánicos u orgánicos) (Fess et al., 2011).

Los sistemas de bajos insumos se basan en la mejora de la gestión de los recursos de la explotación, lo que se traduce en un agroecosistema más sostenible. Mil cuatrocientos millones de personas en el mundo, sobre todo en los países en vías de desarrollo, dependen de los

cultivos en sistemas de bajos insumos como fuente principal de producción agrícola (Murphy et al., 2005). Los agricultores de bajos insumos o de escasos recursos representan la mitad de los productores de alimentos del mundo, y proporcionan más del 20% del suministro mundial de alimentos (Sthapit et al., 2008). A pesar del elevado número de productores de bajos insumos a nivel mundial, estos agricultores de escasos recursos no se han beneficiado tanto de los programas modernos de mejora genética. Se cree que esto se debe en gran medida a que las variedades se desarrollan en condiciones que no están representadas por los entornos marginales (Abay & Bjornstad, 2009).

Lamentablemente, las variedades que mejor se adaptan a las condiciones de estrés son limitadas, inaccesibles o costosas. Debido a la naturaleza de la obtención de variedades para la agricultura moderna, enfocada normalmente a unas condiciones óptimas y un alto rendimiento, a menudo se pasan por alto las variedades que poseen rasgos genéticos ventajosos en sistemas de bajos insumos (Ceccarelli, 1994). Varios estudios han demostrado que las variedades modernas pueden superar a las variedades agrícolas tradicionales en condiciones de bajos insumos. Toure et al. (2009) descubrieron que, en condiciones de cultivo no intensivas, las variedades tradicionales de arroz de tierras bajas rendían más que las modernas en África. Se han observado resultados similares con otros cultivos importantes, como el sorgo, (Trouche et al., 2011), el trigo (Guarda et al., 2004) y la cebada (Abay & Bjornstad, 2009).

Las variedades modernas que han sido adoptadas con éxito por los productores de bajos insumos generalmente han sido desarrolladas utilizando germoplasma local, aumentando la interacción genotipo \times ambiente ($G \times E$), la adaptabilidad y, por tanto, el rendimiento del cultivo (Yapi et al., 2000). Se ha demostrado que la forma más eficiente de mejorar los rendimientos en condiciones de bajos insumos es seleccionar las variedades en condiciones de bajos insumos o de estrés (Murphy et al., 2007). Sin embargo, esta práctica la llevan a cabo pocos programas de mejora genética, dejando a los productores de bajos insumos sin cultivares adecuados. Los agricultores de bajos insumos de las regiones en desarrollo deben confiar en las variedades autóctonas o criollas, que han sido seleccionadas por el proceso evolutivo (de forma natural) y por los agricultores locales (de forma artificial), y que a menudo se intercambian entre ellos. Las variedades locales son poblaciones de cultivos heterogéneas que poseen genotipos específicos de una región determinada, con gran adaptabilidad al entorno natural y a las prácticas agrícolas de esa región (Zeven, 1998). La importancia de cambiar el paradigma de la agricultura moderna de los altos a los bajos insumos es cada vez más urgente, ya que la población humana sigue aumentando, al mismo tiempo que los recursos finitos cruciales han alcanzado o están alcanzando su pico de producción y comenzarán a disminuir inevitablemente. La selección para condiciones de bajo rendimiento y estrés variable es más compleja que la selección para sistemas uniformes, controlados y altamente productivos, pero es absolutamente necesaria para alimentar a la creciente población con recursos globales cada vez más escasos (Fess et al., 2011).

1.2.4. Nitrógeno y problemática asociada

La importancia del nitrógeno (N) en los sistemas vivos es bien conocida: El N es un constituyente primario de los nucleótidos y las proteínas y, por tanto, es esencial para la vida. Además, el N biodisponible escasea en la mayoría de los ecosistemas terrestres; al menos tanto como cualquier otro nutriente, la disponibilidad de N limita el crecimiento de las plantas y la producción primaria, afectando fundamentalmente a la estructura y función de la mayoría de los ecosistemas (Robertson & Vitousek, 2009).

El N presenta gran importancia en los sistemas agrícolas, ya que su aporte mantiene y aumenta el rendimiento de los cultivos. Los beneficios netos para el ser humano son enormes: se pueden cultivar muchos más alimentos en una determinada superficie de tierra, aumentando así su capacidad de carga humana y aliviando simultáneamente parte de la presión para el desmonte de nuevas tierras con sus costes asociados. (Robertson & Vitousek, 2009).

Por otro lado, el aporte de N en la agricultura tiene un coste medioambiental considerable. El N es un compuesto móvil, difícil de contener y que perdura en el tiempo. La mayor parte del N movilizado desde los sistemas agrícolas está presente en formas que son biológicamente activas en los suelos y las aguas superficiales y/o químicamente reactivas en la atmósfera. Los aumentos de N reactivo de origen agrícola son sustanciales y generalizados, y provocan pérdidas de diversidad biológica, comprometen la calidad del aire y del agua y suponen una amenaza para la salud humana en amplias zonas de la Tierra (Robertson & Vitousek, 2009).

La mayor reserva de N en la biosfera es, por mucho, el N₂ atmosférico, que constituye el 79% del aire seco. Sin embargo, el triple enlace que une los átomos de N en el N₂ es excepcionalmente fuerte, y sólo se puede romper mediante unos pocos procesos. En la naturaleza, la energía necesaria para romper este enlace puede ser proporcionada por un rayo o, mucho más comúnmente, por microbios fijadores de N₂ con enzimas especializadas capaces de convertir el N₂ en NH₃. Industrialmente, este enlace se rompe con calor y presión, y ahora en la tierra se fija más N₂ por vía industrial que por vía biológica. La mayor parte del N₂ fijado por la industria se produce durante la producción de fertilizantes de N mediante el proceso Haber-Bosch, en el que se quema gas natural (CH₄) para producir hidrógeno que luego reacciona con N₂ a alta temperatura y muy alta presión para formar amoníaco (NH₃). El descubrimiento de este proceso a principios del siglo pasado y su comercialización han proporcionado una fracción sustancial y creciente de las necesidades mundiales de N en la agricultura. Este proceso también proporciona la mayor parte del nuevo N reactivo que ahora afecta a los entornos no agrícolas (Robertson & Vitousek, 2009).

En un informe de colaboración, la Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes (<http://www.fertilizer.org>) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente estimaron que la producción de una tonelada métrica de fertilizante nitrogenado sintetizado mediante el proceso Haber-Bosch consume 873 m³ de gas natural. Para muchos cultivos, la fertilización con N se ha convertido en el mayor coste de los insumos, y este coste no hará más que aumentar a medida que los recursos sean más escasos. El exceso de compuestos de N liberados por los sistemas agrícolas amenaza la calidad del aire, el agua y el suelo (Xu & Miller, 2012). El aumento de la lixiviación del suelo al agua de drenaje y la liberación de óxido nitroso atmosférico y de gases de N reactivo (NO_x, NH₃) a la troposfera aceleran la eutrofización de los cursos de agua y acidifican los suelos (Robertson & Vitousek, 2009). Debido a los intrincados efectos del N reactivo en cascada a través de sus múltiples formas químicas, la contaminación por N supone un reto aún mayor que el del carbono (C). Además, el exceso de N en el medio ambiente le cuesta actualmente a la Unión Europea entre 70.000 y 320.000 millones de euros al año (Sutton et al., 2011). Por lo tanto, la mejora de la eficiencia del uso del nitrógeno (NUE) en la agricultura es crucial y representa un reto importante (Xu & Miller, 2012).

1.2.5. Eficiencia del Uso del Nitrógeno

Para lograr un mayor aumento del rendimiento en unas condiciones más respetuosas con el medio ambiente, resulta necesario seleccionar plantas que utilicen los fertilizantes de forma más eficiente. Lograr simultáneamente una alta productividad de los cultivos y una alta

eficiencia en el uso de los nutrientes es un reto importante, dada la creciente demanda mundial de alimentos, materias primas y biocombustibles.

La Eficiencia del Uso de Nitrógeno (NUE) comprende dos componentes clave: La eficiencia de la absorción de N (NUpE), que es la eficiencia de la absorción del N suministrado, y la eficiencia de la utilización del N (NUtE), que es la eficiencia de la asimilación y movilización del N de la planta para producción. La definición más simple de NUE de la planta es el rendimiento de fruto por unidad de N suministrado, también representado por el producto de NUpE y NUtE. En teoría, la mejora de la NUE podría lograrse mejorando la NUpE o la NUtE, o uno o más de sus componentes (Han et al., 2015).

1.3. Mejora Genética Vegetal

La variación genética disponible en las especies cultivadas para la adaptación al cambio climático es muy limitada, por lo que podría ser imposible llevar a cabo importantes mejoras en los cultivares empleando el pool genético de las plantas cultivadas en la actualidad (Hajjar & Hodgkin 2007; Vincent et al. 2013; Dempewolf et al. 2014; Warschefsky et al. 2014).

Es imprescindible aplicar métodos de mejora genética que permitan dar una respuesta rápida a los nuevos retos que se presentan. Sin embargo, la velocidad de los procesos de mejora dependerá de si se dispone de material de élite con un fondo genético adaptado, algo que no ocurre habitualmente. Por otra parte, las especies silvestres y los materiales no adaptados son excelentes fuentes de variación, siendo muchos de los caracteres que poseen tolerancias o resistencias al cambio climático. Sin embargo, estos son difíciles de reintroducir en los materiales cultivados, dilatándose el proceso a lo largo del tiempo y requiriendo años o incluso décadas para conseguirlo (Zhang & Batley, 2020). Por otra parte, el uso de especies silvestres como fuente de diversidad presenta otros inconvenientes como la introgresión de caracteres indeseables (habitualmente dominantes o poligénicos) que requieren de varias generaciones para su eliminación y que en muchas ocasiones van acompañados de fenómenos de arrastre por ligamiento que hace más difícil todavía su eliminación (Shingh et al., 2005; Bradshaw, 2017), además de los problemas asociados a la incompatibilidad sexual y las barreras reproductivas que habitualmente se encuentran al utilizar especies silvestres relacionadas (Mwangangi et al., 2019; Jayashree et al., 2020; Daunay et al., 2019).

1.3.1. La introgresión

La "introgresión" se ha definido como "el desarrollo sistemático a escala masiva de materiales y poblaciones portadores de introgresiones de fragmentos genómicos procedentes de especies relacionadas (principalmente silvestres) en un fondo genético de cultivos, de forma que se puedan desarrollar nuevas generaciones de cultivares con propiedades mejoradas" (Prohens et al., 2017). Se trata de un tipo de mejora preventiva, donde se busca ampliar la base genética de los cultivos desarrollando poblaciones de mejora con introgresiones de especies silvestres o materiales tradicionales. Esos materiales pueden acortar considerablemente el tiempo necesario para desarrollar nuevos cultivares con características mejoradas, gracias a introgresiones de especies silvestres, especialmente en lo que respecta a caracteres complejos como los derivados de adaptación al cambio climático (Dempewolf et al., 2014).

La introgresión sigue varios pasos. En primer lugar, hay que identificar los materiales silvestres que se van a utilizar para el desarrollo de las poblaciones con introgresiones en función de los objetivos de mejora establecidos. Para ello, se realiza un estudio previo de los materiales

a través de un fenotipado o de información sobre los ambientes en los que estas especies se desarrollan (Ruiz de Galarreta et al. 2018; (Prohens et al., 2017).

Una vez identificadas las accesiones de especies silvestres a utilizar, el siguiente paso es la hibridación y derivación de materiales con introgresiones (Prohens et al.,2017). A este respecto, la hibridación entre la especie cultivada y silvestres relacionadas suele ser más complicada que el cruzamiento entre materiales de la especie cultivada (Harlan y de Wet, 1971; Jones, 2003). Aún en el caso de cruzamientos con especies del germoplasma primario en ocasiones la dificultad de cultivar plantas silvestres, debido a requerimientos específicos de fotoperiodo, y otros caracteres típicos de especies silvestres puede dificultar la obtención de híbridos (Prohens et al., 2017). Cuando los cruzamientos se realizan con especies del germoplasma secundario o terciario pueden aparecer barreras reproductivas precigóticas y postcigóticas que dificulten la obtención de híbridos interespecíficos (Khush y Brar, 1992). A este respecto, en determinados casos, existen distintas técnicas que pueden permitir la superación de dichas barreras como el rescate de embriones (Prohens et al., 2017). Una alternativa a la hibridación sexual en cruzamientos alejados es la hibridación somática (Johnson y Veilleux, 2000), aunque el resultado, en caso de obtenerse, es un híbrido poliploide con el que puede ser difícil o imposible obtener descendencias.

Cuando ya se dispone de híbridos interespecíficos es común recurrir a retrocruzamientos para desarrollar materiales con introgresiones de especies silvestres (Zamir,2001; Gur y Zamir, 2004). La obtención de híbridos interespecíficos no es garantía de obtención de generaciones de retrocruzamiento, ya que éstos pueden ser total o parcialmente estériles (De Storme y Mason, 2004). Cuando la esterilidad no es total se puede recurrir a utilizar el híbrido interespecífico como parental femenino, ya que el polen debe tener alto vigor para germinar y alcanzar el óvulo, algo que no es necesario en el gameto femenino (Prohens et al., 2017). También la duplicación del genoma del híbrido en ocasiones permite restaurar la fertilidad del mismo (Khush y Brar, 1992; Shivanna y Bahadur, 2015) aunque se obtiene un poliploide. Cuando el número de cromosomas de la especie cultivada y la silvestre es el mismo y se duplica el cromosoma del híbrido interespecífico se obtiene un tetraploide, que en caso de ser fértil se puede retrocruzar con el parental silvestre al cual se le ha duplicado el genoma. Una vez obtenidas una o dos generaciones de retrocruzamiento mediante cultivo de anteras o microsporas se puede volver al estado diploide (Prohens et al., 2017). Un aspecto importante en la obtención de retrocruzamientos es que a medida que se avanzan generaciones de retrocruzamiento, la fertilidad se recupera (Wall, 1970), facilitando la obtención de materiales con introgresiones.

El paso final en la introgresión es la obtención de materiales que puedan ser fácilmente utilizados por el mejorador y que contengan en su conjunto una amplia diversidad procedente de especies silvestres (Prohens et al., 2017). Mediante la selección asistida por marcadores en generaciones segregantes se pueden obtener distintos tipos de poblaciones:

- Colecciones de líneas de sustitución cromosómica (CSLs; “chromosome substitution lines”), donde cada una de las líneas contiene el genoma de la especie silvestre excepto para una pareja de cromosomas introducida desde la especie silvestre y entre todas representan el genoma de las especies silvestre (Cavanagh et al., 2008),
- Líneas de introgresión (ILs; “introgression lines”): contienen el fondo genético de la especie cultivada y una parte de un cromosoma de la especie silvestre, de forma que al igual que con las CSLs está representado todo, o la mayor parte, del genoma silvestre en la colección (Zamir, 2001).

- Poblaciones multiparentales avanzadas de entrecruzamientos (MAGIC; multi-parental advanced generation inter-cross): en estas poblaciones un conjunto de parentales (8 o 16) se entrecruzan entre ellos dando lugar en última instancia a un híbrido cuádruple que al autofecundarse dará lugar a una descendencia altamente segregante. En este caso alguno de los parentales debería de ser una especie silvestre (Prohens et al. 2017).

Aunque la importancia del cultivo de la berenjena es notoria, no existen muchas herramientas de este tipo desarrolladas. Actualmente solo se dispone de una colección de líneas de introgresión con *S. incanum* (Gramazio et al., 2017), una población MAGIC que está en desarrollo (Arrones et al., 2020), y las ILs desarrolladas por el COMAV, y con las que se va a desarrollar el presente trabajo fin de máster. Tal y como se mencionó anteriormente, son tres las líneas de introgresión: *S. insanum* (germoplasma primario), *S. dasyphyllum* (germoplasma secundario) y *S. elaeagnifolium* (germoplasma terciario).

1.4. Calidad nutricional

Los consumidores son cada vez más conscientes de los beneficios potenciales que se derivan de las dietas ricas en frutas y verduras para mantener una buena salud y prevenir enfermedades (Boeing et al., 2012). En este sentido, la literatura científica ofrece una gran cantidad de información que relaciona una dieta rica en frutas y verduras con una mayor salud y la prevención de enfermedades (Lobo et al., 2010; Fulton et al., 2014). Esto ha estimulado una creciente demanda de verduras con mayor contenido en compuestos bioactivos. Muchas moléculas bioactivas derivadas de los vegetales son eficaces debido a su actividad antioxidante, que impide la formación de especies reactivas de oxígeno, nitrógeno, hidroxilo y lípidos, eliminando los radicales libres, reparando o eliminando las moléculas dañadas (Leopoldini et al., 2004; Piazzon et al., 2012). Las moléculas bioactivas antioxidantes más relevantes que se encuentran en las frutas y hortalizas suelen ser las vitaminas hidrosolubles, los carotenoides y los fenoles (Gülçin, 2012; Dasgupta et al., 2014; Kaur & Kapoor, 2001; Kaushik et al., 2015).

Entre los principales grupos de compuestos bioactivos de los vegetales, los ácidos fenólicos (moléculas que contienen un anillo fenólico y una función orgánica de ácido carboxílico) se están convirtiendo en el centro de atención de muchos investigadores dadas sus propiedades para la salud humana y su relativa abundancia en los vegetales. Los ácidos fenólicos son una de las diversas clases de los muchos compuestos fenólicos sintetizados por las plantas y se encuentran habitualmente en los alimentos de origen vegetal (Balasundram et al., 2006; Herman & Nagel, 1989; Mattila & Hellstrom, 2007). Las propiedades bioactivas de los ácidos fenólicos de los vegetales son numerosas (cardioprotectoras, anticancerígenas, antimicrobianas, hepatoprotectoras, ansiolíticas, antidiabéticas y antiobesidad), si bien cabe destacar su potencial antioxidante, llegando a superar en condiciones in vitro otros importantes antioxidantes como la vitamina C, E y β -caroteno (Tsao & Deng, 2004). Esto ha dado lugar a un creciente interés en la mejora del contenido de ácidos fenólicos en los vegetales (Sands et al., 2009; Diamanti et al., 2011).

Aparte de su interés para la salud humana, los ácidos fenólicos son muy importantes para la calidad de los alimentos de origen vegetal: son sustratos para el pardeamiento enzimático y pueden afectar al sabor (Prohens et al., 2007; Upadhyay & Mohan, 2013). Además, los ácidos fenólicos son moléculas de señalización que intervienen en las interacciones entre plantas y microorganismos (Mandal et al., 2010).

El ácido clorogénico, que es el ácido cafeico esterificado con el ácido quínico, es preeminente entre los ácidos fenólicos de muchos vegetales (Mattila & Hellstrom, 2007), como es el caso de la berenjena donde de media tiene una cantidad de 32 mg/100 g peso fresco (Mattila & Hellstrom, 2007) si bien puede variar desde 1,4 hasta 28 g/kg (Luthria, 2012). Se ha demostrado que algunas variedades silvestres de la berenjena presentan grandes cantidades de estos compuestos fenólicos (Meyer et al., 2015).

2. Objetivos

Aunque se puede encontrar una gran diversidad fenotípica en la berenjena común (Portis et al., 2015; Kaushik et al., 2016), su base genética es bastante estrecha debido a los cuellos de botella genéticos sufridos durante el proceso de domesticación y los posteriores procesos de evolución del cultivo (Muñoz-Falcón et al., 2009; Meyer et al., 2012). Con el objetivo de crear material pre-mejora que pueda servir para aumentar la diversidad fenotípica en futuros programas de mejora, García-Forteza y colaboradores (2020), se encuentran desarrollando en el COMAV tres líneas de introgresión con material proveniente de tres especies representativas de los distintos grupos del acervo genético de la berenjena. *S. insanum*, *S. dasyphyllum*, y *S. elaeagnifolium* (García-Forteza et al., 2019; Gramazio et al., 2017).

Por otro lado, el aporte de N en la agricultura tiene un coste medioambiental considerable, haciendo necesaria la adaptación del sistema de cultivo hacia uno de bajos insumos. La mayor parte de las variedades comerciales presentan un rendimiento muy elevado en condiciones de nitrógeno normal, pero en condiciones de bajo nitrógeno presentan un rendimiento muy bajo (Fess et al., 2011).

En el presente trabajo fin de máster se ha partido del material vegetal desarrollado por García-Forteza y colaboradores (2020) con el objetivo de desarrollar un conjunto de líneas adaptadas a condiciones de bajo nitrógeno (BN). Para ello, y en contraposición a lo que se suele hacer, se requiere evaluar las plantas en condiciones de bajo y alto contenido de N para identificar genotipos eficientes en el uso de N y comparar su rendimiento con el de otros genotipos en diversas condiciones de N (Han et al., 2015).

Los objetivos de este proyecto se dividen en:

1. Evaluar la influencia de dos condiciones de cultivo (nitrógeno normal y bajo nitrógeno) en tres variedades de berenjena cultivada (*S. melongena*).
2. Evaluar fenotípicamente 59 retrocruces avanzados de *S. melongena* x *S. elaeagnifolium*, 59 retrocruces avanzados de *S. melongena* x *S. dasyphyllum* y 25 retrocruces avanzados de *S. melongena* x *S. insanum* en condiciones de bajo nitrógeno.
3. Establecer las correlaciones potenciales entre los caracteres fenotípicos evaluados.

3. Materiales y métodos

3.1. Material vegetal

En el presente estudio fueron utilizadas unas líneas de retrocruces avanzados entre el parental recurrente *S. melongena* y las especies silvestres emparentadas utilizadas como parental donante, *S. dasyphyllum*, *S. elaeagnifolium* (García -Fortea et al., 2019), y *S. insanum*:

- *S. melongena* MEL1 y *S. dasyphyllum*: 59 individuos de las generaciones BC₄S₁ y BC₅
- *S. melongena* MEL3 y *S. elaeagnifolium*: 59 individuos de las generaciones BC₃ y BC₄
- *S. melongena* MEL5 y *S. insanum*: 25 individuos de las generaciones BC₄S₁ y BC₅

Las diferentes líneas de MEL utilizadas como parental recurrente son accesiones de berenjena cultivada, pero que presentan diferente color exterior del fruto. De esta forma, MEL1, presenta frutos con una epidermis de color blanca, MEL3 son de color verde, mientras que MEL5 presentan una piel morada.

3.2. Genotipado

El ADN genómico de las 185 líneas fue extraído utilizando el método de extracción de ADN 'SILEX' (Vilanova et al., 2020). A continuación, se evaluó su calidad e integridad mediante electroforesis en gel de agarosa y relaciones espectrofotométricas (260/280 y 260/230), además de su concentración empleando el fluorómetro Qubit® 2.0 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). Después de la dilución, las muestras de ADN se genotiparon con la plataforma de sondas SPET 5k de berenjena, que comprende 5.093 sondas (Barchi et al., 2019). El conjunto de marcadores SNPs se filtró con un valor de recuento mínimo del 95%, con una frecuencia alélica mínima (MAF) inferior al 5% y una proporción máxima de heterocigosidad del 70% utilizando el software Tassel (versión 5.0 Standalone, Bradbury et al., 2007). Después del filtrado, se seleccionaron 1824 en el caso de *S. insanum* (líneas INS) (Figura 2), 2371 marcadores para aquellas líneas retrocruzadas con el parental *S. dasyphyllum* (líneas DAS) (Figura 3) y 2874 marcadores en el caso de los descendientes de *S. elaeagnifolium* (líneas ELE) (Figura 4), marcadores que se utilizaran para análisis posteriores.

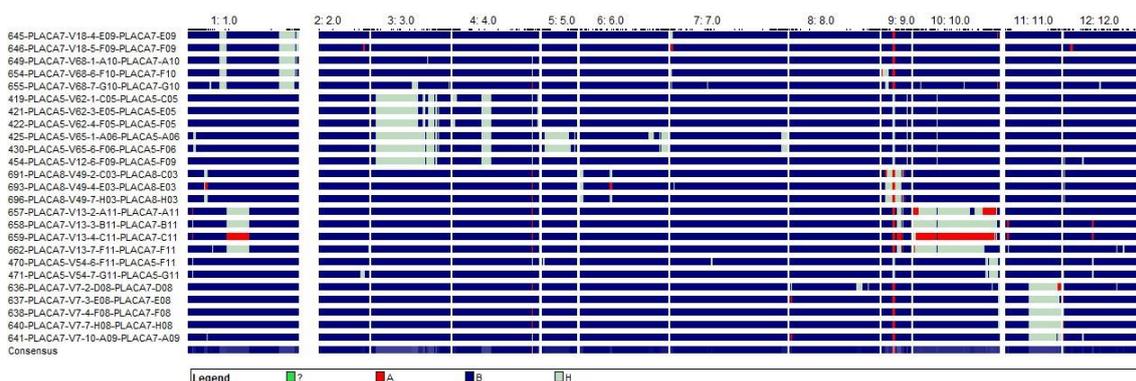


Figura 2. Genotipado de las líneas ILs de *S. melongena* MEL5 y *S. insanum*. Leyenda: A) región con marcadores del parental donante (*S. insanum*), B) región con marcadores del parental recurrente (*S. melongena*), H) región híbrida con marcadores de ambos parentales

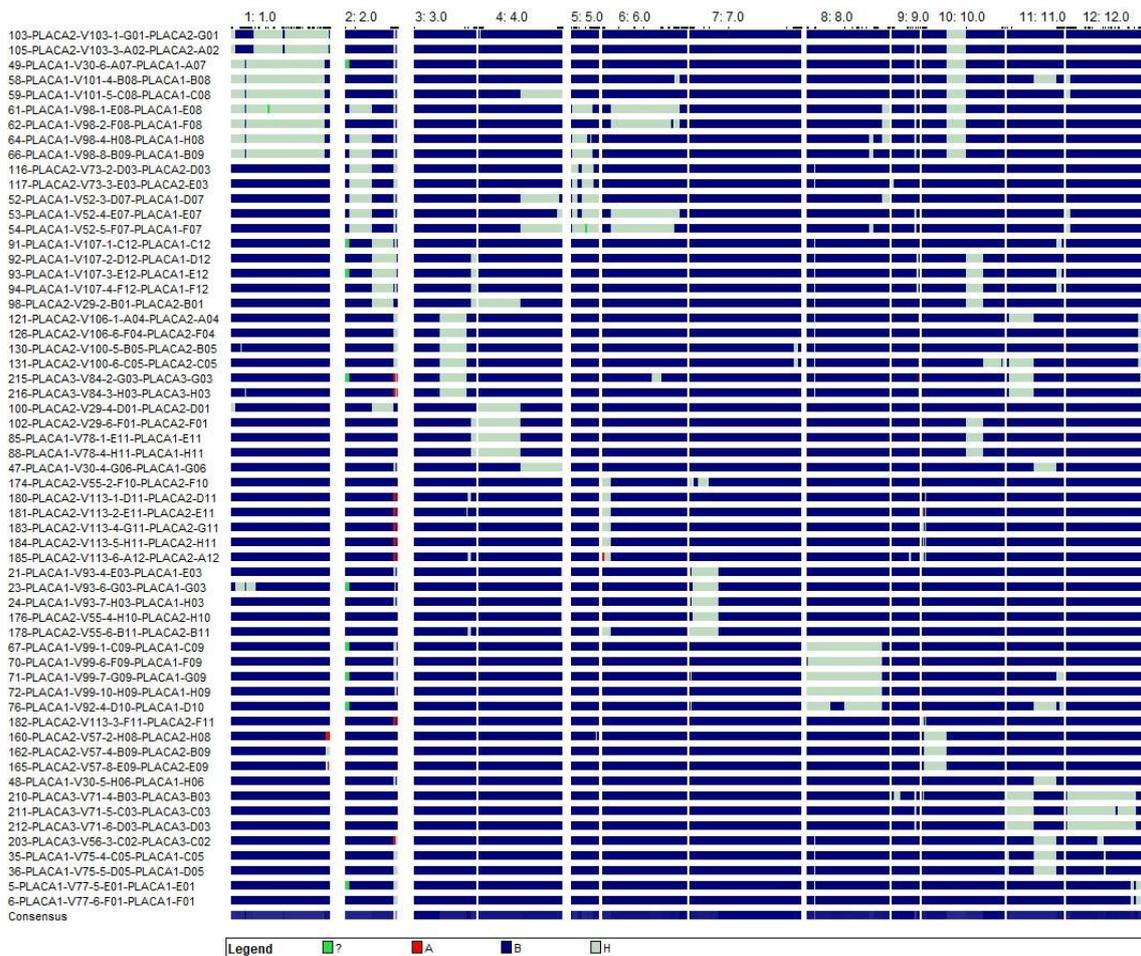


Figura 3. Genotipado de las líneas ILs de *S. melongena* MEL1 y *S. dasyphyllum*
 Leyenda: A) región con marcadores del parental donante (*S. dasyphyllum*), B) región con marcadores del parental recurrente (*S. melongena*), H) región híbrida con marcadores de ambos parentales

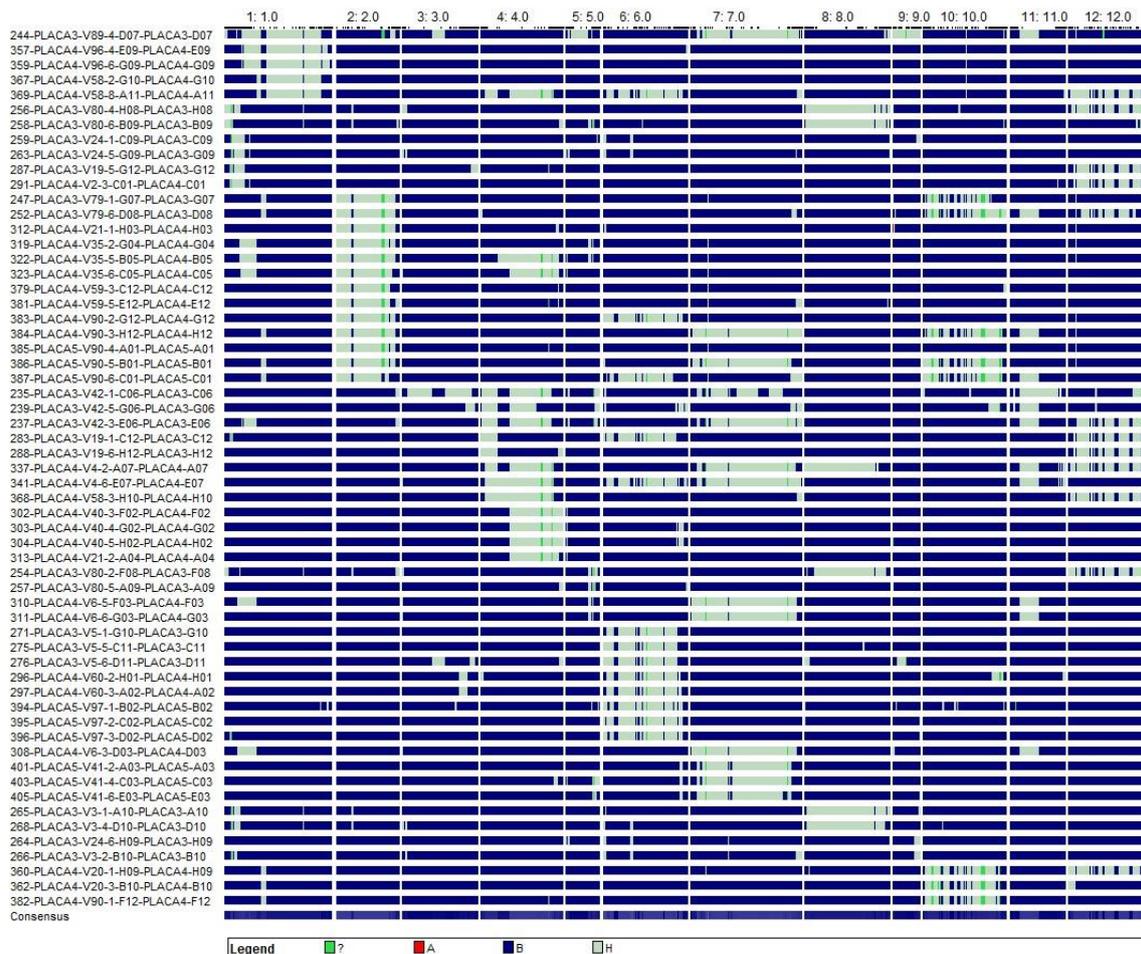


Figura 4. Genotipado de las líneas ILs de *S. melongena* MEL3 y *S. elaeagnifolium*. Leyenda: A) región con marcadores del parental donante (*S. elaeagnifolium*), B) región con marcadores del parental recurrente (*S. melongena*), H) región híbrida con marcadores de ambos parentales

3.3. Condiciones de cultivo

Las plantas fueron cultivadas en una parcela al aire libre perteneciente al COMAV, en la Universidad Politécnica de Valencia, durante la temporada de verano (julio a octubre de 2020). Los individuos se distribuyeron en una parcela donde fueron cultivadas en grupos según el parental donante del cual provenían. Dentro de estos grupos, la distribución de las líneas fue completamente al azar.

Los retrocruces avanzados fueron cultivadas en condiciones de bajo nitrógeno (N) incluyendo 21 parentales MEL (7 MEL1, 7 MEL3 y 7 MEL5), siendo el único aporte de nitrógeno posible, el que le llega de la composición química del agua de riego, llegando únicamente 1,52 gramos de nitrógeno por planta. Los parentales donantes fueron cultivados también en condiciones de nitrógeno normales aportando a cada una de ellas 88,02 g.

Para minimizar la variabilidad del suelo, y controlar mejor las condiciones ambientales, se emplearon macetas de fibra de coco con una capacidad de 17L, con un marco de plantación de 150 x 70 cm de distancia entre hileras y plantas en cada hilera, respectivamente, donde las plantas fueron entutoradas. Se utilizó un sistema de riego por goteo para fertirrigación.

Se llevó a cabo un análisis del sustrato (fibra de coco) (Tabla 2) se determinaron parámetros físicos y químicos

Características fibra de coco	Abreviación	Unidades	Media ± SE
pH	pH	-	2,49 ± 0,02
Conductancia Eléctrica	E.C.	mS cm ⁻¹	3,62 ± 0,17
Humedad	M	%	71,46 ± 0,52
Cenizas	A	% mf	5,01 ± 0,39
Contenido total nitrógeno	N	% mf	0,37 ± 0,04
Contenido en carbonatos	CaCO ₃	% mf	4,3 ± 0,68
Contenido materia orgánica	M.O.	% mf	13,55 ± 1,87
Contenido en fosforo	P	% P ₂ O ₅ mf	0,07 ± 0,03
Contenido en potasio	K	% K ₂ O mf	0,26 ± 0,03
Contenido en calcio	Ca	% CaO mf	0,02 ± 0,00
Contenido en magnesio	Mg	% MgO mf	0,24 ± 0,00
Contenido en hierro	Fe	g kg ⁻¹ mf	1,02 ± 0,08
Contenido en Zinc	Zn	mg kg ⁻¹ mf	2,51 ± 0,25
Contenido en cobre	Cu	mg kg ⁻¹ mf	1,56 ± 0,18

Tabla 2. Análisis composición fibra de coco. mS= milisiemens, mf= materia fresca

Se realizó además un análisis de la composición química del agua antes de agregar fertilizantes (Tabla 3). El agua de entrada fue levemente básica, con bajo contenido en nitratos, fosfatos, magnesio, potasio y amonio, y alto contenido en calcio y sulfato.

Componente	Agua entrada	Agua salida	
	P E	P NN	P BN
	mmol/L	mmol/L	mmol/L
NO ₃ ⁻	0,29	1,70	0,29
NO ₂ ⁻	0,00	0,46	0,02
NH ₄ ⁺	0,03	0,28	0,07
H ₂ PO ₄ ⁻	0,00	1,86	1,44
SO ₄ ²⁻	3,37	4,83	3,16
Ca ²⁺	3,79	3,84	3,87
Mg ²⁺	0,38	0,38	0,38
K ⁺	0,12	4,81	4,48
CO ₃ ²⁻	0	0	0
HCO ₃ ⁻	0,10	0,01	0,03
Na ⁺	7,80	6,82	5,96
Cl ⁻	0,04	0,04	0,04
pH	7,43	5,02	6,4
ce (mS)	1,4	3,06	2,24

Tabla 3. Análisis composición agua previamente a su tratamiento (agua de entrada) y después del tratamiento para condiciones de nitrógeno normal (P NN) así como para condiciones de bajo nitrógeno (P BN)

A partir de los análisis de composición del sustrato y agua de entrada, se preparó una solución de riego de fertilización baja en nitrógeno, que consistió en añadir 1,5 mM de H₂PO₄ (Antonio Tarazona SL., Valencia, España), 0,58 mM de Mg²⁺, 4,85 de K⁺ y 0,025 l/m³ de un fertilizante microelementos Welgro Hidropónico (Química Massó SA, Barcelona, España) que contiene boro (BO₃³⁻; 0,65% p/v), cobre (Cu-EDTA; 0,17% p/v), hierro (Fe-DTPA; 3,00% p/v), manganeso (Mn-EDTA, 1,87% p/v), molibdeno (MoO₄²⁻; 0,15% p/v) y zinc (Zn-EDTA; 1,25% p/v). El pH de la solución de irrigación se ajustó a 5,5-5,8. La única fuente de nitrógeno en el agua de riego es el proveniente del contenido de N del agua de entrada (0,32 mM). Se suministraron un total de 325 litros de solución de riego por planta en condiciones de bajo nitrógeno.

Por otra parte, a las plantas que se sometieron a condiciones normales se les aplicó los mismos nutrientes que en el caso anterior, pero además se le suministro nitrógeno en forma de nitrato amónico (NH₄NO₃) en una concentración de 7,2 mM. A cada planta se le aportó un total de 428,3 L de agua.

3.4. Caracterización fenotípica

Se evaluaron un total de 29 caracteres de plantas y frutos (Tabla 4).

En cuanto a los caracteres evaluados de planta, se midió el contenido de clorofila (P-Chl), antocianos (P-Anth), flavonoides (P-Flav) y NBI "Nitrogen Balance Index" (P-NBI), utilizando un medidor de clorofila, Dualex Scientific® (Force-A, France). Se trata de un sensor clip de hoja, capaz de determinar el contenido de flavonoides foliares utilizando el método de detección de fluorescencia Chl. Además, es capaz de realizar la medición del contenido de clorofila (Chl) a partir de la transmitancia foliar. Para ello, se evaluaron 5 hojas por cada una de las plantas, donde se tomaron dos lecturas por hoja, correspondientes con la cara abaxial y adaxial. El valor de clorofila y antocianos obtenido es la media de la lectura de ambas caras, mientras que el valor de los flavonoles es la suma de ambas caras de la hoja.

Se ha demostrado que las lecturas pueden verse influenciadas por las condiciones ambientales y de medición. Por ello, las lecturas se deben llevar a cabo en la misma hora del día, además el mismo tipo de hoja y misma región de la hoja. Por ende, se midieron en todo momento hojas jóvenes, evitando en todo momento las nervaduras foliares, y el momento del día que fue elegido para tal tarea fue a primera hora de la mañana (Cerovic et al., 2012).

Al finalizar el ensayo, se pesó la biomasa de la parte aérea de cada planta (P-Biomass) con un dinamómetro (Sauter FK, Balingen, Alemania). El diámetro del tallo (P-Diam) se midió con un pie de rey en la base del tallo. Otro carácter que fue evaluado es la presencia/ausencia de espinas en las hojas y tallo (P-StPrick).

Carácter	Abreviatura	Unidad
Planta		
Contenido clorofila hoja	P-Chl	µg/cm ²
Contenido flavonoides hoja	P-Flav	µg/cm ²
Contenido antocianos hoja	P-Anth	µg/cm ²
Índice Balance Nitrógeno en hoja	P-NBI	-
Biomasa aérea	P-Biomass	kg FW
Diámetro tallo	P-Diam	mm
Espinas en tallo y hojas	P-StPrick	0 (ausencia); 1 (presencia)
Fruto		
	F-	
Longitud pedicelo	PedLength	mm
Longitud cáliz	F-CaLength	mm
Largo fruto	F-Length	mm
Ancho fruto	F-Width	mm
Espinas en cáliz	F-CalPrick	0 (ausencia); 1 (presencia)
Producción total	Prod	g
Número total de frutos por planta	F-Number	Unidades
Peso medio fruto	F-Weight	g
Color homogéneo piel	F-Color	UNIFORME / ESTRIADO
Presencia de clorofila en piel	CHLO	Y / N
Presencia de antocianos en piel	ANT	Y / N
Composición		
Contenido de nitrógeno en hoja	N-Leaf	g kg-1 DM
Contenido de carbono en hoja	C-Leaf	g kg-1 DM
Contenido de nitrógeno en fruto	N-Fruit	g kg-1 DM
Contenido de carbono en fruto	C-Fruit	g kg-1 DM
Contenido de nitrógeno en tallo	N-Stem	g kg-1 DM
Contenido de carbono en tallo	C-Stem	g kg-1 DM
Eficiencia de absorción de nitrógeno	NUpE	-
Eficiencia de utilización de nitrógeno	NUtE	-
Eficiencia en el uso de nitrógeno	NUE	-
Contenido de fenoles totales	TPC	g kg-1 FW
Contenido de ácido clorogénico	CGA	g kg-1 FW

Tabla 4. caracteres evaluados en planta, fruto y composición. DM: materia seca; FW: peso fresco. Y / N= Si / No.

Todos los frutos de cada una de las plantas fueron recolectados en estado de madurez comercial (fisiológicamente inmaduro), dato que sirvió para realizar una determinación del rendimiento de cada una de las líneas estudiadas en este ensayo. Para ello, se contó el número total de frutos (F-number) en cada una de las recolecciones y se pesaron (Prod), datos a partir de los cuales se pudo determinar el peso medio del fruto (F-Weight) de cada una de las líneas empleadas. Al menos 3 frutos de cada una de las líneas (Figuras 5-7) fueron fenotipados, análisis

donde se evaluó la longitud del pedicelo (F-PedLength), la longitud del cáliz (F-CaLength), la longitud (F-Length) y el ancho (F-Width) del fruto, presencia/ausencia de espinas en el cáliz (F-CalPrick), fruto uniforme o fruto estriado (F-Color), presencia/ausencia de clorofila (CHLO) y presencia/ausencia de antocianos (ANT).



Figura 5. Frutos recogidos durante el proceso de fenotipado de las ILs provenientes del parental *S.insanum* y MEL5 (*S. melongena*).



Figura 6. Frutos recogidos durante el proceso de fenotipado de las ILs provenientes del parental *S. dasyphyllum* y MEL1 (*S. melongena*)



Figura 7. Frutos recogidos durante el proceso de fenotipado de las ILs provenientes del parental *S. elaeagnifolium* y MEL3 (*S. melongena*).

3.5. Composición

En cuanto a los caracteres relacionados con la composición, se dejaron secar al aire tanto las hojas como el tallo de cada una de las accesiones de forma separada, y se llevaron 5 gramos a una estufa hasta peso seco constante. Con este dato se hizo la relación para determinar el peso total hojas y tallo. Al menos tres frutos en etapa de madurez comercial por planta individual fueron cosechados, limpiados, pelados, troceados e inmediatamente congelados en nitrógeno líquido y almacenados a -80°C , para su posterior liofilización. Para los análisis de composición se utilizó tejido en polvo homogeneizado de hojas, tallo y frutos.

El contenido de nitrógeno y carbono se midió en muestras de 0,5 g de polvo liofilizado de hojas, tallo y carne de frutos (N-Leaf, C-Leaf, N-Fruit, C-Fruit, N-Stem, C-Stem). El análisis del contenido de nitrógeno se determinó por el método Dumas, basado en una combustión completa de la muestra a 950°C en presencia de oxígeno, utilizando un analizador elemental TruSpec CN (Leco, MI, EE. UU.). El contenido de carbono se midió como dióxido de carbono (CO_2) utilizando un detector de infrarrojos (Gazulla et al., 2012). Para la cuantificación se utilizaron estándares de referencia certificados de diferentes concentraciones de nitrógeno y carbono.

Con estos datos, se calculó la Eficiencia en el Uso de Nitrógeno (NUE) como el rendimiento en peso seco dividido por el aporte de N (g) por planta (Abenavoli et al., 2016; Lupini et al., 2017; Moll et al., 1982; Samonte et al., 2006; Xu et al., 2012) utilizando las siguientes fórmulas:

$$NUE = \frac{\text{Producción (materia seca)}}{N \text{ aplicado por planta}}$$

$$NUpE = \frac{\left\{ \left(\frac{N(\%)}{100} \right) \cdot \text{Producción (m. s.)} \right\} + \left\{ \left(\frac{N(\%)}{100} \right) \cdot \text{Biomasa hojas (m. s.)} \right\} + \left\{ \left(\frac{N(\%)}{100} \right) \cdot \text{Biomasa tallo (m. s.)} \right\}}{N \text{ aplicado por planta}}$$

$$NUtE = \frac{\text{Producción (m. s.)}}{\left\{ \left(\frac{N(\%)}{100} \right) \cdot \text{Producción (m. s.)} \right\} + \left\{ \left(\frac{N(\%)}{100} \right) \cdot \text{Biomasa hojas (m. s.)} \right\} + \left\{ \left(\frac{N(\%)}{100} \right) \cdot \text{Biomasa tallo (m. s.)} \right\}}$$

$$NUE = NUpE \cdot NUtE$$

3.6. Análisis de la calidad

3.6.1. Contenido de ácido clorogénico

En el presente estudio se determinó el contenido de ácido clorogénico. Para su extracción se empleó el protocolo de Helman et al. (2008), el cual parte de 0,1 g de material en polvo de fruto liofilizado. Una vez pesado los 100mg del material liofilizado, se añadió a un tubo eppendorf de 2 mL, donde hay que darle un spin de 10 segundos antes de añadirle la solución de extracción (1,5 mL). Se agitó vigorosamente con el empleo de un vórtex, y selló con parafilm para prevenir posibles aperturas y se mantuvo en el baño ultrasónico Elmasonic S30 (Elma, Singen, Alemania) a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, se centrifugó a 2000 rpm durante 3 minutos. Finalmente, se filtró el sobrenadante usando un filtro de membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0,2 μm , y se añadió a los viales de HPLC. Los viales se almacenaron a -80°C hasta su análisis. La posterior determinación del contenido de ácido clorogénico (CGA) se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando un sistema LC 1220 Infinity (Agilent 196 Technologies, CA, EE. UU.) equipado con una bomba binaria, un inyector automático y un filtro UV. detector, y siguiendo el procedimiento explicado en Plazas et al. (2014). El área total de los picos correspondientes a los diferentes ácidos fenólicos eluidos, así como el área específica del pico del ácido clorogénico, se obtuvieron a partir de los cromatogramas de cada muestra. Tomando como referencia el primer parámetro, se calculó el porcentaje del área del pico correspondiente al ácido clorogénico.

3.6.2. Contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales de la pulpa del fruto se determinó siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). Para ello se partió de 0,125 g de material liofilizado en tubos falcon de 15 mL, donde se añadieron 5mL de solución de extracción (acetona al 70% v/v y ácido acético 0,5% v./v, según el protocolo de Kaushik et al. (2017)). Se sellaron los tubos con parafilm para evitar posibles pérdidas, y se pusieron en un agitador rotatorio a 12 rpm por un periodo de 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se centrifugó las muestras a 3500 rpm durante 3 min y se recogieron 1,5 mL de sobrenadante en un nuevo tubo eppendorf. Se mantuvieron a -20°C hasta su análisis. Cuando se analizaron las muestras, se centrifugaron nuevamente las muestras a 10.000 rpm durante 5 min. Se cogió 65 mL de sobrenadante en un

nuevo tubo eppendorf, y se añadieron 500 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (1:9). Se incubó las muestras a temperatura ambiente durante 5 min. Transcurrido ese tiempo, se añadió 500 mL Ciocalteu (1:9) de Na₂CO₃ al 6%, se incubó nuevamente las muestras a temperatura ambiente y en oscuridad durante 90 min. Se mezcló las muestras usando un vórtex y se distribuyeron las muestras en una placa ELISA (200 mL/muestra). Por último, se determinó la concentración de polifenoles totales midiendo a una longitud de onda de 750 nm en un lector de placas (Microplate Reader iMark, BioRad).

3.7. Análisis de datos

Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) empleando el software Statgraphics 18® (Statpoint Technologies, Inc; Warrenton, EE.UU).

Se realizaron ANOVAS simples para determinar diferencias entre los tratamientos de BN y NN para cada uno de los caracteres y poblaciones evaluadas, así como para determinar diferencias en condiciones de bajo N entre los parentales recurrentes y las líneas ILs. La significación estadística se evaluó mediante el valor-P de la prueba F, determinando la existencia de diferencias significativas a valores $p < 0,05$ (intervalo de confianza mínimo del 95%).

Aquellas diferencias significativas se analizaron mediante Prueba de Rangos Múltiples, empleando para la discriminación de medias estadísticamente diferentes el procedimiento LSD. Se obtuvieron las medias aritméticas y las desviaciones estándar de cada tratamiento en cada genotipo para la construcción de las tablas mostradas en resultados.

El análisis de componentes principales y el gráfico de correlaciones se realizaron empleando el programa informático RStudio (RStudio Team ,2020) versión 1.4.1717. Se han empleado los paquetes “ggplot2”, “stats”, “ggrepel”, “factorextra”, “gridExtra”, “psych”, “car”, “Hmisc”, “corrplot”.

4. Resultados

4.1. Efecto de las condiciones de cultivo

Los parentales recurrentes MEL (MEL1, MEL3 y MEL5) se evaluaron tanto en condiciones de bajo (BN) como alto nitrógeno (NN). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar qué caracteres difieren significativamente según las condiciones, pudiendo así saber si las condiciones de bajo nitrógeno influyen en la respuesta de las líneas ILs.

En el caso de las líneas de *S. melongena* MEL5, se pueden encontrar diferencias significativas en todos los caracteres de planta evaluados (P-Chl, P-Flav, P-Anth, P-NBI, P-Biomass y P-Diam), así como en aquellos caracteres relacionados con el fruto Prod, F-Number, F-Weight (Tabla 5). Aquellos caracteres de fruto relacionados con la forma del fruto (F-PedLength, F-CaLength, F-Length y F-Width), no muestran diferencias estadísticamente significativas entre ambas condiciones de cultivo. Por último, todos los caracteres relacionados con la composición de carbono y nitrógeno (N-Leaf, C-Leaf, N-Fruit, C-Fruit, N-Stem, C-Stem, NUpE, NUtE y NUE) evaluados han mostrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre ambas condiciones, mientras que los caracteres de calidad nutricional (CGA y TPC) no muestran diferencias estadísticamente significativas (Tabla 5).

En el caso del parental recurrente MEL1, se han obtenido los mismos resultados que en el caso anterior (Tabla 5).

En el caso del parental MEL3 se obtienen unos resultados muy similares a los obtenidos en la comparación de MEL1 y MEL5. Las únicas diferencias se encuentran en caracteres ancho del fruto (F-Width), el cual en este caso si presenta unas medias significativamente diferentes, y el peso medio del fruto (F-Weight) que, al contrario de lo que sucede en los otros parentales MEL, no se ve influenciado por las condiciones de alto o bajo nitrógeno (Tabla 5)

Las medias P-Chl, P-NBI, P-Biomass, P-Stem, N-Leaf, C-Leaf, N-Fruit, C-Fruit, N-Stem y C-Stem resultaron ser superiores en condiciones de nitrógeno normal (NN). Ocurre lo contrario en los casos de P-Flav, P-Anth, NUpE, NUtE, y NUE, donde encontramos unas medias superiores en condiciones de bajo nitrógeno (BN).

Planta	MEL1			MEL3			MEL5					
	BN		NN	BN		NN	BN		NN	Sig		
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Sig	
Contenido clorofila hoja	29,86 ± 2,18		38,23 ± 2,39		25,43 ± 1,18		37,38 ± 3,4		37,73 ± 2,03		45,78 ± 2,8	*
Contenido flavonoides hoja	2,47 ± 0,09		1,67 ± 0,11		2,53 ± 0,06		1,66 ± 0,13		1,93 ± 0,16		1,50 ± 0,09	*
Contenido antocianos hoja	0,27 ± 0,03		0,18 ± 0,03		0,30 ± 0,03		0,19 ± 0,02		0,23 ± 0,02		0,20 ± 0,03	*
Índice Balance Nitrógeno en hoja	12,17 ± 1,04		23,12 ± 2,43		10,11 ± 0,67		23,18 ± 2,58		19,80 ± 1,77		30,96 ± 1,38	*
Biomasa aérea	0,42 ± 0,14		2,21 ± 0,54		0,30 ± 0,09		1,44 ± 0,55		0,42 ± 0,11		1,88 ± 0,49	*
Diámetro tallo	13,30 ± 1,29		22,60 ± 5,17		12,69 ± 1,29		19,16 ± 3,75		11,22 ± 0,91		20,37 ± 5,04	*
Fruto												
Longitud pedicelo	41,88 ± 10,36		38,98 ± 7,53		44,10 ± 11,3		41,57 ± 6,21		39,43 ± 9,92		35,71 ± 3,21	
Longitud cáliz	36,82 ± 8,39		35,66 ± 2,44		40,01 ± 10,78		44,97 ± 3,39		25,90 ± 5,05		25,93 ± 5,26	
Largo fruto	84,36 ± 25,47		71,80 ± 11,81		87,72 ± 26,5		100,14 ± 13,5		91,41 ± 25,72		76,26 ± 8,56	
Ancho fruto	49,89 ± 11,45		53,48 ± 6,75		40,62 ± 11,16		54,81 ± 2,42	*	35,64 ± 9,1		41,06 ± 5,97	
Número total de frutos por planta	35,71 ± 9,01		115,71 ± 19,1	*	32,86 ± 11,2		87,71 ± 36,39	*	39,71 ± 9,69		198,71 ± 46,65	*
Producción total	2584,57 ± 755,21		6914,14 ± 1866,91	*	1934,29 ± 520,58		5464,43 ± 2417,25	*	1609,71 ± 365,99		5881,86 ± 1095,32	*
Peso medio fruto	71,86 ± 6,7		59,49 ± 9,48	*	60,74 ± 10,9		61,67 ± 7,84		40,80 ± 5,02		30,33 ± 5,39	*
Composición												
Contenido de nitrógeno en hoja	2,07 ± 0,27		6,14 ± 0,52	*	2,82 ± 0,3		5,74 ± 0,43	*	2,72 ± 0,39		5,89 ± 0,4	*
Contenido de carbono en hoja	41,01 ± 1,24		45,59 ± 0,46	*	42,31 ± 1,02		46,57 ± 0,83	*	41,47 ± 1,24		45,31 ± 1,09	*
Contenido de nitrógeno en fruto	1,90 ± 0,25		3,74 ± 0,4	*	1,86 ± 0,43		3,46 ± 0,19	*	2,03 ± 0,18		3,33 ± 0,38	*
Contenido de carbono en fruto	40,23 ± 1,19		41,34 ± 0,62	*	39,66 ± 2,33		42,51 ± 1,43	*	40,30 ± 1,52		42,23 ± 0,87	*
Contenido de nitrógeno en tallo	1,02 ± 0,19		3,71 ± 0,45	*	1,02 ± 0,15		2,99 ± 0,33	*	1,03 ± 0,2		3,18 ± 0,27	*
Contenido de carbono en tallo	41,30 ± 0,57		42,41 ± 0,5	*	41,24 ± 0,86		42,40 ± 0,51	*	39,51 ± 0,74		41,64 ± 0,26	*
Eficiencia de absorción de nitrógeno	4,16 ± 1,12		0,35 ± 0,07	*	3,88 ± 1,6		0,31 ± 0,12	*	3,30 ± 1,09		0,33 ± 0,08	*
Eficiencia de utilización de nitrógeno	34,48 ± 5,24		21,53 ± 3,76	*	33,23 ± 7,79		22,92 ± 4,92	*	32,54 ± 5,98		24,23 ± 3,57	*
Eficiencia en el uso de nitrógeno	144,22 ± 45,38		7,45 ± 1,86	*	122,30 ± 33,16		7,61 ± 3,73	*	104,12 ± 31,97		7,87 ± 1,9	*
Contenido de ácido clorogénico	1,51 ± 0,47		1,74 ± 0,42		2,30 ± 0,59		1,86 ± 0,42		1,52 ± 0,6		1,15 ± 0,24	
Contenido de fenoles totales	1,82 ± 0,44		1,45 ± 0,23		2,81 ± 0,5		3,56 ± 0,9		2,10 ± 0,99		1,72 ± 0,38	

Tabla 5. Media y desviación estándar (SD) de los caracteres evaluados en condiciones de bajo nitrógeno (BN) y nitrógeno normal (NN) de *S. melongena* MEL1, MEL3 y MEL5. Caracteres con medias significativamente diferentes ($p < 0,05$) según las condiciones de cultivo están marcadas con *.

4.2. Búsqueda de caracteres diferenciales en las líneas de retrocruce

Se compararon cada una de las líneas de retrocruces avanzados con los parentales recurrentes (MEL1, MEL3 y MEL5), pudiendo así determinar si existían diferencias apreciables en alguno de los caracteres evaluados entre los parentales y la población en condiciones de BN.

En el caso la comparación de *S. melongena* MEL5 y aquellos individuos retrocruzados con el parental silvestre *S. insanum* (INS) (Tabla 6), los resultados muestran que no existen diferencias significativas entre ambos grupos para ninguno de los caracteres evaluados.

Carácter	<i>S. melongena</i> (n=7)			INS (n=25)		
	Media	Rango	CV (%)	Media	Rango	CV (%)
Planta						
Contenido clorofila hoja	37,73	35,77-41,72	5,39	36,11	30,17-42,36	7,20
Contenido flavonoides hoja	1,93	1,76-2,22	8,08	1,88	1,54-2,43	13,14
Contenido antocianos hoja	0,23	0,21-0,26	7,36	0,25	0,18-0,39	17,21
Índice Balance Nitrógeno en hoja	19,80	16,63-21,51	8,96	19,73	12,58-26,2	17,43
Biomasa aérea	0,42	0,22-0,55	27,01	0,37	0,2-0,57	24,80
Diámetro tallo	11,22	9,54-12,23	8,13	11,87	8,96-14,46	11,77
Fruto						
Longitud pedicelo	39,43	19,85-50,4	25,15	39,26	14,27-51,79	16,95
Longitud cáliz	25,90	14,58-29,14	19,50	26,92	11,66-33,51	15,91
Largo fruto	91,41	47,65-118,22	28,14	87,20	33,45-105,99	17,02
Ancho fruto	35,64	17,07-44,01	25,53	35,97	16,98-41,85	15,40
Número total de frutos por planta	39,71	27-58	24,40	42,72	22-66	23,31
Producción total	1609,71	994-2163	22,74	1609,56	840-2264	24,26
Peso medio fruto	40,80	32,93-48,07	12,30	38,21	24,42-54,23	18,16
Composición						
Contenido de nitrógeno en hoja	2,72	2,27-3,38	14,34	2,67	1,63-3,45	20,47
Contenido de carbono en hoja	41,47	40-43,3	2,98	41,38	38,8-43,5	2,64
Contenido de nitrógeno en fruto	2,03	1,74-2,26	8,80	2,05	1,59-2,4	12,37
Contenido de carbono en fruto	40,30	38,4-42,8	3,78	40,70	36,8-41,9	2,51
Contenido de nitrógeno en tallo	1,03	0,66-1,34	19,30	1,08	0,73-1,44	17,22
Contenido de carbono en tallo	39,51	38,9-41	1,87	40,00	38,7-41,5	1,69
Eficiencia de absorción de nitrógeno	3,30	1,36-4,79	32,99	3,41	1,78-5,24	22,90
Eficiencia de utilización de nitrógeno	32,54	25,59-42,63	18,38	30,27	20,73-43,05	15,78
Eficiencia en el uso de nitrógeno	104,12	57,81-142,13	30,70	103,73	52,28-167,05	29,34
Contenido de ácido clorogénico	1,52	0,89-2,71	39,64	1,48	0,84-3,04	30,41
Contenido de fenoles totales	2,10	0,93-3,88	47,10	2,14	1,27-2,89	19,45

Tabla 6. Media, rango y coeficiente de variación (CV) de *S. melongena* MEL5 y los retrocruces de *S. insanum* (INS). n= número de individuos evaluados. Las medias estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) se discriminaron mediante el método LSD.

A diferencia de lo ocurrido anteriormente, donde no encontramos diferencias entre los individuos MEL y los INS, al comparar los individuos DAS frente a los MEL1 (Tabla 7) encontramos diferencias estadísticamente significativas en el contenido de nitrógeno (N-Leaf) en hoja, eficiencia de utilización de nitrógeno (NUE), así como en el peso medio del fruto (F-Weight), un carácter muy importante que disminuye hasta los 58,70 g en las líneas DAS frente a 71,86 en las líneas MEL1. Al igual que en F-Weight, la media es significativamente superior en las líneas MEL1, a diferencia de lo ocurrido en el caso de N-Leaf, donde las líneas DAS presentan mayor contenido de nitrógeno en hoja.

Carácter	<i>S. melongena</i> (n=7)			DAS (n=59)			
	Planta	Media	Rango	CV (%)	Media	Rango	CV (%)
Contenido clorofila hoja	29,86	27,52-33,72	7,30	30,22	24,34-37,08	9,38	
Contenido flavonoides hoja	2,47	2,32-2,61	3,65	2,37	1,94-2,81	7,27	
Contenido antocianos hoja	0,27	0,22-0,3	12,11	0,25	0,18-0,33	13,89	
Índice Balance Nitrógeno en hoja	12,17	11,03-13,62	8,53	12,92	8,67-17,63	14,00	
Biomasa aérea	0,42	0,19-0,59	33,84	0,38	0,07-0,68	34,48	
Diámetro tallo	13,30	11,27-15	9,71	13,09	7,85-20,39	17,95	
Fruto							
Longitud pedicelo	41,88	21,75-54,52	24,73	39,49	19,69-58,41	18,61	
Longitud cáliz	36,82	18,75-42,98	22,80	35,43	16,1-44,03	13,79	
Largo fruto	84,36	38,56-114,5	30,19	84,70	30,33-114,26	14,92	
Ancho fruto	49,89	25,19-60,3	22,96	47,82	18,41-56,71	12,04	
Número total de frutos por planta	35,71	25-49	25,24	36,46	17-78	33,48	
Producción total	2584,57	1552-3553	29,22	2116,15	793-4328	33,98	
Peso medio fruto	71,86 b	59,69-80,75	9,32	58,70 a	34,57-82,32	18,58	
Composición							
Contenido de nitrógeno en hoja	2,07 a	1,75-2,38	12,80	2,44 b	1,42-3,32	17,44	
Contenido de carbono en hoja	41,01	39,8-42,9	3,02	41,53	39,4-43,7	2,61	
Contenido de nitrógeno en fruto	1,90	1,46-2,21	13,20	1,98	1,38-2,72	13,71	
Contenido de carbono en fruto	40,23	38,2-42	2,96	39,85	35,7-42,4	2,67	
Contenido de nitrógeno en tallo	1,02	0,72-1,33	18,84	1,03	0,7-1,93	20,58	
Contenido de carbono en tallo	41,30	40,3-41,9	1,39	41,12	38,8-49,4	3,23	
Eficiencia de absorción de nitrógeno	4,16	3,07-5,75	26,89	4,51	2,22-14,23	48,19	
Eficiencia de utilización de nitrógeno	34,48 b	28,93-42,03	15,19	27,07 a	6,97-46,44	33,06	
Eficiencia en el uso de nitrógeno	144,22	88,73-216,2	31,47	114,83	38,8-297,94	45,10	
Contenido de ácido clorogénico	1,51	1,08-2,31	31,36	1,29	0,3-2,43	33,15	
Contenido de fenoles totales	1,82	1,41-2,68	24,05	1,66	1,01-3,06	24,58	

Tabla 7. Media, rango y coeficiente de variación (CV) de *S. melongena* MEL1 y los retrocruces de *S. dasyphyllum* (DAS). n= número de individuos evaluados. Las medias estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) se discriminaron mediante el método LSD.

En cuanto a las líneas ELE (Tabla 8), los valores en contenido de clorofila y el Índice Balance Nitrógeno (NBI) en hoja presentan unos valores significativamente superiores en ELE frente a los encontrados en MEL. Ocurre justo lo contrario en el caso del contenido de antocianos y la eficiencia de utilización de nitrógeno, donde el valor en MEL es significativamente superior al encontrado en las líneas ELE.

Carácter	<i>S. melongena</i> (n=7)			ELE (n=59)		
	Planta	Media	Rango	CV (%)	Media	Rango
Contenido clorofila hoja	25,43 a	24,37-27,42	4,63	27,67 b	20,67-33,59	9,24
Contenido flavonoides hoja	2,53	2,44-2,61	2,35	2,49	2,2-2,77	5,50
Contenido antocianos hoja	0,30 b	0,28-0,35	9,56	0,27 a	0,21-0,37	9,83
Índice Balance Nitrógeno en hoja	10,11 a	9,44-11,34	6,58	11,22 b	8,35-14,32	11,93
Biomasa aérea	0,30	0,19-0,43	28,19	0,32	0,11-1,02	44,08
Diámetro tallo	12,69	10,71-14,46	10,17	13,09	9,51-18,46	16,68
Fruto						
Longitud pedicelo	44,10	23,1-55,6	25,63	40,52	20,59-66,67	26,30
Longitud cáliz	40,01	17,61-51,57	26,94	37,49	17,26-51,87	20,86
Largo fruto	87,72	43,42-115,49	30,21	84,98	36,98-132,39	26,69
Ancho fruto	40,62	20,42-54,48	27,47	39,58	17,89-54,36	18,49
Número total de frutos por planta	32,86	19-49	34,09	32,64	12-82	40,05
Producción total	1934,29	1257-2478	26,91	1564,59	145-3395	39,34
Peso medio fruto	60,74	48,02-77,65	17,94	49,28	12,08-81,48	31,88
Composición						
Contenido de nitrógeno en hoja	2,82	2,51-3,36	10,73	2,84	1,76-4,04	17,66
Contenido de carbono en hoja	42,31	40,7-43,6	2,40	42,56	38,5-47,1	4,29
Contenido de nitrógeno en fruto	1,86	1,44-2,72	22,85	1,97	1,36-3,12	16,79
Contenido de carbono en fruto	39,66	34,8-41,5	5,88	40,57	37,6-44,1	3,31
Contenido de nitrógeno en tallo	1,02	0,86-1,25	14,73	1,12	0,08-1,86	23,98
Contenido de carbono en tallo	41,24	39,8-42,3	2,08	40,29	4,25-43	12,05
Eficiencia de absorción de nitrógeno	3,88	2,6-6,9	41,16	4,40	1,93-15,09	56,68
Eficiencia de utilización de nitrógeno	33,23 b	22,77-45,2	23,45	25,02 a	2,87-56,34	38,86
Eficiencia en el uso de nitrógeno	122,30	74,91-157,06	27,11	97,90	12,91-203,36	38,30
Contenido de ácido clorogénico	2,30	1,42-3,11	25,53	2,52	1,16-4,74	30,73
Contenido de fenoles totales	2,81	2,15-3,35	17,70	3,21	1,79-6,16	32,73

Tabla 8. media, rango y coeficiente de variación (CV) de *S. melongena* MEL3 y los retrocruces de *S. elaeagnifolium* (ELE). n= número de individuos evaluados. Las medias estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) se discriminaron mediante el método LSD.

4.3. Análisis de componentes principales

Los caracteres evaluados en cada una de las líneas se emplearon para determinar cómo se distribuían los individuos en su conjunto, así como dentro de cada familia de retrocruzamiento.

El análisis de componentes principales (PCA) de todos los individuos ensayados en condiciones de bajo nitrógeno (Figura 8), muestra claramente que existen tres grupos diferentes. La primera componente (PC1), la cual explica el 20,4% de la variación, separa a los individuos de la línea de introgresión de *S. insanum* (INS) junto a los parentales *S. melongena* MEL5 de la misma, formando un grupo localizado a la izquierda del eje principal. Lo mismo ocurre con las poblaciones DAS y MEL1, así como con ELE y MEL3, las cuales forman grupos diferentes que quedan en el centro y a la derecha respectivamente. Además, la escala de color muestra el porcentaje de recuperación (PR) del fondo genético del parental recurrente de cada una de las líneas evaluadas calculado al disponer de los datos de genotipado. Los individuos de la población INS son, por norma general, aquellos que tienen un PR más cercano a 1. En el lado

contrario se encuentran los individuos de la población ELE, los cuales tienen un porcentaje de recuperación medio de 0,73, llegando a tener un mínimo de 0,57 (Figura 8).

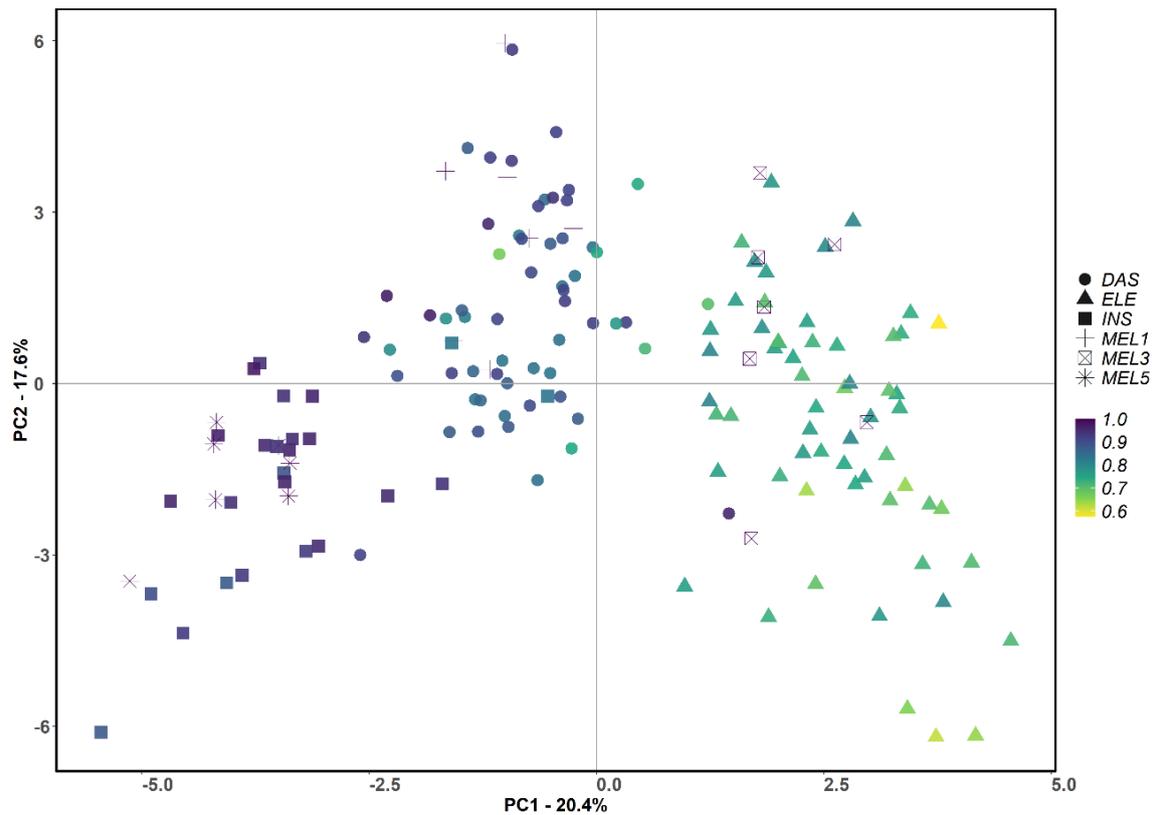


Figura 8. PCA de los caracteres evaluados en las tres poblaciones de retrocruce (INS, DAS y ELE) y los parentales recurrentes (MEL1, MEL3 y MEL5). La escala de color es el porcentaje de recuperación (PR).

En el caso de la población INS, en general presentan un elevado PR (Figura 9A). Las dos componentes principales del PCA (PC1 y PC2) son capaces de explicar el 24,7 y el 14,5% de la variación existente dentro de la población. Existe cierta dispersión dentro de los parentales MEL empleados, así como en las líneas INS. Aquellos puntos de INS con un mayor PR están ubicados en posiciones centrales, al igual que las líneas MEL5. El caso de aquellas líneas que, por el contrario, están más alejadas de los parentales y presentan un menor porcentaje de recuperación (Figura 9A). En el cuadrante superior izquierdo del PCA de las variables analizadas, se encuentran unos de los caracteres de mayor interés desde un punto de vista agronómico (Prod, NUE y NUtE). Los caracteres relacionados con el tamaño del fruto F-CaLength, F-PedLength, F-Weight, F-Length y F-Width quedan ubicados en el cuadrante inferior izquierdo. Los puntos amarillos del PCA, ubicados en los cuadrantes superior e inferior izquierdo, están explicados mayoritariamente por las variables P-Diam y P-Anth respectivamente (Figura 9B).

En cuanto a la población DAS (Figura 10), las componentes principales PC1 y PC2 son capaces de explicar el 21,7% y 15,8 % de la variación encontrada en las líneas DAS. En primer lugar, se observa una gran variación en el parental MEL1, el cual se encuentra ampliamente distribuido. La mayor parte de los retrocruces DAS están ampliamente distribuidos, de manera similar al parental. Sin embargo, hay puntos en los extremos, dato que nos informa de la existencia de variabilidad dentro de la población DAS. De especial interés son los puntos del PCA situado en el cuadrante superior izquierdo más alejados de los ejes. Estos puntos muestran las

líneas más productivas y con un NUE más elevado, caracteres de gran interés desde un punto de vista agronómico. Además, quedan comprendidos en posiciones superiores del mismo cuadrante otros relacionados con el fruto como son F-CaLength, F-PedLength, F-Weight, F-Length y F-Width (Figura 10B).

En el caso de la población ELE (Figura 11) se aprecia una mayor dispersión de los individuos, quedando los parentales MEL3 en unas posiciones centrales relativamente cercanas a los ejes de coordenadas. Aquellas líneas con un menor PR se muestran en el cuadrante inferior derecho. Las componentes PC1 y PC2 del PCA realizado explican el 22,5% y el 14,4% de la variación respectivamente (Figura 11A). Además, se observa una mayor dispersión de las variables en los ejes (Figura 11B), quedando, en esta ocasión, las variables de mayor interés agronómico (NUE, NUtE y Prod) agrupadas en el cuadrante inferior izquierdo, y no existiendo ningún individuo claramente superior a MEL3 en lo que respecta a estos caracteres. Los caracteres de fruto F-CaLength, F-PedLength, F-Length, F-Weight y F-Width quedan agrupados nuevamente en el cuadrante superior izquierdo del PCA (Figura 11B).

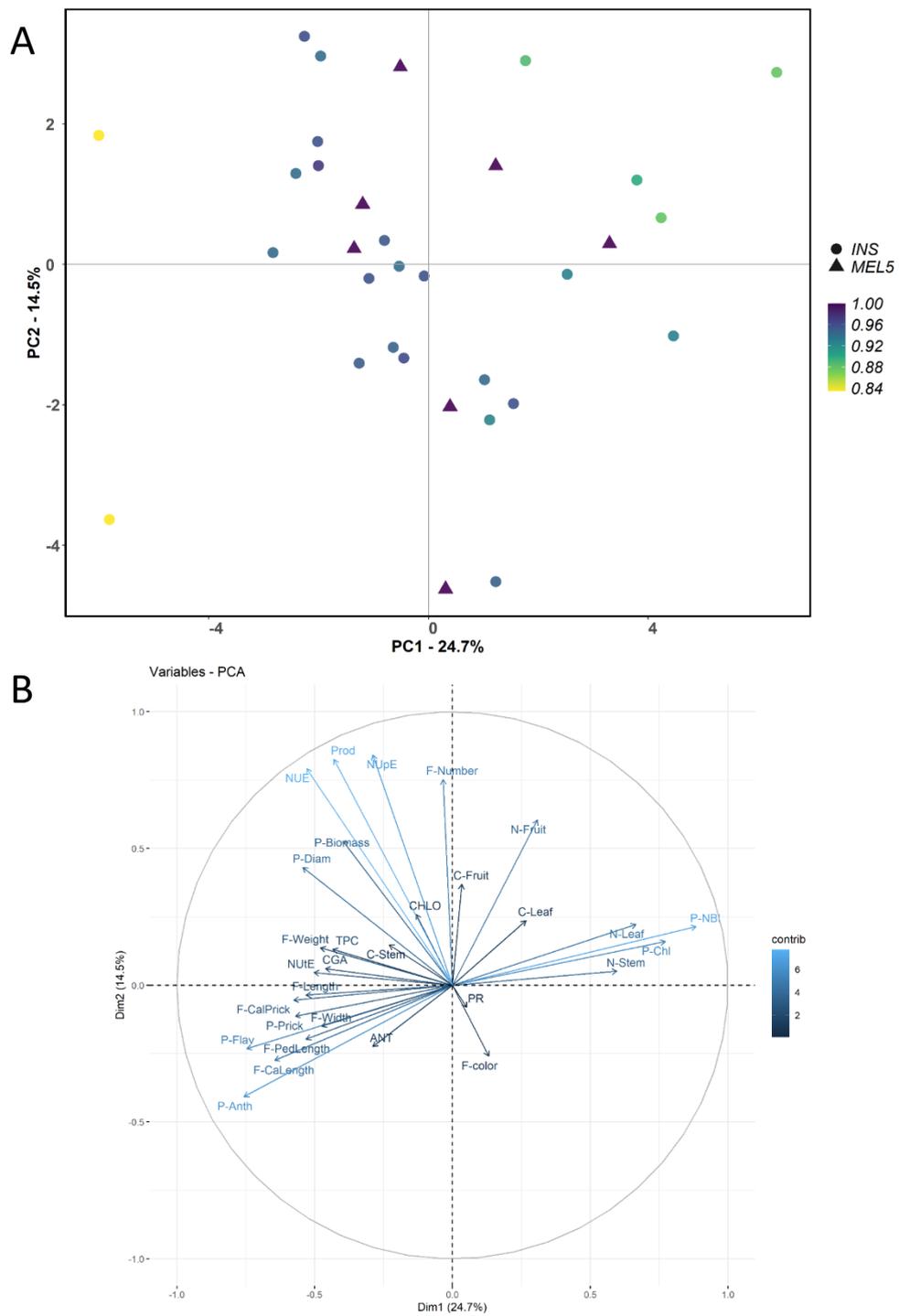


Figura 9. A) PCA de los caracteres evaluados en la población INS y su parental recurrente MEL5. La escala de color es el porcentaje de recuperación (PR). B) PCA de los caracteres evaluados con la contribución de cada una de ellas.

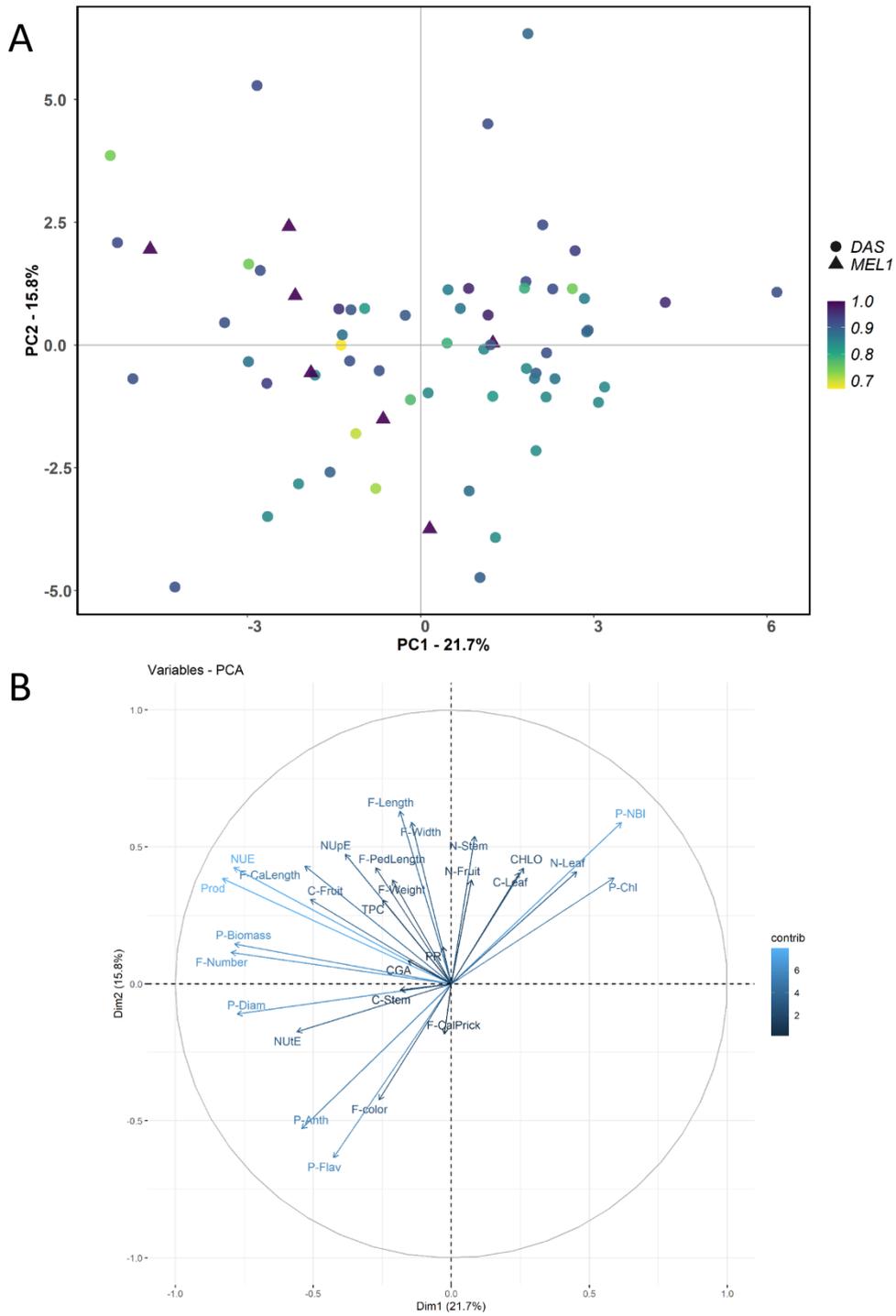


Figura 10. A) PCA de los caracteres evaluados en la población DAS y su parental recurrente MEL1. La escala de color es el porcentaje de recuperación (PR). B) PCA de los caracteres evaluados con la contribución de cada una de ellas.

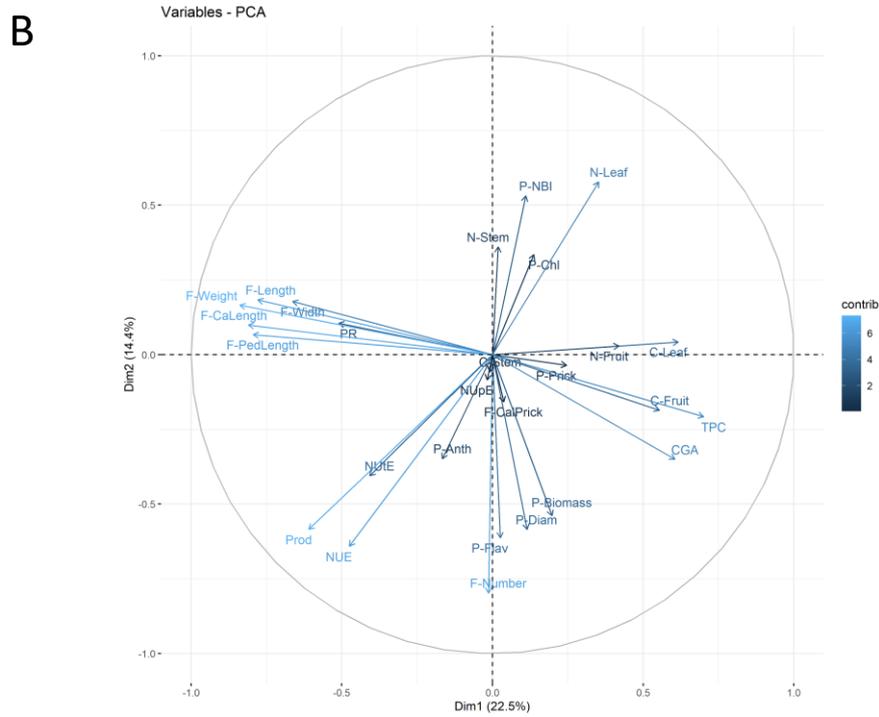
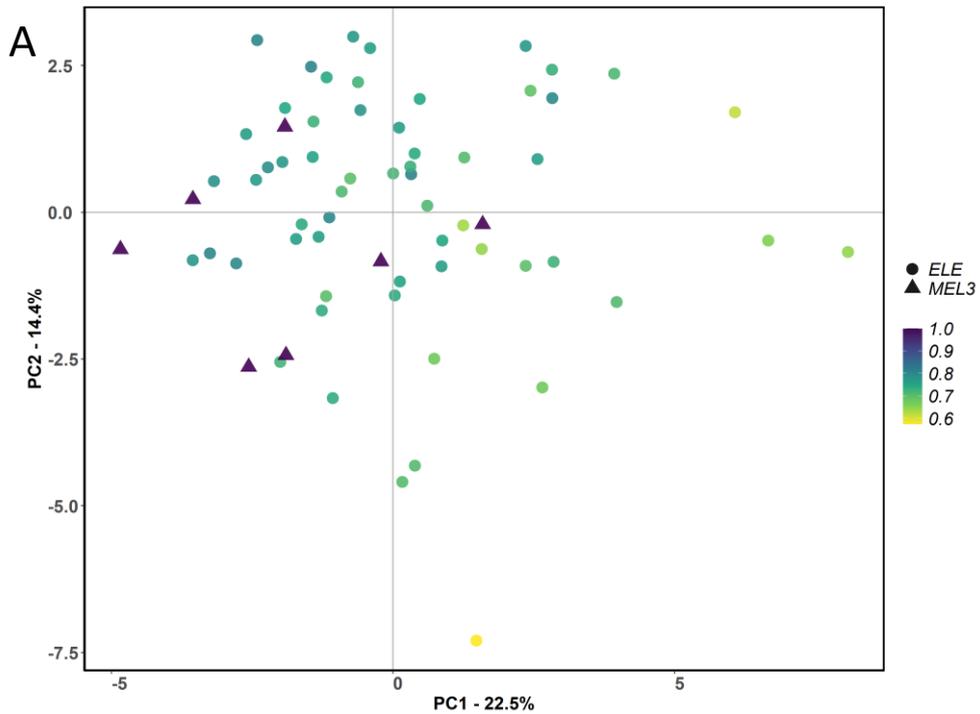


Figura 11. A) PCA de los caracteres evaluados en la población ELE y su parental recurrente MEL3. La escala de color es el porcentaje de recuperación (PR). B) PCA de los caracteres evaluados con la contribución de cada una de ellas.

4.4. Correlaciones entre caracteres evaluados

Se evaluaron las posibles correlaciones existentes entre todos los caracteres evaluados.

Los siguientes caracteres están correlacionados de forma significativa ($p < 0.05$) en las tres poblaciones estudiadas. Con lo que respecta a los caracteres de planta, P-Chl resultó estar correlacionado de forma negativa con P-Anth (-0,64 - -0,73) y de forma positiva con P-NBI (0,75-0,9). También se encontraron correlaciones negativas en los caracteres P-NBI con P-Flav (-0,67- -0,92) y P-Anth (-0,68- -0,75). Otros caracteres relacionados con el tamaño de la parte aérea de la planta que resultaron estar correlacionados positivamente son P-Biomass y P-Diam (0,61-0,74). Los caracteres relacionados con la morfología del fruto (F-PedLength, F-CaLength, F-Length y F-Width) resultaron estar intercorrelacionados de forma positiva (0,51-0,8). Los caracteres de rendimiento Prod y F-Number resultaron tener una correlación positiva (0,67-0,79), al igual que F-Number y el carácter relacionado con la composición NUE (0,61-0,79). Otro carácter de composición (N-Leaf) está correlacionado de forma negativa con P-Flav (-0,46- -0,64). Los caracteres de calidad nutricional CGA y TPC están relacionados de forma positiva (0,44-0,74). Por último, los caracteres Prod y NUE son los que presentan unos valores de correlación más elevados (0,91-0,94)

En cuanto a INS (Figura 12), además de las correlaciones previamente mencionadas, encontramos correlaciones significativas entre los caracteres relacionados con la planta P-Anth y P-Flav (0,68), así como entre P-Anth y el carácter de composición N-Leaf (-0,63). El contenido de clorofilas en hoja (P-Chl) está correlacionado negativamente con F-CaLength (-0,59); y P-NBI muestra correlación positiva con N-Leaf (0,68). El carácter de composición N-Leaf también muestra una correlación positiva con N-Stem (0,67). Por último, el carácter de rendimiento (Prod) está correlacionado de forma positiva con P-Biomass (0,61), P-Diam (0,58) y con NUpE (0,79), que a su vez muestra correlación positiva con NUE (0,86).

El número de correlaciones en el caso de DAS es aún mayor (Figura 13). Los caracteres relacionados con la planta P-Flav y P-Anth están relacionados de forma positiva (0,69). P-NBI, otro carácter de planta, está correlacionado negativamente con P-Diam (-0,43). P-Biomass lo está con los caracteres de fruto F-CaLength (0,43), F-Number (0,7), Prod (0,68), así como con NUE (0,6). P-Diam muestra correlaciones positivas significativas con los caracteres de rendimiento F-Number (0,65) y Prod (0,57), así como con los caracteres relacionados con la eficiencia del nitrógeno NUE (0,52) y NUtE (0,46). Los caracteres de rendimiento F-Number y Prod están relacionados de forma positiva con los caracteres de composición C-Fruit (0,51 y 0,54), NUpE (0,49 y 0,53) y NUtE (0,45 y 0,51). Además, Prod está correlacionado positivamente con F-CaLength (0,42). Los caracteres de composición N-Leaf y N-Stem están a su vez correlacionados entre sí (0,56). Por último, el carácter de eficiencia de nitrógeno está correlacionado de forma positiva con C-Fruit (0,58), NUpE (0,61), NUtE (0,46), así como con el carácter de calidad nutricional TPC (0,47).

Por último, en el caso de ELE (Figura 14), en los caracteres de planta encontramos correlaciones negativas entre P-Flav y el carácter de composición N-Stem (-0,43). El carácter de F-Weight muestra correlación positiva con los caracteres de fruto (F-PedLength (0,63), F-CaLength (0,64), F-Length (0,72) y F-Width (0,55)) así como con el carácter de rendimiento Prod (0,52), mientras que presenta una correlación negativa con los caracteres de calidad nutricional CGA (-0,51) y TPC (-0,59), y el carácter de composición C-Leaf (-0,51). F-PedLength muestra, además, una correlación negativa con el carácter de composición C-Fruit (-0,48). En cuanto a los caracteres relacionados con la eficiencia del uso de nitrógeno, el NUtE está correlacionado

positivamente con F-Number (0,5), Prod (0,55) y NUE (0,57), mientras que muestra una correlación negativa con N-Fruit (-0,48) y NUPE (-0,52). Por último, los caracteres de calidad nutricional CGA y TPC, están ambos correlacionados de forma negativa con F-CaLength (-0,46 y -0,48) y F-Length (-0,52 y -0,49). CGA esta además correlacionado con F-Width (-0,44) y C-Fruit (0,47), mientras que TPC lo está con F-PedLength (-0,5) y C-Leaf (0,46).

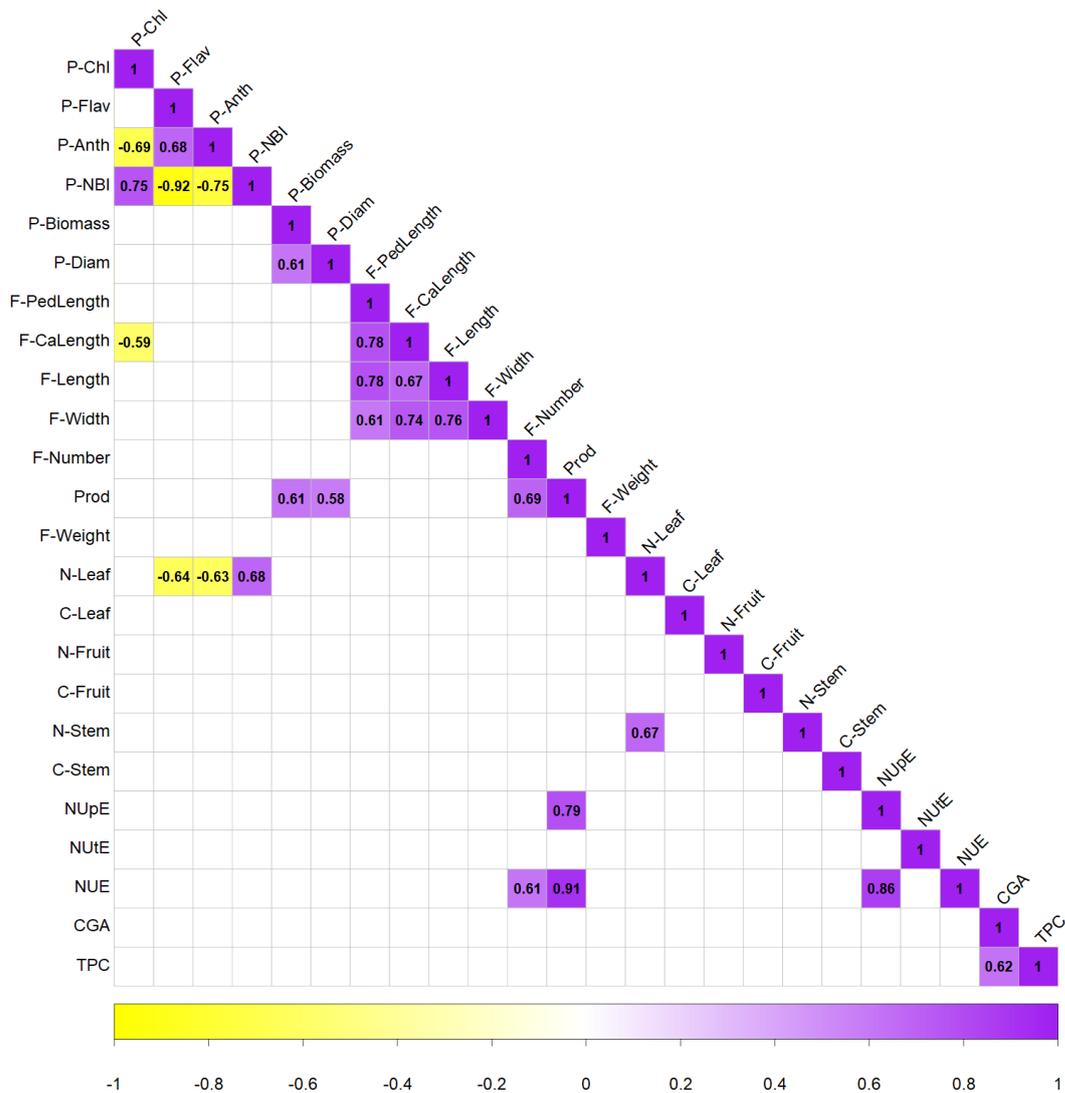


Figura 12. Correlaciones de Spearman significativas entre los caracteres cuantitativos de INS y *S. melongena* MEL5.

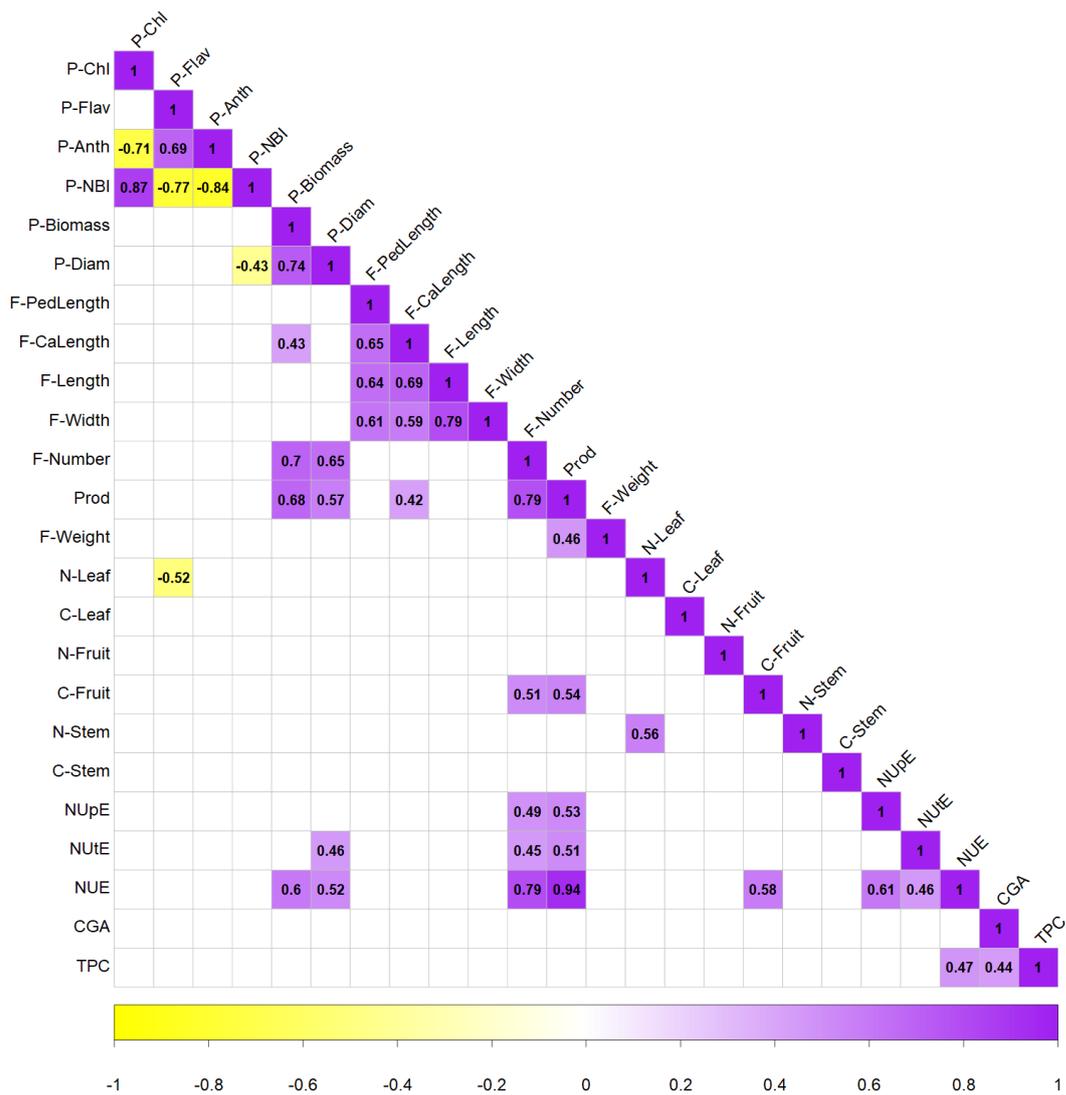


Figura 13. Correlaciones de Spearman significativas entre los caracteres cuantitativos de DAS y *S. melongena* MEL1.

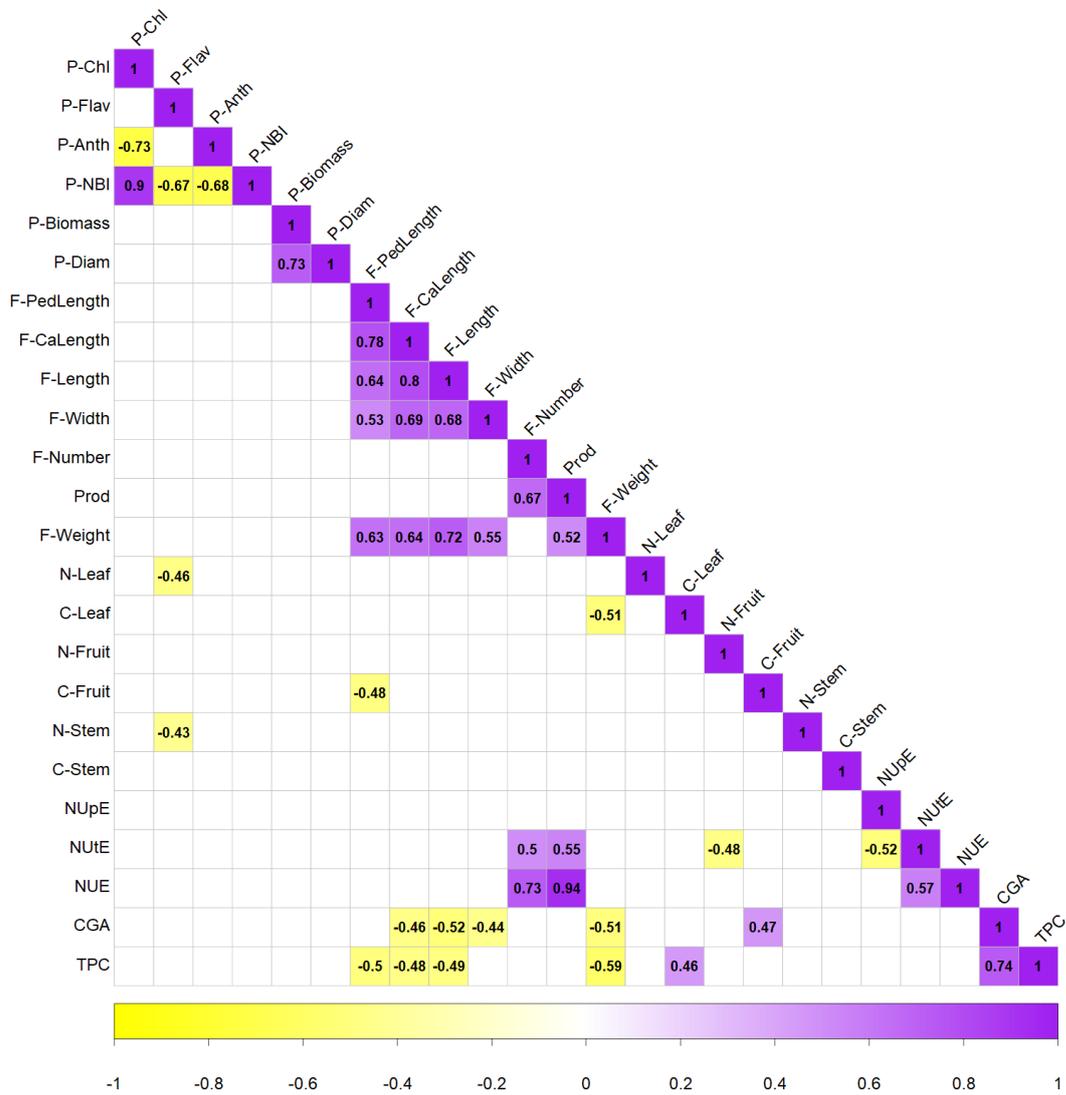


Figura 14. Correlaciones de Spearman significativas entre los caracteres cuantitativos de ELE y *S. melongena* MEL3.

5. Discusión

5.1. Efecto de las condiciones del cultivo

Los resultados obtenidos de comparar los caracteres evaluados de los parentales *S. melongena* (MEL1, MEL3 y MEL5) en condiciones de bajo y alto nitrógeno, muestran que caracteres están afectados por las condiciones de cultivo. Tal y como es de esperar, el contenido de nitrógeno presente en hoja, tallo y fruto es muy inferior al mostrado por las mismas líneas en condiciones de nitrógeno normal. Al haber menos nitrógeno disponible, la planta debe de extraer el nitrógeno disponible (NUpE) de una forma más eficiente, y translocar el máximo posible a la parte de la planta que asegura la descendencia de la misma (NUtE), el fruto. Por ende, el valor NUE es significativamente superior en el caso de las condiciones de bajo nitrógeno a los mostrados en condiciones de NN. Kamprath y colaboradores (1982) informaron de que la mejora genética de la NUE en dos poblaciones de maíz estaba asociada a un aumento de la NUpE en condiciones de bajo N.

Baligar et al., (2001) estimaron que la eficiencia global de los fertilizantes nitrogenados aplicados es de alrededor del 50%, y que las mejoras en la absorción y utilización pueden aumentar en gran medida la eficiencia de los fertilizantes. Varios estudios han demostrado que, para varios rasgos, la herencia genética era diferente en los cultivos producidos bajo insumos de alto y bajo N (Bertin & Gallais, 2000; Gallais & Hirel, 2004), indicando que diferentes elementos genéticos son responsables de responder a diferentes insumos. Gallais y Coque (2005) determinaron que bajo aportes bajos de N la variación genética en la eficiencia del uso del nitrógeno (NUE) es más importante para la mejora del rendimiento que la absorción de nitrógeno. Sin embargo, se carece de una clara comprensión de los mecanismos genéticos y de la herencia de la NUE para los sistemas de bajos insumos, ya que la mayoría de los mecanismos que gobiernan la NUE han sido estudiados en sistemas de producción de altos insumos (Dawson et al., 2008; Basra et al., 2002).

Las condiciones de cultivo también van a determinar en gran medida aquellos caracteres relacionados con el rendimiento como son la producción total, el número de frutos y el peso medio del mismo. En el caso de los caracteres Prod y F-Number, las medias son significativamente superiores en el caso de NN. Al tener más nitrógeno disponible, la planta puede producir una mayor cantidad de frutos, carácter que se relaciona directamente con la producción final. Elia y Conversa (2012), así como otros autores (Colla et al., 2000) obtuvieron unos resultados similares en tomate, al comparar el rendimiento obtenido en alto y bajo N. Sin embargo, el carácter peso del fruto (F-Weight) es significativamente superior en condiciones de bajo nitrógeno para dos de las tres líneas MEL evaluadas (MEL1 y MEL5). Se debe al hecho de que se produjeron una menor cantidad de frutos, lo que condujo a un menor reparto de los fotoasimilados disponible, haciendo que aumentara el tamaño del fruto de los parentales. La gran diferencia de aporte de nitrógeno entre ambas condiciones hace que todos los caracteres de planta resulten ser estadísticamente significativos. Cabe destacar la enorme diferencia en el peso de la biomasa aérea entre las líneas en condiciones de alto y bajo nitrógeno. Esto afirma la hipótesis de Sinclair y Hoire (1989): la relación positiva entre la disponibilidad de N con una mayor eficiencia fotosintética de las hojas. El contenido de clorofila es significativamente superior en condiciones de NN (Tabla 5). Por tanto, existe una relación positiva entre la disponibilidad de N, el desarrollo de las hojas, la intercepción de la luz y el crecimiento. Esta relación positiva también se ha confirmado en diferentes cultivos como el trigo (Green, 1987) o el girasol (Hall et al., 1995) (Elia & Converse, 2012).

5.2. Búsqueda de caracteres diferenciales en las líneas de retrocruce

Las líneas INS al tratarse de individuos que pertenecen a las generaciones de retrocruce BC₄S₁ y BC₅, hace que el fondo genético de INS este recuperado casi por completo (Figura 2), esto tiene como consecuencia que no se observen diferencias significativas para las medias de ninguno de los caracteres evaluados. El número de individuos analizados juega también un papel importante en los resultados, y puede haber condicionado el resultado final. En ocasiones se han podido observar coeficientes de variación verdaderamente altos, como en el caso de CGA, en el cual *S. melongena* (n=7) alcanza el 39,64% CV (Tabla 6). Este valor tan elevado puede ser explicado nuevamente por el bajo número de individuos analizados.

En el caso de DAS y ELE (Tablas 7 y 8), el número de individuos analizados pasa de 25 a 59, posibilitando que el análisis sea más robusto que en el caso anterior.

Otro factor a tener en cuenta es el porcentaje de recuperación del fondo genético. El parental recurrente (*S. melongena*) es una variedad comercial con buenas características agronómicas. Sin embargo, los parentales donantes de germoplasma presentan frutos de un pequeño tamaño, y no comestibles. Es de esperar que cuanto mayor sea el porcentaje de recuperación del fondo genético, mayor sea el parecido con las líneas MEL (Jones et al., 2003; Fulton et al., 1997). Las diferencias son más acusadas en el caso de ELE, obteniendo cuatro caracteres que difieren significativamente con el parental.

En general, las ILs mostraron pocas diferencias fenotípicas con el padre receptor, indicando que, incluso con grandes fragmentos introgresados, el efecto sobre el fenotipo es mínimo para los rasgos de importancia agronómica, como rendimiento o número de frutos. Se han hecho observaciones similares en el tomate, donde las grandes introgresiones no han tenido efecto en la mayoría de los rasgos morfológicos y agronómicos relevantes (Schouten et al., 2019). Sin embargo, se puede observar que el peso medio del fruto decrece en las poblaciones DAS y ELE con respecto a sus parentales, llegando a ser estadísticamente significativamente en la población DAS. Esta diferencia podría deberse al efecto fondo genético. Al haber introducir fragmentos genómicos de material filogenéticamente alejado de la berenjena cultivada, se ha disminuido el peso del mismo, uno de los caracteres fruto de años de domesticación, el cual está controlado por un elevado número de genes (Mangino et al., 2020; Portis et al., 2014). En lo que respecta al aprovechamiento de nitrógeno, la media de la eficiencia de aprovechamiento de nitrógeno (NUE) de las poblaciones DAS y ELE son significativamente inferiores que la de MEL1 y MEL3 respectivamente. NUE para el fruto se define como la capacidad de utilizar el nitrógeno absorbido para producir fruto. Fisiológicamente, esto se debe a la eficiencia fotosintética del dosel y la capacidad de producir rendimiento de fruto en función del fotosintato asimilado (Shewry, 2007). Nuevamente este resultado puede ser explicado por la presencia de fragmentos de los parentales donantes, los cuales no han sido seleccionados para un mayor NUE. Otro carácter relacionado con el NUE, y que presenta diferencias significativas entre la población DAS y su parental, es N-Leaf, el cual presenta un valor superior en el caso de los retrocruces. A una mayor concentración de nitrógeno en hoja, menor será la cantidad de este disponible para el fruto, haciendo por tanto que disminuya el NUE y, por ende, el NUE que, si bien no es significativamente diferente al NUE en MEL, es notoriamente inferior.

La clorofila es normalmente usada como un indicador del nitrógeno existente en la planta, si bien se ha visto que los polifenoles, más concretamente los flavonoides son también buenos indicadores del estatus de nitrógeno en la planta. Cuando una planta está bajo condiciones óptimas, se favorecen el metabolismo primario. Como resultado, la planta sintetiza

proteínas (clorofila) y algunos flavonoides. Pero en el caso de existir una deficiencia de nitrógeno, la planta direcciona su metabolismo hacia un incremento de la producción de flavonoides (Ben et al., 2018). En el caso de las líneas ELE, mostraron diferencias significativas en los caracteres evaluados por el medidor de hoja Dualex® contenido en clorofila (P-Chl), antocianos (P-Anth) y índice del balance de nitrógeno (P-NBI). El valor NBI, el cual es el ratio entre clorofila y flavonoides (Ben et al., 2018) resultó ser superior, debido a una mayor concentración de clorofila en hoja. En este caso, esta mayor cantidad de clorofila necesita una mayor cantidad de N, lo que lleva a las líneas ELE a tener un NUtE inferior.

Cabe mencionar el hecho de que cada una de las líneas de retrocruce evaluadas, aunque pertenecen a una de las poblaciones de retrocruce que comparten parental recurrente (MEL1, MEL3 o MEL5) son, en efecto, individuos genéticamente diferentes, por lo que se deben examinar por separado en búsqueda de cualidades que la hagan de interés. En efecto, existen individuos con unos valores de NUE y de producción muy superiores a los que presentan los individuos MEL (Tablas 6, 7 y 8).

Estas poblaciones pueden servir además para seguir acotando QTLs responsables de un mejor aprovechamiento del N por parte de la planta.

La creciente demanda de verduras con buena calidad nutricional ha hecho que comiencen programas para mejorar el contenido de compuestos fenólicos. Un efecto secundario de aumentar el contenido de ácido clorogénico en los frutos de berenjena es que puede resultar en un mayor pardeamiento de la carne del fruto. El pardeamiento enzimático de la pulpa de la berenjena es causado por la enzima polifenol oxidasa (PPO), que catalizan la conversión de ácidos fenólicos, almacenados en vacuolas, en quinonas que reaccionan con el oxígeno, ocasionando compuestos marrones. Debido a esto, se ha planteado la hipótesis de que la selección para un pardeamiento reducido ha resultado en la selección indirecta para un contenido más bajo en ácidos fenólicos en la pulpa de la berenjena de las variedades modernas (Plazas, et al., 2013).

Ninguna de las tres poblaciones de retrocruce ha resultado ser significativamente diferente de sus parentales recurrentes en lo que respecta al contenido de sustancias bioactivas analizadas. Sin embargo, encontramos dentro de las ILs de ELE individuos que presentan un contenido máximo de 6,16 g TPC /kg materia fresca, valores muy superiores al parental recurrente (2,81 g/ Kg peso fresco) o el valor medio de las berenjenas cultivadas (Mattila & Hellstrom, 2007). Los parientes silvestres son una importante fuente de variabilidad que puede ser utilizada por los fitomejoradores para desarrollar variedades vegetales con mayor contenido en ácidos fenólicos. *S. incanum*, un pariente silvestre de la berenjena cultivada con alto contenido en ácidos fenólicos está siendo utilizado en los programas de mejora de berenjena como fuente de variación para la introgresión de este rasgo en el fondo genético de la berenjena por retrocruzamiento (Prohens et al., 2013; Gramazio et al., 2014).

5.3. Análisis de componentes principales

Los resultados del PCA general (Figura 8) son muy importantes para el posterior uso de los datos de una forma correcta. Claramente encontramos 3 grupos marcados que corresponden con cada una de sus poblaciones junto con su parental recurrente, los cuales, por norma general, presentan una posición central dentro de cada grupo al que pertenecen. Resulta interesante porque de esta forma, sabemos que existe más variabilidad en los retrocruces, variabilidad en la que residen aquellas características que hacen a dichas líneas interesantes. La

población DAS queda comprendida entre la posición INS (izquierda) y la población ELE (derecha), la cual presenta una mayor distancia a DAS de la que INS presenta a la misma.

Algo muy importante a tener en cuenta es el hecho de que se han generado tres grupos claramente delimitados en el análisis PCA. Tal y como se muestra en resultados, los valores obtenidos en cada uno de los caracteres hacen que todos los individuos analizados no se comporten como una sola población. Se deben, por tanto, evaluar las poblaciones existentes de una forma aislada.

El porcentaje de recuperación mostrado en cada una de las líneas es explicado por la generación a la que pertenecen cada una de las líneas. De esta forma, las líneas INS y DAS, las cuales están compuestas por individuos BC_4S_1 y BC_5 presentan una menor dispersión de los individuos. Los genotipos están en regiones cercanas a los parentales recurrentes MEL, indicando, por tanto, que existe una menor variabilidad dentro de las poblaciones. Esta menor variabilidad puede ser explicada por una mayor recuperación del fondo genético del parental MEL (Figura 2 y 3). Cuanto menor sea el porcentaje de los fragmentos pertenecientes al parental donante presentes en el genoma de los individuos, menor será la variabilidad existente dentro de la población (Jones et al., 2003; Fulton et al., 1997; Tian et al., 2006). En el lado contrario tenemos al caso de ELE, población compuesta por individuos BC_3 y BC_4 , por lo que presentan una mayor cantidad de introgresiones pertenecientes al parental donante (Figura 4). Por ende, presenta una mayor variabilidad dentro de la población, observándose puntos más alejados de los genotipos parentales.

Los resultados obtenidos en los PCA muestran los individuos que, a priori, pueden estar más adaptados a unas prácticas culturales más respetuosas con el medio ambiente, que tengan unos rendimientos aceptables en condiciones de bajos insumos de N. Las líneas INS 7-7, INS-62-1, DAS 98-2, DAS71-6, DAS 55-2, ELE 90-2 y ELE 97-3.

5.4. Análisis de correlaciones

La mayoría de las correlaciones entre los rasgos observados en los retrocruzamientos avanzados eran las esperadas y coinciden con lo observado en otros estudios de berenjena (Frery et al., 2014; Portis et al., 2015). Así, se encontraron intercorrelaciones entre los rasgos relacionados con el vigor de la planta (P-Biomass y P-Diam) y también su correlación con Prod, NUE, F-Number por planta y F-Weight. También se observaron intercorrelaciones entre los rasgos de tamaño del fruto (F-CaLength, F-PedLength, F-Length, F-Width y F-Weight).

En cuanto a los rasgos de composición, también se esperaban correlaciones entre el contenido de polifenoles totales (TPC) y el contenido de ácido clorogénico (CGA) (Kaushik et al., 2017; Plazas et al., 2013). En otros casos, se han encontrado correlaciones relevantes para la mejora, como las correlaciones negativas entre algunos rasgos de tamaño del fruto con el contenido de polifenoles totales (TPC) y el contenido de ácido clorogénico (CGA), como es el caso de las líneas ELE, lo que indica que puede existir un efecto dilución entre los frutos grandes y los altos contenidos en fenoles en los materiales evaluados (Hanson et al., 2006; Plazas et al., 2013).

Por lo que respecta a los caracteres de planta, P-NBI resultó estar correlacionado de forma negativa con P-Anth y de forma positiva con P-NBI. Se encontraron también correlaciones negativas en los caracteres P-NBI con P-Flav y P-Anth. La clorofila es normalmente usada como un indicador del nitrógeno existente en la planta, si bien se ha visto que los polifenoles, más concretamente los flavonoides son también buenos indicadores del estatus de nitrógeno en la planta. Cuando una planta está bajo condiciones óptimas, se favorecen el metabolismo primario. Como resultado, la planta sintetiza proteínas (clorofila) y algunos flavonoides. Pero en el caso de existir una deficiencia de nitrógeno, la planta direcciona su metabolismo hacia un incremento de la producción de flavonoides (Ben et al., 2018). Los resultados concuerdan con los obtenidos en las tres poblaciones objeto de estudio.

La correlación del NUE con la producción resulta de especial interés. Se han encontrado valores de correlación de Spearman superiores a 0.91 en las 3 poblaciones estudiadas. El valor NUE se calcula como la producción total de materia seca dividido por el nitrógeno aplicado (Xu & Miller, 2012). Cuando la producción es mayor, también lo es el valor NUE. Lo mismo ocurre con las correlaciones existentes entre NUE y sus componentes NUtE y NUpE.

Los resultados obtenidos son muy útiles y tienen un potencial muy elevado en futuros ensayos similares en las mismas condiciones, donde podemos utilizar caracteres fuertemente correlacionados para simplificar en la medida de lo posible las mediciones. Los caracteres NUtE y NUpE son tediosos de calcular, pues se requiere conocer datos como el peso seco del fruto, así como las concentraciones de N en hoja, tallo y fruto. Una forma de simplificar podría ser extrapolar a partir de la producción obtenida, la cual está correlacionada con dichos caracteres en las condiciones descritas.

6. Conclusiones

- La evaluación de la influencia de dos condiciones de cultivo (nitrógeno normal y bajo nitrógeno) en los parentales MEL muestra diferencias estadísticamente significativas en la mayor parte de los caracteres evaluados, lo cual recalca la importancia de las condiciones de cultivo.
- Las tres líneas de introgresión (ILs) evaluadas, provenientes de tres parentales donantes filogenéticamente distantes (*S. insanum*, *S. dasyphyllum* y *S. elaeagnifolium*), resultaron variar significativamente unas de otras, mostrando una variabilidad superior a la de los parentales evaluados.
- A su vez, se ha observado una enorme variabilidad dentro de cada una de las familias, obteniendo líneas con valores muy interesantes para la mejora de la berenjena, particularmente para la adaptación a condiciones de bajo N así como para aumentar la calidad nutricional de la misma.
- Gran parte de los caracteres evaluados resultaron estar correlacionados de forma significativa, resultados que pueden ser aprovechados en ensayos similares, permitiendo una simplificación de los caracteres a evaluar.
- Estos materiales pueden contribuir al desarrollo de nuevas variedades de berenjena drásticamente mejoradas para una agricultura más sostenible. Mediante la selección y posteriores retrocruzamientos, se pueden obtener líneas de introgresión de berenjena con características agronómicas y composición mejoradas, facilitando su incorporación a las líneas de mejora.

7. Bibliografía

- Abay, F., Bjornstad, A. (2009) Specific adaptation of barley varieties in different locations in Ethiopia. *Euphytica*, 167, 181-195.
- Aggarwal, P., Vyas, S., Thornton, P., Campbell, B.M., Kropff, M. (2019). Importance of considering technology growth in impact assessments of climate change on agriculture. *Global Food Security*, 23, 41-48. doi: 10.1016/j.gfs.2019.04.002
- Anwar, M.J., Liu, D.L., Macadam, I., & Kelly, G. (2013). Adapting agriculture to climate change: a review. *Theoretical and Applied Climatology* 113:225-245.
- Arrones, A., Vilanova, S., Plazas, M., Mangino, G., Pascual, L., Díez, M.J., Prohens, J., & Gramazio, P. (2020). The Dawn of the Age of Multi-Parent MAGIC Populations in Plant Breeding: Novel Powerful Next-Generation Resources for Genetic Analysis and Selection of Recombinant Elite Material. *Biology*, 9, 229. doi: 10.3390/biology9080229
- Baixauli, C., & Aguilar, J. (2002). Cultivo sin suelo de hortalizas: aspectos prácticos y experiencias. Valencia (España), Generalitat Valenciana.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.*, 99, 191–203.
- Baligar, V., Fageria, N., & He, Z. (2001). Nutrient use efficiency in plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 32, 921-950.
- Barceloux, D.G. (2009) Potatoes, tomatoes, and solanine toxicity (*Solanum tuberosum* L., *Solanum lycopersicum* L.). *Disease-a-month*, 55, 391-402. doi: 10.1016/j.disamonth.2009.03.009
- Basra, A.S., & Goyal, S.S. (2002). Mechanisms of Improved Nitrogen-use Efficiency in Cereals. In *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*; Kang, M.S., Ed.; CABI Publishing: Oxfordshire.
- Bebber, D.P., Ramotowski, M.A.T., & Gurr, S.J. (2013). Crop pests and pathogens move polewards in a warming world. *Nature Climate Change* 3:985-988.
- Bellon, M.R., & van Etten, J. (2014). Climate change and on-farm conservation of crop landraces in centres of diversity, pp. 137-150. En: Jackson, M.; Ford-Lloyd, B.; Parry, M. (eds.) *Plant genetic resources and climate change*. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Ben Abdallah, F., Philippe, W., & Goffart, J. P. (2018). Comparison of optical indicators for potato crop nitrogen status assessment including novel approaches based on leaf fluorescence and flavonoid content. *Journal of Plant Nutrition*, 41(20), 2705–2728. doi:10.1080/01904167.2018.1510514
- Bertin, P., & Gallais, A. (2000). Genetic variation for nitrogen use efficiency in a set of recombinant maize inbred lines I. Agrophysiological results. *Maydica*, 45, 53-66.
- Betts, R.A., Jones, C.D., Knight, J.R., Keeling, R.F., & Kennedy, J.J. (2016). El Niño and a record CO2 rise. *Nature Climate Change* 6:806-810.
- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M.J., Oberritter, H., Schulze, M., et al. (2012) Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur. J. Nutr.*, 51, 637–663.

- Bradshaw, J.E. (2017). Plant breeding: past, present and future. *Euphytica*, 213, 60. doi: 10.1007/s10681-016-1815-y
- Bukenya, ZR., & Carasco, JF. (1994). Biosystematic study of *Solanum macrocarpon*—*S. dasyphyllum* complex in Uganda and relations with *Solanum linnaeanum*. *East African Agricultural and Forestry Journal* 1994, 59, 187-204. doi: 10.1080/00128325.1994.11663195
- Burke, M.B., Lobell, D.B., & Guarino, L. (2009). Shifts in African crop climates by 2050, and the implications for crop improvement and genetic resources conservation. *Global Environmental Change* 19:317-325.
- Carrillo, JM. (2016). Erosión genética y reemplazo de variedades tradicionales, In: *Las variedades locales en la mejora genética de plantas*. Ed: Ruiz de Galarreta JI, Prohens J, Tierno R. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria, pp. 29-41.
- Cavanagh, C., Morell, M., Mackay, I., & Powell, W. (2008). From mutations to MAGIC: resources for gene discovery, validation and delivery in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology* 11:215-221.
- Ceccarelli, S. (1996). Adaptation to low high input cultivation. *Euphytica*, 92, 203-214.
- Ceccarelli, S. (1994). Specific adaptation and breeding for marginal conditions. *Euphytica*, 77, 205-219.
- Cericola, F., Portis, E., Lanteri, S., Toppino, L., Barchi, L., Acciarri, N., Pulcini, L., Sala, T., Rotino, GL. (2014) Linkage disequilibrium and genome-wide association analysis for anthocyanin pigmentation and fruit color in eggplant. *BMC Genom* 15: 896.
- Cerovic, Z. G., Masdoumier, G., Ghazlen, N. B., & Latouche, G. (2012). A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids. *Physiologia plantarum*, 146(3), 251–260. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01639.x>
- Christodoulakis, NS., Lampri, PN., & Fasseas, C. (2009). Structural and cytochemical investigation of the leaf of silverleaf nightshade (*Solanum elaeagnifolium*), a drought-resistant alien weed of the Greek flora. *Aust. J. Bot.*, 57, 432. doi: 10.1071/BT08210
- Císcar, J.C. (2009). Climate change impacts in Europe: final report of the PESETA Research project. European Commission – Joint Research Centre, Sevilla.
- Colla, G., Battistelli, A., Moscatello, S., Proietti, S., Casa, R., Lo Cascio, B., & Leoni, C., (2001). Effects of reduced irrigation and nitrogen fertigation rate on yield, carbohydrate accumulation and quality of processing tomatoes. *Acta Hort.* 542, 187–196.
- Collins, NC., Tardieu, F., & Tuberosa, R. (2008). Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: where do we stand? *Plant physiology*, 147(2), 469-486. doi: 10.1104/pp.108.118117
- Dasgupta, A., & Klein, K. (2014). *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*, Elsevier Inc.: San Diego, CA, USA.
- Daunay, MC., & Hazra, P. (2012). Eggplant. In *Handbook of Vegetables*, K.V. Peter, P. Hazra, Eds., Studium Press: Houston, TX, USA, 2012, pp. 257–322.
- Daunay, MC., Salinier, J., & Aubriot, X. (2019). Crossability and diversity of eggplants and their wild relatives. In: *The Eggplant Genome*. In: *The eggplant genome*. Ed: Chapman MA. Springer, Cham, pp. 135-191

- Dawson, J.C., Huggins, D.R., & Jones, S.S. (2008). Characterizing nitrogen use efficiency in natural and agricultural ecosystems to improve the performance of cereal crops in low-input and organic agricultural systems. *Field Crops Res.* 107, 89-101.
- De Storme, N., & Mason, A. (2014). Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance. *Current Plant Biology* 1:10-33.
- Dempewolf, H., Eastwood, R.J., Guarino, L., Khoury, C.K., Müller, J.V., & Toll, J. (2014). Adapting agriculture to climate change: a global initiative to collect, conserve, and use crop wild relatives. *Agroecology and Sustainable Food Systems* 38:369-377.
- Diamanti, J., Battino, M., & Mezzetti, B. (2011). Breeding for fruit nutritional and nutraceutical quality. In *Breeding for Fruit Quality*, Jenks, M.A., Bebeli, J.P, Eds., John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, pp. 61–80.
- Dwivedi, S.L., Upadhyaya, H.D., Stalker, H.T., Blair, M.W., Bertoli, D.J., Nielen, S., Ortiz, R., (2008). Enhancing crop gene pools with beneficial traits using wild relatives. *Plant Breed. Rev.* 30, 179–230.
- Elia, A., & Conversa, G. (2012). Agronomic and physiological responses of a tomato crop to nitrogen input. *European Journal of Agronomy*, 40, 64-74.
- FAO. 2010. The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Commission of Genetic Resources and Agriculture. FAO, Rome, Italy.
- Faostat. 2021. FAO statistical data. <http://faostat.fao.org>.
- Fepex. 2019. Federación Española de Asociaciones de Productores Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas. <http://www.fepex.es/inicio.aspx>.
- Fess, T. L., Kotcon, J. B., & Benedito, V. A. (2011). Crop breeding for low input agriculture: a sustainable response to feed a growing world population. *Sustainability*, 3(10), 1742-1772.
- Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A., Boscaiu, M., Prohens, J., & Vicente, O. (2015). Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production. *Frontiers in Plant Science* 6:978.
- Fulton, S.L., McKinley, M.C., Young, I.S., Cardwell, C.R., & Woodside, J.V. (2014). The effect of increasing fruit and vegetable consumption on overall diet: A systematic review and meta-analysis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*
- Fulton, T. M., Beck-Bunn, T., Emmatty, D., Eshed, Y., Lopez, J., Petiard, V., et al. (1997). QTL analysis of an advanced backcross of *Lycopersicon peruvianum* to the cultivated tomato and comparisons with QTLs found in other wild species. *Theor. Appl. Genet.* 95, 881–894. doi: 10.1007/s001220050639
- Gallais, A., & Coque, M. (2005). Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize: A synthesis. *Maydica.* 50, 531-547.
- Gallais, A., & Hirel, B. (2004). An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *J. Exp. Bot.* 55, 295-306.

- García Fortea, E. (2020). Desarrollo de materiales de pre-mejora y herramientas biotecnológicas para la adaptación de la berenjena al cambio climático [Tesis doctoral]. Universitat Politècnica de València. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/160059>
- García-Fortea, E., Gramazio, P., Vilanova, S., Fita, A., Mangino, G., Villanueva, G., Arrones, A., Knapp, S., Prohens, J., Plazas, M. (2019). First successful backcrossing towards eggplant (*Solanum melongena*) of a New World species, the silverleaf nightshade (*S. elaeagnifolium*), and characterization of interspecific hybrids and backcrosses. *Scientia Horticulturae*, 246, 563-573.
- Gramazio, P., Prohens, J., Plazas, M., Mangino, G., Herraiz, F.J., & Vilanova, S. (2017). Development and characterization of advanced backcross materials and an introgression line population of *Solanum incanum* in a *S. melongena* background. *Frontiers in Plant Science* 8:1477.
- Guarda, G., Padovan, S., & Delogu, G. (2004). Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality of old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *Eur. J. Agron*, 21, 181-192.
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents-An overview. *Arch. Toxicol.* 86, 345–396.
- Gur, A., & Zamir, D. (2004). Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding. *PLOS Biology* 2:e245.
- Hajjar, R., & Hodgkin, T. (2007). The use of crop wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica* 156:1-13.
- Harlan, J.R., de Wet, J.M.J., (1971). Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20, 509.
- Herrmann, K., & Nagel, C.W. (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit. Rev. Food Sci.* 28, 315–347.
- Illesca E., & Vesperinas E. (1989). Tratado de horticultura herbácea: Hortalizas de flor y de fruto. Aedos. Barcelona. ES. 352 p.. V. I
- Jayashree, V., Muthuswamy, A., Jayamani, P., & Kumar, KK. (2020). Interspecific hybridization and crossability studies of cultivated varieties of *Vigna mungo* L. Hepper with *Vignamungo* var *silvestris*. *Electronic Journal of Plant Breeding.* 11, 271-275. doi: 10.37992/2020.1101.046
- Johnson, A.A.T., & Veilleux, R.E. (2000). Somatic hybridization and applications in plant breeding. *Plant Breeding Reviews* 20:167-225.
- Jones, T.A. (2003). The restoration gene pool concept: beyond the native versus non-native debate. *Restoration Ecology* 11:281-290.
- Kamprath, E.J., Moll, R.H., & Rodriguez, N. (1982). Effects of nitrogen fertilization and recurrent selection on performance of hybrid populations of corn. *Agron. J.* 74:955–58
- Kaur, C., & Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36, 703–725.
- Kaushik, P., Andújar, I., Vilanova, S., Plazas, M., Gramazio, P., Herraiz, F. J., ...& Prohens, J., (2015). Breeding vegetables with increased content in bioactive phenolic acids. *Molecules*, 20(10), 18464-18481.

- Kaushik, P., Gramazio, P., Vilanova, S., Raigón, M. D., Prohens, J., & Plazas, M. (2017). Phenolics content, fruit flesh colour and browning in cultivated eggplant, wild relatives and interspecific hybrids and implications for fruit quality breeding. *Food Research International*, 102, 392-401.
- Khush, G.S., & Brar, D.S. (1992). Overcoming the Barriers in Hybridization. In: *Distant Hybridization of Crop Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 47–61.
- Kidane, B., van Andel, T., van der Maesen, L.J.G., & Asfaw, Z. (2014). Use and management of traditional medicinal plants by Maale and Ari ethnic communities in southern Ethiopia. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*. 10, 46. doi: 10.1186/1746-4269-10-46
- Knapp, S., Sagona, E., Carbonell, A.K., & Chiarini, F. (2017). A revision of the *Solanum elaeagnifolium* clade (Elaeagnifolium clade, subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). *PhytoKeys*, (84), 1. doi: 10.3897/phytokeys.84.12695
- Knapp, S., Vorontsova, M.S., & Prohens, J. (2013). Wild relatives of the eggplant (*Solanum melongena* L.: Solanaceae): new understanding of species names in a complex group. *PloS one* 8, e57039. doi: 10.1371/journal.pone.0057039
- Knapp, S., Aubriot, X., Prohens, J. (2019). Eggplant (*Solanum melongena* L.): Taxonomy and Relationships. In *The Eggplant Genome*, Springer, Cham, 11-22.
- Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., Toscano, M. (2004). Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *J. Phys. Chem. A*. 108, 4916–4922.
- Lester, R.N., & Hasan, S.M.Z. (1990). The distinction between *Solanum incanum* L. and *Solanum insanum* L. (Solanaceae). *Taxon* 39:521-523.
- Lester, R.N., & Hasan, S.M.Z. (1991). Origin and domestication of the brinjal eggplant, *Solanum melongena*, from *S. incanum*, in Africa and Asia. In: Hawkes, J.G., Lester, R.N., Nee, M., Estrada, N. (eds). *Solanaceae III: taxonomy, chemistry, evolution*. The Linnean Society of London, London, UK, pp. 369-387.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants, and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010, 4, 118–126.
- Luthria, D.L. (2012). A simplified UV spectral scan method for the estimation of phenolic acids and antioxidant capacity in eggplant pulp extracts. *J. Funct. Foods*, 4, 238–242
- Han, M., Okamoto, M., Beatty, P.H., Rothstein, S.J., & Good A. G. (2015). *The Genetics of Nitrogen Use Efficiency in Crop Plants*.
- Mandal, S.M., Chakraborty, D., & Dey, S. (2010). Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signal Behav.* 5, 359–368.
- Mangino, G., Plazas, M., Vilanova, S., Prohens, J., & Gramazio, P. (2020). Performance of a set of eggplant (*Solanum melongena*) lines with introgressions from its wild relative *S. incanum* under open field and greenhouse conditions and detection of QTLs. *Agronomy*, 10(4), 467.
- Mattila, P., & Hellstrom, J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *J. Food Compos. Anal.* 2007, 20, 152–160.
- Meyer R.S., Karol K.G., Little D.P., Nee M.H., & Litt A. (2012). Phylogeographic relationships among Asian eggplants and new perspectives on eggplant domestication. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63:685–701.

- Meyer, S.R., Whitaker, D.B., Little, P.D., Wu, B.S., Kennelly, J.E., Long, L.C., & Little, A. (2015). Parallel reductions in phenolic constituents resulting from the domestication of eggplant. *Phytochemistry*, 115, 194–206
- Mishra, B.B., Gautam, S., & Sharma, A. (2013). Free phenolics and polyphenol oxidase (PPO): the factors affecting post-cut browning in eggplant (*S. melongena* L.). *Food Chemistry*, 139: 105-114.
- Moll, R.H., Kamprath, E.J., & Jackson, W.A. (1982). Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization: 1 *Agron. J.*, 74 562-564.
- Murphy, K., Lammer, D., Lyon, S., Carter, B., & Jones, S.S. (2005). Breeding for organic and low-input farming systems: An evolutionary-participatory breeding method for inbred cereal grains. *Renew. Agric. Food Syst.* 20, 48-55.
- Murphy, K.M., Campbell, K.G., Lyon, S.R., & Jones, S.S. (2007). Evidence of varietal adaptation to organic farming systems. *Field Crops Res.* 102, 172-177.
- Mwangangi, I.M., Muli, J.K., & Neondo, J.O. (2019). Plant hybridization as an alternative technique in plant breeding improvement. *Asian Journal of Research in Crop Science*, 4, 1-11. doi: doi.org/10.9734/ajrcs/2019/v4i130059
- Namisy, A., Chen, J.R., Prohens, J., Metwally, E., Elmahrouk, M., & Rakha, M. (2019). Screening Cultivated Eggplant and Wild Relatives for Resistance to Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Agriculture*, 9, 157. doi: 10.3390/agriculture9070157
- Olmstead, R. G., Bohs, L., Migid, H. A., Santiago-Valentin, E., Garcia, V. F., & Collier, S. M. (2008). A molecular phylogeny of the Solanaceae. *Taxon*, 57(4), 1159-1181.
- Olmstead, R. G., Sweere, J. A., Spangler, R. E., Bohs, L., & Palmer, J. D. (1999). Phylogeny and provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. *Solanaceae IV*, 1, 1-137.
- Page, A.M., Daunay, M.C., Aubriot, X., & Chapman, M.A. (2019). Domestication of eggplants: a phenotypic and genomic insight. In: *The Eggplant Genome*. Springer, 193-212. doi: 10.1093/molbev/msz062
- Pauls, S.U., Nowak, C., Bálint, M., & Pfenninger, M. (2013). The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. *Molecular Ecology*, 22:925-946.
- Piazzon, A., Vrhovsek, U., Masuero, D., Mattivi, F., Mandoj, F., & Nardini, M. (2012). Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: Synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 12312–12323.
- Plazas M., Andújar I., Vilanova S, Gramazio P, Herraiz JF, & Prohens J. (2014). Conventional and phenomics characterization provides insight into the diversity and relationships of hypervariable scarlet (*Solanum aethiopicum* L.) and gboma (*S. macrocarpon* L.) eggplant complexes. *Frontiers in Plant Science*, 5, 318.
- Plazas M., Andújar I., Vilanova S., Hurtado M., Gramazio P, Herraiz J.F., & Prohens J. (2013a). Breeding for chlorogenic acid content in eggplant: interest and prospects. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 41, 26-35.
- Plazas, M., López-Gresa, M.P., Vilanova, S., Torres, C., Hurtado, M., Gramazio, P., Andújar, I., Herráiz, F.J., Bellés, J.M., & Prohens, J. (2013b). Diversity and relationships in key traits for functional and

apparent quality in a collection of eggplant: fruit phenolics content, antioxidant activity, polyphenol oxidase activity, and browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8871-8879.

- Plazas, M., Vilanova, S., Gramazio, P., Rodríguez-Burruezo, A., Fita, A., Herraiz, F.J., ...& Prohens, J. (2013) Diversity and relationships in key traits for functional and apparent quality in a collection of eggplant: Fruit phenolics content, antioxidant activity, polyphenol oxidase activity, and browning *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 , pp. 8871-8879
- Portis, E., Barchi, L., Toppino, L., Lanteri, S., Acciarri, N., Felicioni, N., Fusari, F., Barbierato, V., Cericola, F., Valè, G., & Rotino, G. L. (2014). QTL mapping in eggplant reveals clusters of yield-related loci and orthology with the tomato genome. *PLoS ONE*, 9, e89499.
- Prohens, J., Valcarcel, J.V., Nuez, F., & de Cordova, P.F. (2003). Characterization and typification of Spanish eggplant landraces. *Capsicum & Eggplant Newsletter*, 22, 135-138.
- Prohens J., Blanca J., & Nuez. F. (2005). Morphological and molecular variation in a collection of eggplant from a secondary center of diversity: implications for conservation and breeding. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130, 54-63.
- Prohens, J., Gramazio, P., Plazas, M., Dempewolf, H., Kilian, B., Díez, M.J., Fita, A., Herraiz, F.J., Rodríguez-Burruezo, A., Soler, S., Knapp, S., & Vilanova, S. (2017). Introgressiomics: a new approach for using crop wild relatives for adaptation to climate change. *Euphytica*, 213:158.
- Prohens, J., Rodríguez-Burruezo, A., Raigón, M.D., & Nuez, F. (2007). Total phenolic concentration and browning susceptibility in a collection of different varietal types and hybrids of eggplant: Implications for breeding for higher nutritional quality and reduced browning. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 132, 638–646.
- Prohens, J., Whitaker, B.D., Plazas, M., Vilanova, S., Hurtado, M., Blasco, M., Gramazio, P., & Stommel, J.R. (2013). Genetic diversity in morphological characters and phenolic acids content resulting from an interspecific cross between eggplant, *Solanum melongena*, and its wild ancestor (*S. incanum*). *Annals of Applied Biology*, 162, 242-257.
- Ranil, R.H.G., Prohens, J., Aubriot, X., Niran, H.M.L., Plazas, M., Fonseca, R.M., Vilanova, S., Fonseca, H.H., Gramazio, P., & Knapp, S. (2017). *Solanum insanum* L. (subgenus *Leptostemonum* Bitter, Solanaceae), the neglected wild progenitor of eggplant (*S. melongena* L.): a review of taxonomy, characteristics and uses aimed at its enhancement for improved eggplant breeding. *Genetic resources and crop evolution*, 64, 1707-1722. doi: 10.1007/s10722-016-0467-z
- Raun W.R., & Johnson G.V. (1999). Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agron. J.*, 91, 357-363.
- Ribeiro, A. C., Katz, I., de Pádua Sousa, A., & Uribe, R. A. M. (2015). Índice SPAD en el crecimiento y desarrollo de plantas de *lisanthus* en función de diferentes dosis de nitrógeno en ambiente protegido. *Idesia*, 33, 97-105.
- Robertson, G. P., & Vitousek, P. M. (2009). Nitrogen in agriculture: balancing the cost of an essential resource. *Annual review of environment and resources*, 34, 97-125.
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

- Ruiz de Galarreta, J.L., Gramazio, P., & Prohens, J. (2018), Mejora genética frente al cambio climático. In: influencia del cambio climático en la mejora genética de plantas. Sociedad Española de ciencias Hortícolas. Ed: García-Brunton J, Pérez-Tornero O, Cos-Terrer JE, Ruiz-García L, Sánchez-López E. Murcia, España, 15-48.
- Sands, D.C., Morris, C.E., Dratz, E.A., & Pilgeram, A. (2009). Elevating optimal human nutrition to a central goal of plant breeding and production of plant-based foods. *Plant Sci.*, 177, 377–389.
- Schouten, H.J., Tikunov, Y., Verkerke, W., Finkers, R., Bovy, A., Bai, Y.; & Visser, R.G.F. (2019). Breeding has increased the diversity of cultivated tomato in The Netherlands. *Front. Plant Sci.*, 10, 1606.
- Shewry, P.R. (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain *J. Cereal Sci.*, 46, 239-250.
- Shivanna, K.R.; & Bahadur, B. (2015). Efficacy of biotechnological approaches to raise wide sexual hybrids, pp. 347-362. En: Bahadur, B.; Rajam, M.V.; Sahijram, L.; Krishnamurthy, K.V. (eds.) Plant biology and biotechnology: Volume II: Plant genomics and biotechnology. *Springer India*, New Delhi, India.
- Singh, S., Gumber, R.K., Joshi, N., & Singh, K. (2005). Introgression from wild *Cicer reticulatum* to cultivated chickpea for productivity and disease resistance. *Plant Breeding*, 124, 477-480. doi: 10.1111/j.1439-0523.2005.01146
- Sthapit, B., Rana, R., Eyzaguirre, P., & Jarvis, D. (2008). The value of plant genetic diversity to resource-poor farmers in Nepal and Vietnam. *Int. J. Agric. Sustain.*, 6, 148-166.
- Stommel, J.R., & Whitaker, B.D. (2003). Phenolic acid content and composition of eggplant fruit in a germplasm core subset. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 128, 704-710.
- Sutton, M.A., Erisman, W., Leip, A., van Grinsven, H., & Winiwarter, W. (2011). Too much of a good thing. *Nature*, 472, 159–61.
- Syfert, M.M., Castañeda-Álvarez, N.P., Khoury, C., Särkinen, T., Sosa, C.C., Achicanoy, H.A., Bernau, V., Prohens, J., Daunay, M.C., & Knapp, S. Crop wild relatives of the brinjal eggplant (*Solanum melongena*): Poorly represented in genebanks and many species at risk of extinction. *American journal of botany* 2016, 103, 635-651. doi: 10.3732/ajb.1500539
- Tian, F., De Jun, L., Fu, Q., Zuo, F. Z., Yong, C. F., Xiang, K. W., & Sun, C. Q. (2006). Construction of introgression lines carrying wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) segments in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) background and characterization of introgressed segments associated with yield-related traits. *Theor. Appl. Genet.* 112, 570–580. doi: 10.1007/s00122-005-0165-2
- Toure, A., Becker, M., Johnson, D.E., Kone, B., Kossou, D.K.; & Kiepe, P. (2009). Response of lowland rice to agronomic management under different hydrological regimes in an inland valley of Ivory Coast. *Field Crops Res.*, 114, 304-310.
- Trouche, G., Aguirre Acuna, S., Castro Briones, B., Gutierrez Palacios, N., & Lancon, J. (2011). Comparing decentralized participatory breeding with on-station conventional sorghum breeding in Nicaragua: I. *Agronomic performance*. *Field Crops Res.*, 121, 19-28.
- Tsao, R.; & Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J. Chromatogr.*, 812, 85–99.

- Upadhyay, R.; & Mohan Rao, L.J. (2013). An outlook on chlorogenic acids-occurrence, chemistry, technology, and biological activities. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 53, 968–984.
- Van de Wouw M., Kik C., van Hintum T., van Treuren R., & Visser B. (2010). Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. *Plant Genetic Resources*, 8, 1-15. doi: 10.1017/S1479262109990062
- Vorontsova M.S., & Knapp S. (2016). A revision of the "spiny solanums," *Solanum* subgenus *Leptostemonum* (Solanaceae), in Africa and Madagascar. *American Society of Plant Taxonomists*.
- Wall, J.R. (1970). Experimental introgression in the genus *Phaseolus*. I. Effect of mating systems on interspecific gene flow. *Evolution*, 24, 356-366.
- Xu, G., Fan, X., & Miller, A. J. (2012). Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual review of plant biology*, 63, 153-182.
- Yapi, A.M.; Kergna, A.O.; Debrah, S.K.; Sidibe, A., & Sanogo, O. (2000). Analysis of the Economic Impact of Sorghum and Millet Research in Mali. *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics: Andhra Pradesh, India*.
- Zamir, D. (2001). Improving plant breeding with exotic genetic libraries. *Nature Reviews Genetics*, 2, 983-989.
- Zeven, A.C. (1998). Landraces: A review of definitions and classifications. *Euphytica*, 104, 127-139.
- Zhang F., & Batley J. (2020). Exploring the application of wild species for crop improvement in a changing climate. *Current Opinion in Plant Biology*, 56, 218-222. doi: 10.1016/j.pbi.2019.12.013