



## UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

# Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

Caracterización agronómica y fisiológica de una población MAGIC interespecífica de tomate para mejora de la eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE)

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Agronómica

AUTOR/A: Giménez Damas, Sandra

Tutor/a: González Nebauer, Sergio

Cotutor/a: Molina Romero, Rosa Victoria

Director/a Experimental: Gil Villar, Daniel

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

### **TÍTULO**

Caracterización agronómica y fisiológica de una población MAGIC interespecífica de tomate para mejora de la eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE).

### RESUMEN

El uso excesivo de fertilizantes nitrogenados en los últimos años ha supuesto un problema medioambiental grave, además de un sobrecoste importante para la producción agrícola. Para el desarrollo de una agricultura más sostenible basada en la reducción de insumos es necesario reducir los aportes de nitrógeno (N) y mejorar la eficiencia del uso del nitrógeno (NUE) de los cultivos. Una estrategia clásica para abordar este objetivo es la exploración de germoplasma de especies silvestres relacionadas con la especie cultivada para seleccionar caracteres de interés perdidos durante la domesticación. El presente trabajo supone una contribución a la mejora de la NUE en tomate (Solanum lycopersicum L.) a través de la evaluación de la respuesta al aporte de nitrógeno (N) de caracteres relacionados con la producción de biomasa, en una colección de 120 líneas MAGIC desarrollada a partir de 4 parentales de S. lycopersicum var cerasiforme y 4 parentales de S. pimpinellifolium. Las plantas se cultivaron en condiciones de invernadero con aporte completo o limitante (50% del completo) de N. Para cada una de las líneas y parentales, y los dos tratamientos se tomaron medidas de los parámetros de contenido de clorofila, flavonoides y antocianinas, el índice de NBI y NDVI, eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (Fv/Fm), producción total, número medio de frutos y peso medio de los frutos. En general, los genotipos parentales mostraron una reducción en el contenido en clorofilas, de los valores de Fv/Fm, NBI y NDVI, así como de la producción de fruto en respuesta a la disminución del aporte de N. Sin embargo, para todos los parámetros estudiados se ha encontrado variabilidad entre las accesiones de la población MAGIC, destacando la presencia de genotipos transgresivos en relación a los parentales. Cabe señalar la línea 13, que presenta una producción que dobla la del parental más productivo, incluso en condiciones de limitación de aporte de N. La variabilidad observada en la colección MAGIC confirma la existencia de una amplia diversidad genética, que se podría utilizar para la búsqueda de genes de interés para la mejora de la NUE.

### PALABRAS CLAVE

Tomate; NUE; nitrógeno; MAGIC; Solanum; producción; sostenibilidad.

Autora: Giménez Damas, Sandra

Tutor: González Nebauer, Sergio

Cotutora: Molina Romero, Rosa Victoria

Director Experimental: Gil Villar, Daniel

Curso académico: 2023-2024

### TITLE

Agronomic and physiological characterization of a tomato interspecific MAGIC population for the improvement of nitrogen use efficiency (NUE).

### **ABSTRACT**

The excessive use of nitrogen fertilizers in recent years has been a serious environmental problem, as well as a significant additional cost for agricultural production. In order to develop a more sustainable agriculture based on reduced inputs, it is necessary to reduce nitrogen (N) inputs and improve the nitrogen use efficiency (NUE) of crops. A classic strategy to address this objective is the exploration of germplasm of wild species related to the cultivated species to select traits of interest lost during domestication. The present work represents a contribution to the improvement of NUE in tomato (Solanum lycopersicum L.) through the evaluation of the response to nitrogen (N) input of traits related to biomass production, in a collection of 120 MAGIC lines developed from 4 parents of S. lycopersicum var cerasiforme and 4 parents of S. pimpinellifolium. Plants were grown under greenhouse conditions with full or limiting (50% of full) N supply. For each of the lines and parents, and both treatments, measurements were taken of the following parameters: chlorophyll, flavonoids and anthocyanins content, the NBI and NDVI index, maximum quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm), total production, average number of fruits and average fruit weight. In general, the parental genotypes showed a reduction in chlorophyll content, Fv/Fm, NBI and NDVI values, as well as fruit production in response to the decrease in N supply. However, for all the parameters studied, variability has been found among the accessions of the MAGIC population, highlighting the presence of transgressive genotypes in relation to the parents. It is worth noting line 13, which presents a production that doubles that of the most productive parent, even under conditions of limited N input. The variability observed in the MAGIC collection confirms the existence of a wide genetic diversity, which could be used to search for genes of interest for the improvement of NUE.

### **KEYWORDS**

Tomato; NUE; nitrogen; MAGIC; Solanum; yield; sustainability.

## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
	1.1. Importancia económica del cultivo del tomate	1
	1.2. Origen y taxonomía del tomate	2
	1.3. Cultivo del tomate	4
	1.4. Fertilización nitrogenada. Problemas y perspectivas	7
	1.4.1. Importancia de la nutrición nitrogenada	7
	1.4.2. Problemática de la fertilización nitrogenada	8
	1.4.3. Uso eficiente del nitrógeno	9
	1.5. Poblaciones MAGIC como materiales de premejora para incrementar la NUE en tomate	10
2.	OBJETIVOS	. 12
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	. 12
	3.1. Instalaciones	12
	3.1.1. Invernadero	12
	3.1.2. Riego	13
	3.2. Material vegetal	14
	3.3. Diseño experimental y manejo	15
	3.4. Determinación de parámetros fotosintéticos	16
	3.5. Determinaciones de biomasa	17
	3.6. Análisis estadístico	17
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	. 17
	4.1. Variación en parámetros fotosintéticos en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno	18
	4.1.1. Clorofilas	18
	4.1.2. Flavonoides	20
	4.1.3. Antocianinas	22
	4.1.4. Índice NBI	24
	4.1.5. Índice NDVI	26
	4.1.6. Eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (Fv/Fm)	28
	4.2. Variación en parámetros relacionados con la producción en respuesta a la disminución o aporte de nitrógeno	
	4.2.1. Producción total	30
	4.2.2. Número medio de frutos	31
	4.2.3. Peso medio del fruto	33
	4.3. Correlaciones	35
_	CONCLUSIONES	25

6. BIBLIOGRAFÍA	35
7. ANEJOS	39
7.1. Sistema de riego	39
7.2. Resultados	41

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Evolución del tomate. Los colores representan las diferentes áreas geográficas. Las flechas indican las migraciones (Blanca et al., 2022)
Figura 2. Mapa de España de las zonas vulnerables a contaminación por nitratos en el año 2023 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y Ministerio para la Transición Ecológica [MAPAMA], 2024)
<b>Figura 3.</b> Diseños cruzados de una población MAGIC de 4 vías donde los parentales son A, B, C y D A) diseño de "embudo"; B) diseño "dialelo"; y C) obtención de individuos homocigotos mediante producción duplicada de haploides o mediante varias rondas de autofecundación siguiendo e
método de descenso de una sola semilla (Arrones et al., 2020)
Figura 5. Esquema de la distribución en planta del invernadero
Figura 8. Aspecto visual de algunos de los frutos recolectados
<b>Figura 11.</b> Contenido en flavonoides en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones de <i>S lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de <i>S. pimpinellifolium</i> (PP1 PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores sor medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least
significant difference P<0,05)
<b>Figura 13.</b> Contenido en antocianinas en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones de <i>S lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de <i>S. pimpinellifolium</i> (PP1 PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores sor medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Leasi significant difference P<0,05)
<b>Figura 14.</b> Contenido en antocianinas en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la fecha de 60 días
<b>Figura 15.</b> Valor del índice NBI en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones de <i>S lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de <i>S. pimpinellifolium</i> (PP1 PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores sor

medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least
significant difference P<0,05)
Figura 16. Valor del índice NBI en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del
recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de
3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05)
para la fecha de 60 días25
Figura 17. Valores del índice NDVI en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones de <i>S.</i>
ycopersicum var. cerasiforme (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de S. pimpinellifolium (PP1,
PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son
medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least
significant difference P<0,05)
Figura 18. NDVI en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro),
a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas
diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la
fecha de 60 días27
Figura 19. Fv/Fm de los genotipos parentales (4 accesiones de S. lycopersicum var. cerasiforme (CE1,
CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de <i>S. pimpinellifolium</i> (PP1, PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60
días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error
estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05)28
Figura 20. Fv/Fm en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro),
a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas
diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la
fecha de 60 días29
Figura 21. Producción total de los genotipos parentales (4 accesiones de S. lycopersicum var.
cerasiforme (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de S. pimpinellifolium (PP1, PP2, PP3, PP4)). Los
valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least
significant difference P<0,05)30
Figura 22. Producción total de las 120 accesiones más los 8 parentales (dentro del recuadro negro).
Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least
significant difference P<0,05)31
Figura 23. Número medio de frutos de los genotipos parentales (4 accesiones de <i>S. lycopersicum</i>
var. cerasiforme (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de S. pimpinellifolium (PP1, PP2, PP3, PP4)).
Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least
significant difference P<0,05)32
Figura 24. Número medio de frutos de las 120 accesiones más los 8 parentales (dentro del recuadro
negro). Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD
Least significant difference P<0,05)
Figura 25. Peso medio de frutos de los genotipos parentales (4 accesiones de <i>S. lycopersicum</i> var.
cerasiforme (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de <i>S. pimpinellifolium</i> (PP1, PP2, PP3, PP4)). Los
valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least
significant difference P<0,05)
Figura 26. Peso medio de frutos de las 120 accesiones más los 8 parentales (dentro del recuadro
negro). Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD
(Least significant difference P<0,05)

### **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Producción de tomate fresco y porcentaje por continentes, en el año 2022 (FAO 2024b) 1Tabla 2. Producción de tomate fresco de los diez países más productores, a nivel mundial, en el año2022 (FAO, 2024b)
Tabla 3. Exportación de tomate fresco de los diez países más exportadores, a nivel mundial, en elaño 2022. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2024a)
Tabla 4. Clasificación taxonómica actual del tomate (National Museum of Natural History,   Smithsonian Institution, 2023)
<b>Tabla 5.</b> Especies de tomate silvestre del género <i>Solanum</i> L. junto con sus características de interés(Spooner et al., 2005)
Tabla 6. Temperaturas óptimas del cultivo de tomate (Maroto, 2002).   4
Tabla 7. Concentración de las sales empleadas para la solución 100 % y 50 % N, junto con el hierro   y los micronutrientes
Tabla 8. ANOVA de tres factores para el contenido foliar en clorofila, medido en los 8 parentales
sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas
<b>Tabla 9.</b> ANOVA de tres factores para el contenido foliar en flavonoides, medido en los 8 parentales
sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas
Tabla 10. ANOVA de tres factores para el contenido foliar en antocianinas, medido en los 8
parentales sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas
<b>Tabla 11.</b> ANOVA de tres factores para el valor del índice NBI, medido en los 8 parentales sometidas
a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas
Tabla 12. ANOVA de tres factores para el valor del índice NDVI, medido en los 8 parentales
sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas
<b>Tabla 13.</b> ANOVA de tres factores para el Fv/Fm, medido en los 8 parentales sometidas a dos
tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas
<b>Tabla 14.</b> ANOVA de dos factores para la producción total, medido en los 8 parentales sometidas a
dos tratamientos (100% N y 50% N)
<b>Tabla 15.</b> ANOVA de dos factores para el número medio de frutos, medido en los 8 parentales
sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N)
<b>Tabla 16.</b> ANOVA de dos factores para el peso medio de fruto, medido en los 8 parentales sometidas
a dos tratamientos (100% N y 50% N)

# Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030.

	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza				X
ODS 2. Hambre cero		X		
ODS 3. Salud y bienestar				X
ODS 4. Educación de calidad				X
ODS 5. Igualdad de género				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento	X			
ODS 7. Energía asequible y no contaminante				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico				X
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras				X
ODS 10. Reducción de las desigualdades				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles				X
ODS 12. Producción y consumo responsables	X			
ODS 13. Acción por el clima				X
ODS 14. Vida submarina				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres				Х
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.				X

**ODS 6. Agua limpia y saneamiento:** Un exceso de fertilizantes nitrogenados implica la contaminación de aguas superficiales y subterráneas de nitratos. Desde este trabajo se estudia la posibilidad de aplicar menor cantidad de fertilizantes nitrogenados y no llegar a contaminar el agua.

**ODS 12. Producción y consumo responsables:** Una menor utilización de fertilizantes nitrogenados implica realizar una producción más responsable con el medioambiente

### 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Importancia económica del cultivo del tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza más extendida del mundo. Se cultiva en muchos países, y cada vez es más demandado en el mercado, haciendo que tenga una gran importancia económica (Nuez, 2001). Este aumento en la demanda ha provocado un aumento de su cultivo, producción y de su comercio (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación [MAPA], 2024). El tomate se puede considerar un alimento saludable porque contiene diferentes compuestos de gran valor nutricional o nutraceútico, como el licopeno, diferentes minerales y oligoelementos (Na, K, Ca, Mg, Cu, Mn y Zn), vitaminas (vitamina A, grupo B, K, C y E) y polifenoles (Navarro-González & Periago, 2016).

La producción mundial de tomate en el año 2022 estaba por encima de los 186 millones de toneladas, repartidas en 4.917.735 hectáreas (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2024b). Como se puede observar en la Tabla 1, el continente asiático es el mayor productor de tomates frescos, con un 63,9% de la producción total. En cambio, Europa se encuentra en cuarto lugar con un 11% de la producción.

Tabla 1. Producción de tomate fresco y porcentaje por continentes, en el año 2022 (FAO 2024b).

Continente	Producción (toneladas)	Porcentaje (%)
Asía	118.919.703	63,9
América	23.435.132	12,6
África	22.925.008	12,3
Europa	20.455.777	11
Oceanía	372.350	0,2

Por países, China es el primer productor mundial, con alrededor de 68 millones de toneladas, y con una diferencia considerable con India y Turquía, que son el segundo y el tercer país productor, respectivamente (Tabla 2). España se encuentra en el décimo lugar, con una producción mayor de 3 millones y medio de toneladas.

Tabla 2. Producción de tomate fresco de los diez países más productores, a nivel mundial, en el año 2022 (FAO, 2024b).

País	Producción (toneladas)
China	68.241.810
India	20.694.000
Turquía	13.000.000
Estados Unidos	10.199.753
Egipto	6.275.443
Italia	6.136.380
México	4.207.889
Brasil	3.809.986
Nigeria	3.684.566
España	3.651.940

Sin embargo, si se tiene en cuenta la cantidad de tomates exportados por cada país, el panorama es muy distinto. En primer lugar, nos encontramos a México con casi 2 millones de toneladas de tomate exportado. A continuación, se encuentra Países Bajos y Marruecos (Tabla 3). España se encuentra en cuarto lugar, con 630 mil toneladas de tomate. Unos de los mayores contrastes que podemos observar es el caso de China. Este país es el mayor productor de tomate fresco del mundo (Tabla 2), en cambio es el octavo país exportador de tomate (Tabla 3). En el caso contrario, nos encontramos con México, que es el séptimo país productor de tomate fresco (Tabla 2), pero es el mayor exportador (Tabla 3).

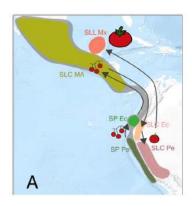
**Tabla 3.** Exportación de tomate fresco de los diez países más exportadores, a nivel mundial, en el año 2022. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2024a).

País	Cantidad exportada (toneladas)
México	1.956.214
Países Bajos	915.019
Marruecos	740.661
España	630.424
Turquía	513.606
Irán	329.848
Francia	320.230
China	249.123
Afganistán	210.486
Bélgica	207.807

En España, en el año 2021, había una producción de 4.754.380 toneladas de tomate, repartidas en 56.106 hectáreas, de las cuales 318 hectáreas eran en secano, 39.462 hectáreas en regadío al aire libre, y 16.326 hectáreas en regadío protegido. Aunque la superficie es menor en protegido, el rendimiento es superior. En regadío protegido, existe un rendimiento de 92.075 kg/ha frente a 82.324 kg/ha en el sistema de riego al aire libre. Las superficies de producción de tomate al aire libre se concentran en Navarra (2.249 hectáreas), Extremadura (23.408 hectáreas) y Andalucía (9.102 hectáreas). En cambio, las superficies de producción de tomate protegido se concentran en Murcia (2.029 hectáreas) y Andalucía (12.182 hectáreas). Es por ello, que el cultivo al aire libre y el cultivo protegido son de gran importancia económica en España (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación [MAPA], 2022).

### 1.2. Origen y taxonomía del tomate

Desde el punto de vista paleobotánico, el origen del tomate se encuentra en la región andina, donde el antecesor del tomate crece de forma silvestre, con frutos de pequeño tamaño (Cabieses & Lozano, 2009). La evolución y domesticación del tomate, hasta nuestros días, ha sido un proceso complejo, implicando varias especies y diferentes lugares. Recientemente, Blanca et al. (2022) han propuesto que la evolución del tomate empieza en Perú con la especie *Solanum pimpinellifolium* L. (SP Pe), que migra a Ecuador (SP Ec). A continuación, gracias a una lenta migración a Mesoamérica, los *S. pimpinellifolium* L. (de Perú y Ecuador) evolucionarían a *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Dunal) Spooner, GJ Anderson y RK Jasen (SLC MA). El siguiente paso, es que esta nueva especie vuelve a su zona de origen, a Ecuador (SLC Ec) y a Perú (SLC Pe). En Perú, se realiza la domesticación de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (SLC Pe), que por último migra al norte de México. Una vez allí evolucionaron hasta convertirse en *S. lycopersicum* var. *lycopersicum* L. (SLL Mx) (Figura 1) (Blanca et al., 2022).



**Figura 1.** Evolución del tomate. Los colores representan las diferentes áreas geográficas. Las flechas indican las migraciones (Blanca et al., 2022).

En los orígenes del tomate, esta especie era alógama, las flores presentaban un estilo largo que sobrepasaba el cono seminal. Con esta estructura lo que se favorecía era la fecundación cruzada. A lo largo de la evolución, esta estructura ha cambiado. Ahora las flores tienen un estilo corto, quedando dentro del cono seminal, favoreciendo la autopolinización (Gualazzi, 1997).

A lo largo del tiempo, el tomate ha recibido diferentes nombres. Lo que conocemos como tomate, en su zona de origen, se denominaba jitomate. La palabra tomate se utilizaba para el fruto del género *Physalis* (tomate verde). Los términos de tomate (tomatl) y jitomate (xitomatl) vienen del idioma náhuatl. Este cambio de nombre proviene del siglo XVI, siendo responsables los cronistas españoles, porque tradujeron las dos palabras como una, tomate (Long, 1995). En la Tabla 4 se muestra la clasificación taxonómica del tomate.

Tabla 4. Clasificación taxonómica actual del tomate (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, 2023).

Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	Solanum L.
Especie	Solanum lycopersicum L.

Las variedades de tomate que se utilizan en la actualidad tienen una base genética muy estrecha. Esta condición hace que exista escasa variabilidad para la tolerancia a estreses biótico y abióticos. Para conseguir ampliar esa base genética, se recurre a parientes silvestres en los programas de mejora. Los parientes silvestres son una fuente de variación genética, porque poseen diferentes alelos que pueden aportar características nuevas que no tienen las variedades cultivadas. Estas características pueden ir desde aumentar la calidad y rendimiento, hasta conferir resistencia a estreses bióticos y abióticos (Flores Hernández, 2015). En la Tabla 5, se destacan las características de interés de las ocho especies de tomate silvestre del género *Solanum* L. que se pueden utilizar para mejora genética.

Tabla 5. Especies de tomate silvestre del género Solanum L. junto con sus características de interés (Spooner et al., 2005)

Especie	Características de interés	
S. cheesmaniae (L. Riley) Fosberg	Tolerancia a la salinidad, resistencia a lepidópteros y virus, además de tener genes implicados en la retención de frutos y pericarpio grueso.	
S. chilense (Dunal) Reiche	Resistencia a la sequía.	
S. chmielewskii (C. M. Rick, Kesicki, Fobes & Holle) D. M. Spooner, G. J. Anderson & R. K. Jansen	Contribuye en un mayor contenido de azúcar.	
S. habrochaites S. Knapp & D. M. Spooner	Resistencia al frio y a las heladas. Resistencia a insectos porque tiene pelos glandulares y otras resistencias.	
S. lycopersicum L.	Tolerancia a la humedad. Resistencia al marchitamiento, a la pudrición de raíces y a hongos que manchan las hojas.	
S. pennellii Correll	Resistencia a la sequía. Resistencia a los insectos gracias a la densa pubescencia de los pelos glandulares.	
S. peruvianum L. s.l	Resistencia a virus, bacterias, hongos, pulgones y nematodos.	
S. pimpinellifolium L.	Contribuye en mejorar el color y la calidad de los frutos. Resistencia a insectos, nematodos y enfermedades.	

### 1.3. Cultivo del tomate

El cultivo de tomate es característico de climas cálidos. En nuestra latitud, efectúa su ciclo entre primavera/verano (Maroto, 2002). En la Tabla 6, se pueden observar las temperaturas óptimas del cultivo. La diferencia térmica entre el día y la noche deben ser de 6-7ºC para que el cultivo tenga un desarrollo adecuado (Nuez, 2001).

Tabla 6. Temperaturas óptimas del cultivo de tomate (Maroto, 2002).

	Temperatura diurna (ºC)	Temperatura nocturna (ºC)
Germinación	18-20	-
Crecimiento	18-20	15
Floración	22-25	13-17
Fructificación	25	18

Las temperaturas elevadas o bajas pueden ocasionar diferentes dificultades en esta especie. Si las temperaturas elevadas se presentan durante la fase de fructificación, desencadenan la caída de flores y limita el cuajado. Por otro lado, las temperaturas bajas pueden ocasionar problemas en la fecundación (Nuez, 2001). Cuando el cultivo sufre pequeñas heladas, la planta puede rebrotar después de una poda (Maroto, 2002).

La humedad relativa óptima debe encontrarse entre el 70-80%. Valores superiores pueden favorecer el desarrollo de enfermedades fúngicas, reducir el cuajado de los frutos y la viabilidad del polen. También pueden llegar a limitar la evapotranspiración, reduciendo la absorción de agua y nutrientes, generando un déficit de los elementos minerales, como por ejemplo el del calcio. En cambio, con valores de humedad relativa baja, la tasa de transpiración aumenta, pudiendo producir un estrés hídrico, provocando un cierre estomático y la reducción de la fotosíntesis (Nuez, 2001).

El tomate es un cultivo insensible al fotoperiodo, aunque requiere de una buena iluminación. La radiación total diaria debe ser como mínimo de 0,85 MJ/m³. La iluminación se puede convertir en un factor limitante dentro de los invernaderos en la época de invierno. Cuando nos encontramos en situaciones de baja iluminación, se puede ver afectado el desarrollo del tallo. El tallo producirá una elongación excesiva, ocasionando tallos delgados y débiles (Nuez, 2001). Por otro lado, también puede afectar negativamente al porcentaje de polen germinado, disminuyendo el crecimiento del tubo polínico (Maroto, 2002).

En cuanto al suelo, este cultivo no es muy exigente. Aunque crece mejor en suelos sueltos, profundos y bien drenados. Tiene cierta resistencia a variaciones de pH (Maroto, 2002), pese a que prefiere niveles de pH entre 5 y 7. El cultivo de tomate también se puede cultivar sin suelo. Con sustratos como arena, perlita, lana de roca, arlita, etc. Un buen sustrato para el cultivo de tomate debe tener las siguientes propiedades físicas y químicas (Nuez, 2001):

- Propiedades físicas: Elevada capacidad de retención de agua fácilmente disponible, suficiente cantidad de aire, baja densidad aparente, elevaba densidad y una estructura estable que impida la contracción o hinchazón del medio.
- Propiedades químicas: Baja o moderada capacidad de intercambio catiónico, suficiente nivel de nutrientes asimilables, baja salinidad, elevada capacidad tampón y aptitud para mantener constante el pH y mínima velocidad de descomposición (Nuez, 2001).

Dentro de esta especie, existe un gran número de variedades. Existen variedades de diferentes formas, tamaños, colores, sabores, texturas y durezas. Una forma de clasificar a los tomates es según su uso, este puede ser para consumo en fresco o para procesado industrial. Dentro del procesado industrial existen diferentes usos como: tomate natural pelado, jugo de tomate, puré, pastas y concentrado, salsa de tomate, tomate confitado, tomate en polvo y encurtido. Los tomates para consumo en fresco se pueden dividir en diferentes tipos varietales. Los tipos de tomate que encontramos son: Beefsteak, Bush beefsteak americano, Marmande, Vemone, Francés, Moneymaker y canario, Cocktail (redondos o aperados), Cereza ("Cherry"), de Larga vida comercial ("Long Shelf Life") y tipo Pimiento (Nuez, 2001).

Para facilitar la elección de la variedad que se quiere utilizar nos podemos fijar en las características agronómicas. Las características agronómicas que se pueden elegir son el tipo de crecimiento (determinado o indeterminado), el peso y el tipo de fruto. Por otro lado, existen diferentes resistencias a enfermedades, como, por ejemplo, la marchitez por *Verticillium* sp. *Fusarium* raza 1 y 2, virus del mosaico del tabaco, el virus del mosaico del tomate, y otros patógenos. También pueden ser resistentes a diferentes estreses abióticos, como el estrés salino (Marín & Mayela, 2017).

La siembra de tomate se suele hacer a través de semilleros y posteriormente se realiza un trasplante. El marco de plantación depende del ciclo de cultivo. En un ciclo corto, la densidad de plantación es más grande, el marco de plantación es 1-1,5 m entre líneas y 0,5 m entre plantas. En cambio, en el ciclo largo el marco de plantación es 1,3-2 m entre líneas y 0,5-0,7 m, siendo una densidad menor (González Vargas et al., 2003).

El tomate tiene dos hábitos de crecimiento bien diferenciados, el crecimiento indeterminado y el crecimiento determinado. El crecimiento indeterminado se caracteriza por un crecimiento lineal indefinido, las inflorescencias se alternan cada 3 hojas. En el caso del crecimiento determinado, el

crecimiento se detiene porque al final del tallo aparece una inflorescencia sin yema axilar, y las inflorescencias se alternan cada 1 o 2 hojas. A la hora de realizar la poda es importante conocer el hábito de crecimiento de nuestro cultivo. Si nos encontramos con tomates de crecimiento indeterminado es importante realizar una poda de formación. Esta poda puede ser a uno o dos tallos. La poda a un tallo consiste en eliminar todos los brotes axilares y dejar el crecimiento en el tallo principal. En cambio, en la poda a dos tallos se eliminan todos los brotes axilares menos uno. En este caso se obtienen dos tallos, el tallo principal y el tallo del brote axilar (Nuez, 2001). Durante el desarrollo del cultivo es necesario colocar tutores para un desarrollo vertical de las plantas. Una vez el cultivo ha alcanzado la altura deseada, se realiza un despunte, que consiste en eliminar los brotes terminales. Con esto se consigue regular el tamaño de la planta y como consecuencia acortar el ciclo vegetativo (Maroto, 2002). A lo largo del ciclo es necesario la eliminación de los brotes axilares o chupones. También es importante la eliminación de hojas viejas o enfermas, permitiendo una mejor iluminación y aireación del cultivo. Si se tienen problemas de cuajado existen varias técnicas para paliarlo, como son el uso de fitorreguladores, utilización de vibradores o abejorros (*Bombus terrestres*) (Nuez, 2001).

La nutrición es importante para que el cultivo funcione correctamente. Maroto (2002), recomienda como abonado de fondo la siguiente fórmula de fertilización por ha: 30 t de estiércol, 50 UF de N, 80-100 UF de  $P_2O_5$  y 200-250 UF de  $K_2O$ . En cobertera se pueden añadir 100-150 UF de N junto con un aporte suplementario de  $K_2O$ . Esta fórmula se debe adaptar dependiendo de las condiciones ambientales y a la variedad que se quiere cultivar.

A la hora de establecer la concentración de la solución nutritivas, hay que tener en cuenta el estadio de la planta y las condiciones climáticas. En la primera parte del ciclo, domina el crecimiento vegetativo, y se produce una gran absorción de nitrógeno. En cambio, cuando la planta se encuentra en la etapa de fructificación, disminuye la absorción de nitrógeno y aumenta la de potasio. A finales de primavera y verano, las soluciones nutritivas deben estar más diluidas porque con el aumento de la temperatura, aumenta la transpiración y como consecuencia el consumo de agua es mayor que el consumo de nutrientes. En cambio, en invierno se deben utilizar más concentradas (Nuez, 2001).

El cultivo de tomate puede sufrir diferentes estreses abióticos y bióticos. Los estreses bióticos más habituales son el estrés salino, estrés hídrico, estrés por bajas temperaturas y estrés por altas temperaturas. En cuanto a los estreses bióticos son bastante variados. Por un lado, tenemos las plagas. Las plagas que pueden afectan al cultivo de tomate son ácaros, el ácaro del bronceado (Aculops lycopersici), el ácaro blanco (Polyphagotarsemus latus) y la araña roja (Tetranychus urticae). Para su control se puede utilizar prácticas culturales, medidas preventivas, métodos químicos y métodos biológicos (depredadores); también tenemos insectos como, las moscas blancas, pulgones, chinches, minadores de las hojas, orugas aéreas y trips. También afectan diferentes virosis y micoplasmosis, como son, el virus del mosaico del tomate (ToMV), virus del mosaico del pepino (CMV), virus del bronceado del tomate (TSWV), virus de la hoja cuchara del tomate (TYLCV), virus Y de la patata (PVY), virus del mosaico de la alfalfa (AMV), virus X de la patata (PVX), virus del achaparrado del tomate (TBSV), virus del ápice amarillo del tomate (TYTV), virus del ápice rizado de la remolacha (BCTV) y virus del grabado del tabaco (TEV). Como enfermedad por micoplasmas se encuentra el Stolbur. Por último, se encuentran las enfermedades no víricas. Estas suelen ser causadas por hongos como Fusarium sp., Pythium sp., Alternaria solani, Phytophthora infestans, y muchos más; y nematodos como Meloidegyne incógnita, M. aremaria, M. javanica y M. hapla (Nuez, 2001). A lo largo del tiempo puede aparecer nuevas plagas o enfermedades que afecten al cultivo de tomate.

### 1.4. Fertilización nitrogenada. Problemas y perspectivas

### 1.4.1. Importancia de la nutrición nitrogenada

De todos los elementos conocidos, solo unos pocos son considerados esenciales para el crecimiento de las plantas. Los elementos esenciales se pueden clasificar en macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes son el nitrógeno, potasio, calcio, magnesio, fósforo, azufre y silicio. Por otro lado, tenemos los micronutrientes, que se encuentran en menos cantidad en las células vegetales, pero son igual de importantes. Estos son el cloruro, hierro, boro, manganeso, sodio, cinc, cobre, níquel y molibdeno. La carencia de cualquiera de estos elementos impide que se complete el ciclo biológico (Taiz & Zeiger, 2007).

El nitrógeno es el elemento mineral cuantitativamente más utilizado por las plantas. Alrededor del 1-5% de la materia seca de una planta está compuesta por nitrógeno (Marschner, 2011). El nitrógeno dentro de la planta está presente en diferentes moléculas. La mayor parte del nitrógeno se encuentra en las proteínas, alrededor del 85%. A continuación, en los ácidos nucleicos (DNA, RNA), sobre un 5%. Y entre el 5-10% de nitrógeno sobrante se encuentra en diferentes compuestos orgánicos solubles en agua y de bajo peso molecular. Algunos de estos compuestos orgánicos son intermediarios en el metabolismo del nitrógeno. Las amidas y los aminoácidos tienen la función de transporte y almacenamiento de nitrógeno, y los aa son los constituyentes de las proteínas. Las bases nitrogenadas simples, como la colina, están relacionadas con alcaloides y los lípidos. Compuestos análogos de las purinas y pirimidinas tienen funciones de regulación del crecimiento (Barker & Pilbeam, 2007).

Una insuficiencia de nitrógeno es capaz de restringir el crecimiento de todos los órganos de una planta (raíces, tallos, hojas, flores, frutos y semillas) (Barker & Pilbeam, 2007). El nitrógeno es el nutriente más limitante en la producción de prácticamente todos los cultivos. Algunos procesos fisiológicos como la fotosíntesis, la asimilación de azúcares y la partición de fotoasimilados, pueden verse afectados por un suministro inadecuado de este elemento (Enriquez et al., 2020). Las plantas con carencia de nitrógeno tienen una forma atrofiada, porque el crecimiento vegetativo está restringido. Las hojas presentan clorosis relacionada con el menor contenido en clorofilas. Sí la carencia se presenta durante todo el ciclo de cultivo, encontraremos las plantas más pálidas y delgadas. En cambio, si la carencia es durante un determinado momento del ciclo, el nitrógeno se movilizará de las hojas más viejas y se traslada a las hojas más jóvenes (Barker & Pilbeam, 2007). En el caso del tomate, se puede observar una coloración morada en las hojas, en los peciolos y en los tallos. Esto ocurre porque se produce un exceso de carbohidratos que no se utilizan en la síntesis de aminoácidos y se destina a la síntesis de antocianinas, provocando una acumulación de estas (Taiz & Zeiger, 2007).

Existen diferentes formas para aportar nitrógeno a las plantas, principalmente a partir de fertilizantes nitrogenados. Los fertilizantes nitrogenados se dividen en amoniacales (absorción lenta), nítricos (absorción rápida) y nítrico-amoniacales. Dentro de los fertilizantes amoniacales se encuentra el sulfato amónico, cianamida cálcica, cloruro de amonio, fosfato amónico, urea, amoniaco anhidro y agua amoniacal. En los fertilizantes nítricos tenemos nitrato de cal, nitrato sódico y nitrato potásico. Por último, en los fertilizantes nítrico-amoniacales está el nitrato amónico, nitrosulfato amónico, soluciones nitrogenadas y U.A.N. Por otro lado, también existen fertilizantes nitrogenados de liberación lenta y fertilizantes con aminoácidos. Los fertilizantes nitrogenados de liberación lenta se dividen en dos: fertilizantes recubiertos (urea-azufre (URA)) y fertilizantes poco

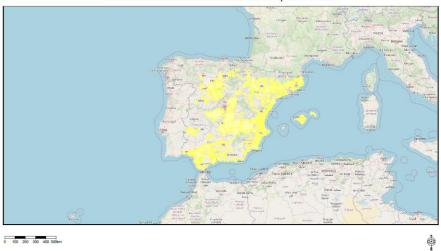
solubles (urea-formaldehido (UREA-FORM)) (Cerisola, 2015). Las principales fuentes de nitrógeno para las plantas superiores son a través de la absorción de nitrato (NO<sub>3</sub>-) y amonio (NH<sub>4</sub>+) (Marschner, 2011). Para que la planta pueda utilizar estos compuestos necesita absorberlos, asimilarlos, translocarlos, reciclarlos y removilizarlos (Krapp, 2015). La absorción de nitrato y amonio por las raíces se realiza a través de las células epidérmicas y corticales, este proceso esta mediado por proteínas de transporte que se encuentran en la membrana plasmática. Existen dos sistemas de absorción con diferentes afinidades. Los sistemas de transporte de alta afinidad (HATS) funcionan a bajas concentraciones (<0,5mM) de nitrato o amonio. En concentraciones más altas (>5mM), la absorción se produce a través de los sistemas de transporte de baja afinidad (LATS) (Marschner, 2011). La asimilación del nitrato se divide en dos pasos. El primer paso es la reducción del nitrato a nitrito en el citosol, catalizado por la enzima nitrato reductasa. Las células vegetales transportan el nitrito al plasto mediante trasportadores. Allí, la enzima nitrito reductasa reduce el nitrito a amonio. Una vez el amonio se encuentra dentro de las células vegetales, ya sea a través de la asimilación del nitrato o de la fotorrespiración, inmediatamente se convierten en aminoácidos para evitar la toxicidad del amonio. Para pasar de amonio a aminoácidos, son necesarias dos enzimas. La primera es la glutamina sintetasa (GS). Esta es capaz de combinar el amonio con el glutamato para formar glutamina. Cuando se acumula mucha glutamina en los plastos, se activa la enzima glutamato sintasa (GOGAT), que convierte la glutamina en dos moléculas de glutamato. Por último, cuando el nitrógeno ya se encuentra en forma de glutamina y glutamato, ya puede ser incorporado a otros aminoácidos a través de reacciones de transaminación (Taiz & Zeiger, 2007; Krapp, 2015).

### 1.4.2. Problemática de la fertilización nitrogenada

Desde la revolución verde, la producción de los cultivos se ha maximizado aplicando grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados. Sin embargo, la eficiencia del uso del nitrógeno de los principales cultivos es de alrededor del 20-40%, por lo que se liberan grandes excedentes de estos fertilizantes al suelo. Este excedente se puede dispersar al ambiente por volatilización, lixiviación y desnitrificación, causando importantes problemas medioambientales. La lixiviación de los nitratos provoca contaminación de las aguas subterráneas. Por otro lado, también se pueden contaminar las aguas superficiales, y como consecuencia provocar eutrofización. La eutrofización es un aumento excesivo de nutrientes, en este caso nitratos, que provoca una explosión de la reproducción de algas y algunas plantas acuáticas. Este aumento de biomasa vegetal tiene como consecuencia una disminución de la cantidad de oxígeno, disminuyendo la vida animal (Salas Sanjuán et al., 2003).

En España, existe una gran contaminación por nitratos (Figura 2). La gran mayoría de comunidades autónomas estas afectadas (Cataluña, Comunidad Valenciana, Murcia, Andalucía, Castilla La Mancha, Madrid, Aragón, Castilla y León, Extremadura, Islas Baleares, Islas Canarias).

#### Zonas vulnerables a contaminación por nitratos



**Figura 2.** Mapa de España de las zonas vulnerables a contaminación por nitratos en el año 2023 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y Ministerio para la Transición Ecológica [MAPAMA], 2024).

En la zona de Almería se encuentra una gran cantidad de producción hortícola intensiva en invernadero. Esta zona se ha declarado como 'zona vulnerable' a la contaminación por nitratos. El cultivo de mayor importancia aquí es el tomate. Existe un problema en el manejo de la fertilización. La fertilización se basa en el aporte tradicional (esto también ocurre en muchas otras zonas y cultivos) sin realizar análisis previos del suelo y del agua, y sin tener en cuenta el nitrógeno aportado en el estiércol. Por culpa de todo esto se producen grandes pérdidas de nitratos por lixiviación (Granados García et al., 2007).

### 1.4.3. Uso eficiente del nitrógeno

Además de la mejora en sistemas de manejo del cultivo, una posible solución para minimizar el problema planteado en el apartado anterior puede ser un aumento de la eficiencia en el uso del nitrógeno por parte de las plantas. Aumentar esta eficiencia puede mejorar los sistemas de producción de los cultivos y, además, reducir la contaminación medioambiental (Conant et al., 2013). Como ya mencionamos en apartados anteriores, la fertilización nitrogenada es capaz de limitar la producción de los cultivos, por eso es importante conseguir optimizar la eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE). La NUE es un rasgo bastante complejo, porque depende de muy diversos caracteres poligénicos y con una importante influencia ambiental. La NUE vegetal se define como la biomasa producida por unidad de nitrógeno aplicada, o la producción de masa seca por unidad de nitrógeno extraído del suelo. La NUE se puede dividir en dos componentes. La primera es la absorción del nitrógeno del suelo por parte de los cultivos, esto se denomina "eficiencia de absorción de nitrógeno" (NUpE). La segunda componente es la utilización del nitrógeno por parte de la planta, que se denomina "eficiencia de utilización de nitrógeno" (NUtE) (Abenavoli et al., 2016).

Mediante mejora genética convencional, se ha conseguido mejorar la NUE en algunas especies, aunque más recientemente se están también abordando aproximaciones biotecnológicas (Krapp, 2015). El desafío de mejorar la NUE es su control genético poligénico, antes señalado. Se están consiguiendo avances significativos mediante la identificación de loci de rasgos cuantitativos (QTL) empleando germoplasma de especies silvestres relacionadas, y con el uso de plantas transgénicas y editadas genéticamente (Flores-Saavedra et al., 2024). Según Abenavoli et al. (2016), los procesos fisiológicos y moleculares que están implicados en la captación y asimilación del NO<sub>3</sub>- deben

estudiarse en profundidad para identificar caracteres importantes en la definición de la NUE de una cierta especie. No obstante, hay que señalar que, como indica Krapp (2015), la modificación de la expresión de los principales transportadores o enzimas de asimilación de nitrógeno, a menudo, no dan los resultados espesados. En arroz, se han conseguido resultados positivos con la sobreexpresión de OsAMT1;1 y OsNPF7.3, transportadores de amonio y nitrato, respectivamente. Se cree que se está avanzando lentamente porque la asimilación del nitrógeno está ligada a otras vías, como por ejemplo a la sobreexpresión de los transportadores de azúcar, que actúan como vínculo entre el metabolismo del carbono y nitrógeno. La clave podría está en el equilibrio C:N de un cultivo (Krapp, 2015).

En tomate, son escasos los trabajos dirigidos a aumentar la NUE. Abenavoli et al. (2016) realizó un fenotipado de dos genotipos de tomate (Regina Ostuni y UC82), identificando procesos fisiológicos responsables de las diferencias en NUE en esta especie. Flores-Saavedra et al. (2024) también realizaron una investigación sobre la eficiencia en el uso de nitrógeno en diferentes genotipos de tomate (30 accesiones). Algunos tipos de 'De penjar'/'Da serbo' podrían ser útiles para la mejora de la NUE.

La estrategia adicional, siguiendo estrategias de mejora clásica, supone la utilización de las especies silvestres de tomate como fuente de variabilidad adicional para parámetros de la NUE. Clásicamente, se han empleado estas especies para introducir variabilidad en el estudio de tolerancias a estreses abióticos y bióticos, en calidad del fruto, etc. De Castro et al. (2010) evaluaron la resistencia a TYLCD (la enfermedad del rizado amarillo del tomate) de 13 entradas de la especie *S. lycopersicoides*. Los resultados que obtuvieron fueron que varias de las entradas utilizadas tenían un elevado nivel de resistencia. Esta especie se podría utilizar en los programas de mejora para la resistencia a TYLCD en tomate. Parra-Gómez et al. (2016) analizaron 225 líneas procedentes de un cruzamiento interespecífico entre *S. lycopersicum* y *S. pimpinellifolium*. Obtuvieron gran variabilidad entre líneas para variables relacionadas con el rendimiento y sus componentes, como en la calidad del fruto. Estas líneas resultan útiles como fuente de variabilidad.

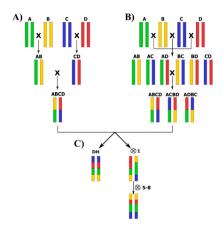
Recientemente, se han iniciado diversos proyectos encaminados a la introducción de variabilidad relacionada con la NUE a partir de los parientes silvestres. La utilización directa de las especies silvestres en programas de mejora, normalmente, no es posible porque existen rasgos indeseables (Prohens et al., 2017). Prohens et al. (2017) han planteado la especialidad de la "introgresiómica", que consiste en el desarrollo a gran escala de materiales y poblaciones vegetales con introgresión de parientes silvestres en el trasfondo genético de los cultivos. Existen varias técnicas para producir poblaciones de introgresión, que son la generación de líneas de sustitución cromosómica (CSL), líneas de introgresión (IL) o poblaciones de cruces avanzados multiparentales (MAGIC) (Prohens et al., 2017).

# 1.5. Poblaciones MAGIC como materiales de premejora para incrementar la NUE en tomate

Las poblaciones MAGIC se encuentran dentro de las poblaciones multiparentales. Estas poblaciones se producen al cruzar más de dos líneas fundadoras endogámicas, y representan un puente entre los enfoques de mapeo de vínculos (cruces biparentales tradicionales) y mapeo de asociaciones (GWAS). Las poblaciones MAGIC son paneles de RILs. Estos son mosaicos de escala fina con proporciones teóricamente iguales de los genomas fundadores. Las poblaciones MAGIC pueden presentar diferentes ventajas en comparación con las poblaciones clásicas biparentales. Se pueden

utilizar para dos propósitos diferentes y no excluyentes: el mapeo permanente de poblaciones inmortales para una localización precisa de QTL, y el desarrollo de nuevo material de élite para ser liberado directamente o para ser incluido en procesos de mejora, como materiales de premejora. Estas poblaciones son muy útiles para la detección de QTLs, así como para metodologías de ligamiento y asociación. La gran cantidad de recombinaciones acumuladas, logrados a lo largo de múltiples entrecruzamientos y autofecundación, mejora la precisión del mapeo de QTL, creando una oportunidad para identificar asociaciones gen-carácter con mayor resolución. La combinación de múltiples parentales proporciona una mayor diversidad genética y fenotípica dentro de una única población, lo que aumenta el número de QTL que se segregan en el cruce y promueve nuevos reordenamientos de alelos. El uso de poblaciones MAGIC también presenta algunas desventajas. La primera es que se necesita una mayor inversión de tiempo y grandes esfuerzos para su desarrollo, porque involucra múltiples líneas fundadoras y muchas generaciones autofecundadas, para obtener una población MAGIC final casi homocigótica. El fenotipado de estas colecciones con un elevado número de accesiones también supone un elevado coste de tiempo, espacio y desarrollo.

El objetivo final, independientemente del enfoque utilizado, es conseguir individuos con un alto grado de homocigosis, que puede obtenerse mediate descenso de una sola semilla o mediante producción doble haploide (Figura 3) (Arrones et al., 2020).



**Figura 3.** Diseños cruzados de una población MAGIC de 4 vías donde los parentales son A, B, C y D: A) diseño de "embudo"; B) diseño "dialelo"; y C) obtención de individuos homocigotos mediante producción duplicada de haploides o mediante varias rondas de autofecundación siguiendo el método de descenso de una sola semilla (Arrones et al., 2020).

Antes de empezar el desarrollo de las poblaciones MAGIC, es importante elegir bien los parentales que se van a utilizar. Lo idóneo es que los parentales puedan cubrir una amplia diversidad fenotípica, genética y geográfica para explotar el potencial de la población y obtener un panel de recursos altamente informativo. Como parentales se pueden utilizar especies parentales silvestres, variedades locales, cultivares comerciales o líneas genéticas de élite con rasgos deseables (Arrones et al., 2020). La colección MAGIC estudiada en el presente trabajo (Arrones et al., 2024), es fruto de los cruces de 4 accesiones de 5. pimpinellifolium y 4 accesiones de 5. lycopersicum var. cerasiforme, como parentales silvestres del tomate cultivado. Los análisis fenotípicos realizados con la colección en relación con el tamaño de fruto, pigmentación, precocidad o morfología de hoja han mostrado su potencial como fuente de variabilidad genética para caracteres de interés en tomate. Estas líneas MAGIC podrían utilizarse como materiales de premejora para proyectos dirigidos a incrementar la eficiencia en el uso del nitrógeno en tomate, si una adecuada caracterización de los parentales fundadores de la población indicara la existencia de una amplia diversidad genética para estos caracteres.

### 2. OBJETIVOS

El presente trabajo se enmarca en el proyecto: *Mejora de la eficiencia del uso del nitrógeno en tomate a partir de una población multiparental MAGIC interespecífica* (NITROMAGIC), financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. Tiene como objetivo la mejora de la eficiencia en el uso del nitrógeno en el tomate cultivado, utilizando la variabilidad genética presente en una población MAGIC, cuyos parentales son 8 accesiones, 4 de ellas son de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, y las otras 4 son accesiones de la especie silvestre *S. pimpinellifolium* que es la especie silvestre del género más cercana al tomate. Esta población, si bien ha sido analizada para buscar variabilidad relacionada con el tamaño de fruto, pigmentación, precocidad y morfología de hoja (Arrones et al., 2024), no se ha analizado nunca en relación con aquellos caracteres que influencian la NUE en este género. Los objetivos de este trabajo son objetivos parciales del objetivo general del citado proyecto.

- Evaluación y fenotipado de los ocho parentales de una colección MAGIC para caracteres relacionados con la NUE.
- Fenotipado de unas 120 líneas seleccionadas de la colección MAGIC, en distintas condiciones de aporte de N.

La consecución de estos objetivos permitirá la posterior identificación de QTLs, estudios de asociación de genoma completo (GWAS), y una posible identificación de materiales de interés en premejora/mejora para la NUE.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1. Instalaciones

### 3.1.1. Invernadero

El invernadero que se utilizó en el proyecto es de tipo Venlo (Figura 4B), y está localizado en el Campus de la Universitat Politècnica de València. Este tipo de invernadero se caracteriza por tener los laterales y la cubierta de vidrio. En la línea central del invernadero hay unos pilares, que junto con los laterales sostienen el peso de la cumbrera. El acceso es a través de una doble puerta de seguridad, para evitar el posible paso de plagas al interior (Figura 4A). Existen tres sistemas de refrigeración, la ventilación cenital, el cooling y la malla de sombreo. La ventilación cenital es automática, cuando el invernadero supera una temperatura umbral de 30ºC, las ventanas se abrirán automáticamente. Las ventanas también son útiles para eliminar el exceso de humedad que se puede acumular a lo largo de la noche. Tiene instalado dos equipos de cooling al final del invernadero, que están regulados igual que las ventanas, cuando dentro del invernadero se supera una temperatura dada, los equipos se ponen en funcionamiento. El aire se distribuye a través de una manga, para tratar de homogeneizar la temperatura el interior. Por último, está la malla de sombreo, que se encuentra situada por encima de la cubierta.

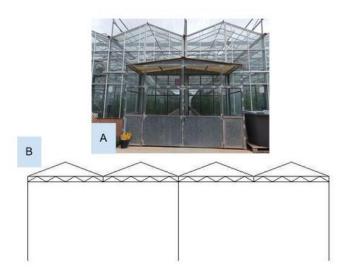


Figura 4. Frontal del invernadero. A) Fotografía frontal del invernadero. B) Esquema frontal del invernadero.

En la Figura 5 se puede observar una representación de la distribución en planta del invernadero. En medio se encuentra el pasillo central, que divide en invernadero en dos mitades. A cada lado del pasillo se distribuyen veinte filas, con un total de cuarenta filas independientes en el invernadero. Estas filas son pequeños muros de hormigón, que disponen las macetas a una altura de 1 m del suelo. Encima de cada fila se disponen veinte macetas de 25 L, de forma que se disponen de un total de 800 macetas en el invernadero. Se empleó un sustrato inerte de bolas de arcilla expandida de 2-3 mm de diámetro medio (Arlita, España) para desarrollar un cultivo de tipo hidropónico.

[03000000000000000]	[00000000000000000000000000000000000000
[0000000000000]	[CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
[00000000000000000]	[ccaxccaxcccaxcccax
000000000000000000000000000000000000000	000000000000000000000000000000000000000
(0000000000000000000000000000000000000	000000000000000000000000000000000000000
(00x0000000000000000000000000000000000	000000000000000000000000000000000000000
orcoorcoorcoorco	
(MXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	000000000000000000000000000000000000000
030000300000000000000000000000000000000	CCC00000000000000000000000000000000000
[000000000000000000]	000000000000000000000000000000000000000
030000300000000000000000000000000000000	0.0000000000000000000000000000000000000
020000200002000000000000000000000000000	000000000000000000000000000000000000000
отпозностностно	(00000000000000000000000000000000000000
03000033000033000	000000000000000000000000000000000000000
000000000000000000000000000000000000000	000000000000000000000000000000000000000
000000000000000000000000000000000000000	000000000000000000000000000000000000000
0300003000030003000	000000000000000000000000000000000000000
03000030000300000	000000000000000000000000000000000000000
OE0003000000000000	

Figura 5. Esquema de la distribución en planta del invernadero.

### 3.1.2. Riego

El sistema de riego se diseñó para establecer dos niveles de fertilización nitrogenada, uno con aporte suficiente de N (100% N) y otro con un aporte limitante del 50 % N. Se distribuyeron las dos líneas de riego independientes por todo el invernadero, para permitir una distribución al azar de las accesiones y tratamientos ensayados.

Las soluciones nutritivas se basaron en la propuesta por Hoagland y Arnon (1950). En la Tabla 7 se indica la concentración de las diferentes sales empleadas para la solución 100% N y 50% N. Las

condiciones de fertilización fueron optimizadas previamente, para las especies ensayadas y las condiciones de cultivo, por el grupo de investigación. Se demostró que, en estas condiciones, las plantas control presentan un desarrollo óptimo, sin presentar síntomas de deficiencias. Por otro lado, la limitación a la mitad del aporte de nitrógeno provoca una disminución del 50% de la producción de fruto en tomate comercial. Esta condición se eligió como de aporte limitante de nitrógeno en el presente trabajo.

Tabla 7. Concentración de las sales empleadas para la solución 100 % y 50 % N, junto con el hierro y los micronutrientes.

		<u>100% N</u>				
Stock M		Sales		mL/L solución		
1		NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0,5		
1		KNO <sub>3</sub>		3		
1	Ca	(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O		2		
1		MgSO <sub>4</sub>		1		
		<u>50% N</u>				
Stock M		Sales	mL/	L solución		
1		$NH_4H_2PO_4$		0,25		
1		KNO <sub>3</sub>		1,5		
1	Ca	Ca (NO₃)₂· 4H₂O		1		
1		MgSO <sub>4</sub>		1		
1		KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0,25		
0,5		K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		1		
1		KCl	0,25			
1		CaCl <sub>2</sub>	1			
	<u>Hi</u>	erro y Micronutriente	<u>s</u>			
Stock M	S	ales	mL stock	mL/L solución		
1		Fe		0,5		
		Bórico				
		MnCl <sub>2</sub>	750	0,5		
1	Micros	ZnSO <sub>4</sub>				
		CuSO <sub>4</sub>				
		Molibdato				

Para poner en funcionamiento el sistema de riego, se emplearon dos tanques de 1500 l, doce válvulas (4 válvulas de retención y 8 válvulas de esfera), dos filtros cazapiedras y dos bombas (Figura A3). Las bombas utilizadas son bombas centrifugas multietapa Lowara 3HM04P05T5RVBE con un motor SM63HMHA/305 (Figuras A1 y A2 y Tablas A1 y A2). Las dos bombas funcionaban a través de un programador. El programador que se seleccionó es un Eco-Logic de interior para 4/6 estaciones (Hunter, España).

Al inicio del experimento se programaron dos riegos de 1 min a las 8 h y a las 12h, con un caudal de 125 mL/min por gotero. A los 30 días de riego diferencial, cuando el tamaño de las plantas era mayor, se añadió un riego adicional a las 17 h.

### 3.2. Material vegetal

En el ensayo se estudió la respuesta de 120 accesiones de una colección MAGIC de tomate obtenido por el grupo del Dr. Jaume Prohens del COMAV-UPV (Arrones et al., 2024). Se seleccionaron 120 de la colección de 400 accesiones que maximizaban la variabilidad genética. Los 120 genotipos se

identificaron con un número de tres dígitos. Además, se incluyeron los 8 parentales que se emplearon para generar la colección: 4 accesiones de *Solanum pimpinellifolium* L. (PP), y 4 accesiones de *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (Dunal) Spooner, GJ Anderson y RK Jasen (CE) (Arrones et al., 2024).

El día 8 de enero de 2024 las plantas se sembraron en los semilleros de Cucala Agrícola (Benigànim, Valencia). Se mantuvieron en el semillero hasta el día 12 de febrero. En esta fecha las plantas ya tenían un tamaño adecuado para el trasplante (2-3 hojas).

### 3.3. Diseño experimental y manejo

El 13 de febrero, se trasplantaron 1600 plantas a macetas con Arlita, en un total de 800 macetas, (dos plantas por maceta). De las líneas MAGIC se incluyeron 6 plantas homogéneas y representativas de cada accesión, siendo 3 para cada nivel de fertilización (n= 720). Se emplearon 10 réplicas de cada parental, de forma que se disponía de 5 plantas homogéneas y representativas en cada nivel de fertilización (n=80). Esto hace un total de 800 plantas. Se plantaron por duplicado para poder hacer una determinación de biomasa vegetal durante el periodo de crecimiento vegetativo de la planta, y otro al final del experimento.

Las accesiones y los parentales se distribuyeron al azar por todo el invernadero, aunque se trasplantaron en macetas contiguas cada una de las réplicas de 100% y 50% de aporte de N (Figura 6). Esta distribución permitía realizar un seguimiento visual del desarrollo de la limitación del aporte de N y, además, minimizar el efecto de posición en la respuesta al nivel de N.



Figura 6. Ejemplo de los dos tratamientos juntos de un mismo genotipo y misma replica.

Dentro de cada fila se alternaron macetas de 100% y 50% de nitrógeno. En todas las filas se repitió el mismo patrón. El riego diferencial empezó a los 11 días del trasplante. Hasta ese momento todas las plantas se regaron con solución del 100% de nitrógeno. Se realizó un entutorado con ayuda de una cuerda, para favorecer el crecimiento vertical. Todas las semanas se eliminaban los brotes axilares para favorecer el crecimiento vertical y la formación de frutos. Se vibraron todas las inflorescencias de las plantas semanalmente para favorecer la polinización de estas. Las plantas de dejaron hasta el 22 de mayo. Todas las plantas estuvieron desarrollándose durante 3 meses y una semana (Figura 7).



**Figura 7.** Crecimiento de las plantas dentro del invernadero. A) Plantas al principio del cultivo. B) Plantas a mitad del cultivo. C) Plantas al final del cultivo.

La recolección de los frutos (Figura 8) empezó el día 24 de marzo y se alargó hasta el final del cultivo. Los frutos se recogían cada semana, en ese momento se contaba el número de frutos recogido y el peso total de todos los frutos.



Figura 8. Aspecto visual de algunos de los frutos recolectados.

### 3.4. Determinación de parámetros fotosintéticos

A los 15 días del riego diferencial se empezó a tomar medidas fotosintéticas. Se tomaron medidas cada 15 días durante dos meses, con un total de 4 medidas. Las medidas (una medida en la primera hoja expandida por cada planta) se realizaron con ayuda de tres aparatos diferentes. Los aparatos fueron los siguientes:

- PolyPen (Photon Systems, Chequia), determina parámetros de reflectancia y transmitancia de luz. Se obtuvieron datos del índice NDVI.
- Dualex (Force A, Francia), determina contenido en pigmentos. Se obtuvieron datos de contenido en clorofilas, antocianinas, flavonoides y el índice NBI.
- MINIPAM (Walz, Alemania), determina la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (Fv/Fm). Se obtuvieron datos de Fv/Fm, que es indicativo de fenómenos de fotoinhibición asociado a estrés.

### 3.5. Determinaciones de biomasa

La determinación de biomasa se realizó en dos fechas. La primera se realizó a los 20 días del inicio riego diferencial. En este caso se quería determinar el estadio vegetativo de la planta. Se separó la parte aérea de las raíces y se obtuvo el peso fresco y seco de cada parte. A los 76 días del primer muestreo, se realizó el segundo muestreo, en este caso en el estadio reproductivo. Se separaron todos los órganos y se obtuvo el peso fresco y seco.

Por otro lado, los frutos se empezaron a recoger a los 70 días del trasplante. Los frutos se fueron recogiendo hasta acabar el ensayo. Se determinó la producción total de las plantas, el número medio de frutos por planta y el peso medio del fruto. Los frutos se secaron en una estufa a 70°C, para determinar su peso seco.

### 3.6. Análisis estadístico

Para analizar las diferencias entre genotipos en respuesta a la deficiencia de N a lo largo del experimento se utilizó el programa Statgraphics Centurion 19 (Statgraphics Technologies Inc). Se realizo un análisis de la varianza multifactorial. La separación de medias se analizó mediante un test de comparaciones múltiples.

Además, a partir de la varianza del error se calculó la diferencia mínima significativa (LSD) con la siguiente fórmula:

$$x = t_{(\alpha/2,DFW)} * \sqrt{\frac{s^2 * 2}{n}}$$

### Donde:

- DFW son los grados de libertad de la varianza residual
- $t_{(\alpha/2, DFW)}$  es la distribución t de Student con DFW y  $\alpha$  = 95%.
- S<sup>2</sup> es la varianza
- n el número de casos

También se realizaron correlaciones (Pearson) para relacionar el grado de relación entre las variables estudiadas empleando el mismo paquete estadístico.

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la caracterización de la respuesta de la colección MAGIC a la disponibilidad de N muestra la existencia de variación significativa entre las líneas, tanto para parámetros fotosintéticos como de producción. No obstante, existen diferencias entre parámetros en cuanto a importancia relativa de los distintos factores estudiados (tratamiento, genotipo y fecha) y a las interacciones entre ellos que pasamos a detallar.

Para todos los caracteres estudiados, se ha hecho un estudio preliminar del comportamiento de los parentales a la deficiencia de N, con objeto de analizar la presencia de variación genética significativa para los caracteres de interés y, en caso de que existiera esta variación, ampliarlo posteriormente a toda la colección.

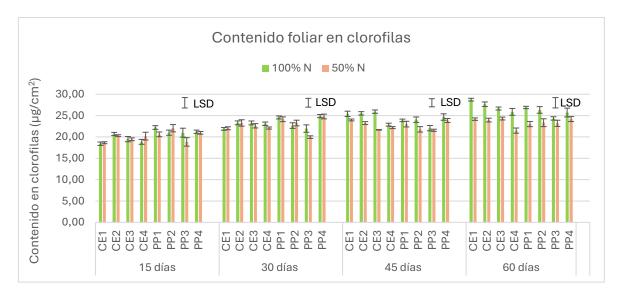
# 4.1. Variación en parámetros fotosintéticos en respuesta a la disponibilidad de nitrógeno

Los parámetros fotosintéticos que se analizan en este trabajo, a la respuesta de disponibilidad de N son las clorofilas, los flavonoides, las antocianinas, el índice NBI, el índice NDVI y la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (Fv/Fm).

### 4.1.1. Clorofilas

La Figura 9 muestra la variación en el contenido de clorofilas en las hojas a los 15, 30, 45 y 60 días desde el inicio de la fertilización diferencial (100% N y 50% N) entre los 8 parentales, 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4) y otras 4 accesiones de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4).

Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones, una disminución del contenido en clorofila al disminuir el aporte de N, y un incremento en el contenido en clorofila a lo largo del cultivo (Tabla 8 y Figura 9). No obstante, existen interacciones entre los diferentes factores estudiados. El efecto del tratamiento sólo empieza a observarse a partir del día 45 desde que se establece la fertilización diferencial. Sin embargo, en estas últimas fechas, las diferencias entre accesiones, observadas inicialmente, disminuyen (Tablas A3, A4, A5 y A6). La accesión PP3 es de interés porque es capaz de mantener el contenido foliar de clorofila en el tratamiento con deficiencia de N.

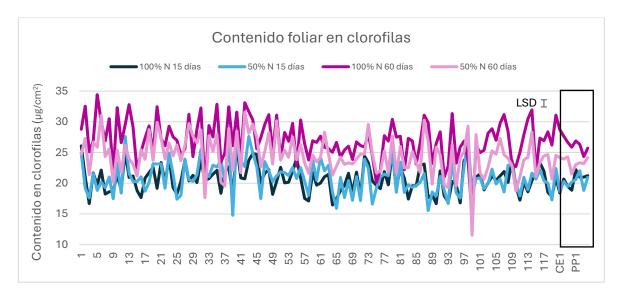


**Figura 9.** Contenido en clorofila en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 8.** ANOVA de tres factores para el contenido foliar en clorofila, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	155,888	7	22,2697	3,60	0,0010
Tratamiento (B)	144,05	1	144,05	23,32	0,0000
Fecha (C)	940,388	3	313,463	50,74	0,0000
Interacciones					
AB	11,0862	7	1,58374	0,26	0,9698
AC	163,56	21	7,78857	1,26	0,2021
ВС	102,706	3	34,2355	5,54	0,0011
ABC	82,2645	21	3,91735	0,63	0,8918
Residuos	1581,55	256	6,17795		
Total (corregido)	3181,5	319			

El análisis de las 120 accesiones de la población MAGIC (Tablas A7, A8, A9, A10) muestra la misma tendencia que la de los parentales. A lo largo del cultivo, el contenido en clorofilas aumenta en las hojas (Figura 10). También se observa un aumento progresivo de las diferencias en este parámetro debido al efecto del tratamiento.



**Figura 10.** Contenido en clorofilas en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la fecha de 60 días.

En la Tabla A10 se observa que, a los 60 días del tratamiento diferencial, existen diferencias significativas entre las accesiones y entre los dos tratamientos (100% N y 50% N) realizados. En la Figura 10 se observa que, en el día 60 con el 100% de N, las accesiones tienen diferente contenido en clorofilas. Ocurre lo mismo cuando nos fijamos en el tratamiento con el 50% N. Además, cada accesión reacciona de forma diferente al descenso de nitrógeno. Con todo lo que hemos comentado, podemos decir que existe variabilidad dentro de este parámetro, encontrándonos accesiones con un alto nivel de clorofilas (por ejemplo, las accesiones 5, 42, 35, 13 y 2 con el 100% N y las accesiones 42, 6, 87, 50 y 20 con el 50% N) y accesiones con un bajo nivel de clorofilas (por ejemplo, las accesiones 99, 32, 75, 92 y 9 con el 100% N y las accesiones 99, 32, 110, 93 y 37 con el 50% N). Cabe destacar que 7 de las 120 accesiones muestran diferencias significativas en el contenido en clorofilas siendo mayor en el riego con un 50% N (98, 29, 62, 45, 100, 75 y 73).

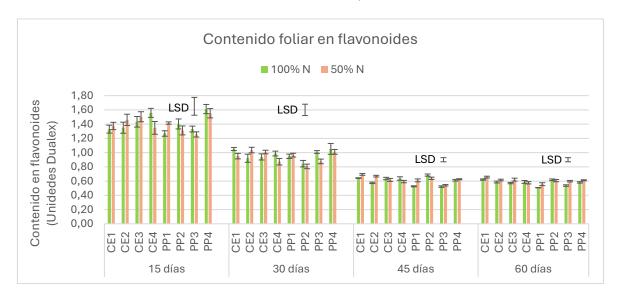
La identificación de estos cultivares tiene gran interés ya que tanto el comportamiento de la mayoría de los genotipos ensayados en este trabajo, como los publicados en otros genotipos de tomate, señalan que cuando existe una disminución de la fertilización nitrogenada, el contenido en clorofilas disminuye. Así, Flores Saavedra (2021) obtiene resultados similares cuando analiza 30 genotipos de tomate cultivados con dos soluciones distintas de nitrógeno (alto nitrógeno: 5mM, y bajo nitrógeno: 0,5mM). Cuando existe una disminución del aporte de nitrógeno, el contenido en clorofilas disminuye. Asimismo, Khavari-Nejad et al. (2009) trabajando con un cultivar de tomate (Urbana V.F) señalan que, si disminuye en un 25% y 35% la cantidad de nitrato, la clorofila total en la hoja disminuye.

### 4.1.2. Flavonoides

La Figura 11 muestra la variación en el contenido en flavonoides a los 15, 30, 45 y 60 días desde el inicio de la fertilización diferencial (100% N y 50% N) entre los 8 parentales.

Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones y una disminución en el contenido en flavonoides a lo largo del cultivo (Tabla 9 y Figura 11). Sin embargo, no se observa un efecto significativo del tratamiento. Las diferencias entre accesiones se empiezan a observar a partir del día 45 desde el inicio de la fertilización diferencial (Tablas A11, A12, A13 y A14).

Los flavonoides incrementan su concentración en situaciones de estrés. Esto puede ocurrir porque se ha detectado que estos compuestos son capaces de contrarrestar el daño oxidativo (ROS) inducido por el estrés (Di Ferdinando et al., 2012). Aunque no se ha observado una diferencia entre accesiones debida al estrés causado por la disminución en el aporte de N, tiene interés identificar genotipos con pocas variaciones en flavonoides, sin que esto suponga un efecto detrimental, ya que podría indicar que dichos genotipos son más tolerantes a crecer en ambientes desfavorables para el cultivo de tomate. En este sentido, la accesión PP1 es de interés porque es la que tiene menor contenido foliar de flavonoides en el tratamiento control y en el tratamiento con deficiencia de N.

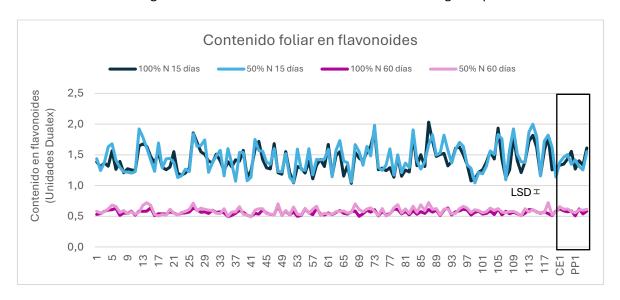


**Figura 11.** Contenido en flavonoides en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 9.** ANOVA de tres factores para el contenido foliar en flavonoides, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,45515	7	0,0650736	2,19	0,0353
Tratamiento (B)	0,000644112	1	0,000644112	0,02	0,8830
Fecha (C)	34,9331	3	11,6444	392,52	0,0000
Interacciones					
AB	0,272096	7	0,0388709	1,31	0,2456
AC	0,613099	21	0,0291952	0,98	0,4834
ВС	0,040464	3	0,013488	0,45	0,7142
ABC	0,186079	21	0,00886092	0,30	0,9990
Residuos	7,59438	256	0,0296656		
Total (corregido)	44,0953	319			

El análisis de las 120 accesiones de la población MAGIC (Tablas A15, A16, A17 y A18) muestra la misma tendencia que la de los parentales. A lo largo del cultivo, el contenido en flavonoides disminuye en las hojas (Figura 12). También se observa una disminución de las diferencias entre genotipos al avanzar el cultivo. Al considerar la totalidad de la población, sí que se observa un efecto de la fertilización nitrogenada en el contenido en flavonoides en ciertos genotipos.



**Figura 12.** Contenido en flavonoides en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la fecha de 60 días.

En la Tabla A18 se observa que, a los 60 días del tratamiento diferencial, existen diferencias significativas entre las accesiones y entre los dos tratamientos (100% N y 50% N) realizados. En la Figura 12 se observa que, en el día 15 existen mayores diferencias en el contenido en flavonoides entre accesiones, que en el día 60. Aunque estas diferencias sean significativas, han ido disminuyendo a lo largo del tiempo. Por otro lado, cada accesión reacciona de forma diferente a la disminución de nitrógeno. Con todo lo que hemos comentado, podemos decir que existe cierta variabilidad dentro de este parámetro. Podemos encontrar accesiones con un alto nivel de flavonoides (por ejemplo, las accesiones 48, 15, 92, 58 y 26 con el 100% N y las accesiones 87, 14, 118, 26 y 48 con el 50% N) y accesiones con un bajo nivel de flavonoides (por ejemplo, las accesiones 35, 41, 69, 53 y 74 con el 100% N y las accesiones 41, 35, 17, 76 y 111 con el 50% N).

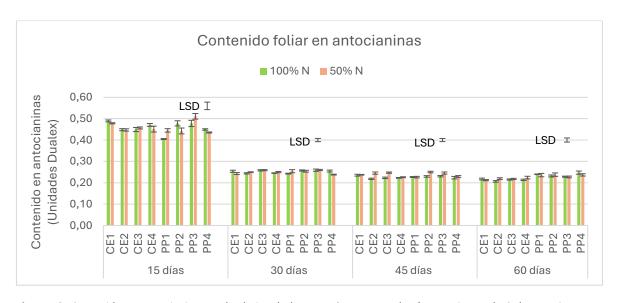
En los trabajos previamente publicados, y en los que sólo se estudian 30 genotipos de tomates, se observa un incremento en flavonoides cuando disminuye el aporte de N desde un 5mM a un 0,5mM de N (Flores Saavedra, 2021).

### 4.1.3. Antocianinas

La Figura 13 muestra la variación en el contenido en antocianinas a los 15, 30, 45 y 60 días desde el inicio de la fertilización diferencial (100% N y 50% N) entre los 8 parentales.

Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones, un efecto de la disminución del aporte de N, y una disminución en el contenido en antocianinas a lo largo del cultivo (Tabla 10 y Figura 13). No obstante, existen interacciones entre los diferentes factores estudiados. El efecto del tratamiento sólo empieza a observarse a partir del día 45 de la fertilización diferencial. Sin embargo, en estas últimas fechas, las diferencias entre accesiones, observadas el día 15, disminuyen (Tablas A19, A20, A21 y A22).

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides. En definitiva, las antocianinas son los flavonoides que presentan pigmentación. Las antocianinas pueden presentar diferentes colores como son el pelargonidina (rojo-anaranjado), cianidina (rojo púrpura) y delfinidina (azul púrpura) (García & Carril, 2011). En este trabajo se ha medido la cantidad de antocianinas a nivel foliar, en este caso se busca un nivel bajo de antocianinas, en el que predomine el color verde de las clorofilas, como síntoma de mayor tolerancia a la limitación en el aporte de N. Las accesiones de CE son de interés porque tiene menor contenido foliar de antocianinas en el tratamiento control y en el tratamiento con deficiencia de N.

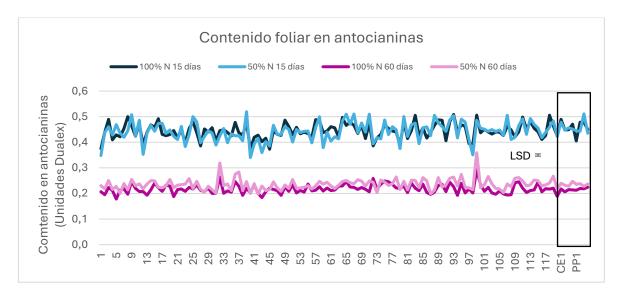


**Figura 13.** Contenido en antocianinas en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 10.** ANOVA de tres factores para el contenido foliar en antocianinas, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0155714	7	0,00222448	3,47	0,0014
Tratamiento (B)	0,00482051	1	0,00482051	7,51	0,0066
Fecha (C)	2,98445	3	0,994815	1550,82	0,0000
Interacciones					
AB	0,00455569	7	0,000650813	1,01	0,4213
AC	0,0250325	21	0,00119203	1,86	0,0142
ВС	0,00596906	3	0,00198969	3,10	0,0273
ABC	0,0120165	21	0,000572216	0,89	0,6017
Residuos	0,164218	256	0,000641477		
Total (corregido)	3,21663	319			

El análisis de las 120 accesiones de la población MAGIC (Tablas A23, A24, A25 y A26) muestra la misma tendencia que la de los parentales. A lo largo de del cultivo, el contenido en antocianinas disminuye en las hojas (Figura 14). También se observa una disminución de las diferencias entre genotipos al avanzar el cultivo.



**Figura 14.** Contenido en antocianinas en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la fecha de 60 días.

En la Tabla A26 se observa que, a los 60 días del tratamiento diferencial, existen diferencias significativas entre las accesiones y entre los dos tratamientos (100% N y 50% N) realizados. En la Figura 14 se observa que, en el día 15 existen mayores diferencias en el contenido en antocianinas entre las accesiones, que en el día 60. Aunque estas diferencias sean significativas han ido disminuyendo a lo largo del tiempo. Por otro lado, cada accesión reacciona de forma diferente a la disminución de nitrógeno. Con todo lo que hemos comentado, podemos afirmar que existe cierta variabilidad dentro de este parámetro. Podemos encontrar accesiones con un alto nivel de antocianinas (por ejemplo, las accesiones 99, 32, 72, 75 y 9 con el 100% N y las accesiones 99, 32, 37, 36 y 95 con el 50% N) y accesiones con un bajo nivel de antocianinas (por ejemplo, las accesiones 5, 43, 20, 120 y 48 con el 100% N y las accesiones 42, 87, 6, 40 y 31 con el 50% N). Cabe destacar que 6 de las 120 accesiones muestran diferencias significativas en cuanto a un menor contenido en antocianinas, en el medio con un 50% N (72, 76, 73, 6, 100 y 90).

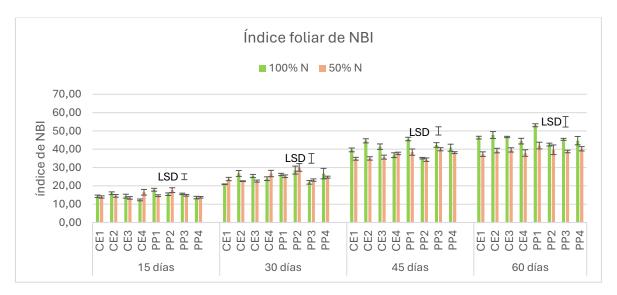
Las antocianinas son glicósidos con un azúcar en la posición 3 (García & Carril, 2011). En condiciones de carencia de nitrógeno, las plantas de tomate acumulan una mayor cantidad de carbohidratos debido a que se ralentiza el crecimiento de la planta, y no son empleados, entre otros, en la síntesis de aminoácidos u otros compuestos nitrogenados. El exceso de carbohidratos se destina, en parte, a la síntesis de antocianinas, lo que acaba provocando una acumulación excesiva de este pigmento, produciendo una coloración morada en las hojas (Taiz & Zeiger, 2007). Los trabajos en tomate realizados hasta la fecha que estudian este factor nos indican un aumento del contenido en antocianos al disminuir el aporte nitrogenado, en todos los genotipos de tomate estudiados (Flores Saavedra, 2021; Khavari-Nejad et al., 2009). En nuestros materiales, sin embargo, encontramos líneas en que la disminución de la fertilización nitrogenada no supone un incremento en antocianos, sugiriendo un menor requerimiento de este elemento y un uso más eficiente del mismo.

### 4.1.4. Índice NBI

La Figura 15 muestra variación en el valor del índice NBI a los 15, 30, 45 y 60 días desde el inicio de la fertilización diferencial (100% N y 50% N) entre los 8 parentales.

Los resultados señalan un efecto de la disminución del aporte de N y un incremento en el valor del índice NBI a lo largo del cultivo (Tabla 11 y Figura 15). No obstante, existe interacciones entre los diferentes factores estudiados. El efecto del tratamiento sólo empieza a observarse a partir del día 45 de la fertilización diferencial. En ese mismo día, también se observan diferencias entre accesiones, que después disminuyen (Tablas A27, A28, A29 y A30).

El índice NBI (índice del balance del nitrógeno) es la relación del contenido en clorofilas/flavonoides (Dualex Scientific, 2024). Cuando el contenido en clorofilas es más alto el NBI es mayor, en cambio cuando el contenido en flavonoides es mayor el NBI es menor. Este índice se ha relacionado directamente con el estado nutricional de N.

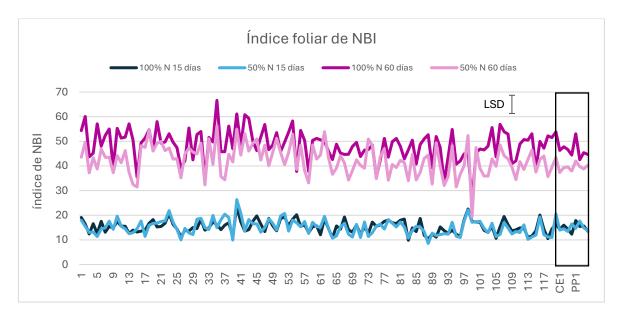


**Figura 15.** Valor del índice NBI en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 11.** ANOVA de tres factores para el valor del índice NBI, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	388,259	7	55,4655	1,92	0,0668
Tratamiento (B)	632,756	1	632,756	21,90	0,0000
Fecha (C)	39587,8	3	13195,9	456,70	0,0000
Interacciones					
AB	382,555	7	54,6507	1,89	0,0713
AC	730,896	21	34,8046	1,20	0,2470
ВС	673,516	3	224,505	7,77	0,0001
ABC	162,372	21	7,732	0,27	0,9996
Residuos	7396,91	256	28,8942		
Total (corregido)	49955,0	319			

El análisis de las 120 accesiones de la población MAGIC (Tablas A31, A32, A33 y A34) muestra la misma tendencia que la de los parentales. A lo largo del cultivo, el valor del índice NBI aumenta en las hojas (Figura 16). También se observa un aumento progresivo de las diferencias en este parámetro debido al efecto del tratamiento.



**Figura 16.** Valor del índice NBI en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la fecha de 60 días.

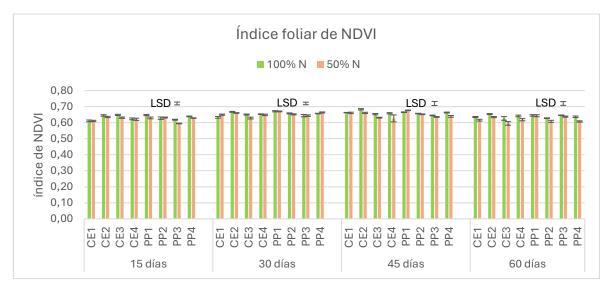
En la Tabla A34 se observa que, a los 60 días del tratamiento diferencial, existen diferencias significativas entre las accesiones y entre los dos tratamientos (100% N y 50% N) realizados. En la Figura 16 se observa que, en el día 60 existen diferencias en el índice NBI entre las accesiones, pero es mucho menor que en el día 15. Esto significa que estas diferencias han ido disminuyendo con el tiempo. Por otro lado, cada accesión reacciona de forma diferente al bajo contenido en nitrógeno. Con todo lo que hemos comentado, podemos afirmar que existe variabilidad dentro de este parámetro. Podemos encontrar accesiones con un alto índice de NBI (por ejemplo, las accesiones 35, 40, 42, 2 y 43 con el 100% N y las accesiones 35, 40, 18, 62 y 42 con el 50% N) y accesiones con un bajo índice de NBI (por ejemplo, las accesiones 99, 92, 32, 75 y 15 con el 100% N y las accesiones 99, 15, 95, 92 y 32 con el 50% N).

En el apartado anterior hemos visto que cuando el aporte de nitrógeno se reduce a la mitad, el contenido en clorofilas disminuye. Por otro lado, en el apartado de los flavonoides hemos observado justo lo contrario, cuando se disminuye el aporte de nitrógeno a la mitad aumenta su contenido. Por ello, cuando nos encontramos con el tratamiento al 50% N el índice NBI es bajo, porque la cantidad de clorofilas es baja y la de flavonoides es alta. Flores Saavedra (2021) encuentra los mismos resultados cuando analiza 30 genotipos de tomate con dos soluciones de nitrógeno.

### 4.1.5. Índice NDVI

La Figura 17 muestra la variación en el valor del índice NDVI a los 15, 30, 45 y 60 días desde el inicio de la fertilización diferencial (100% N y 50% N) entre los 8 parentales.

Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones, un efecto de la disminución de aporte de N y un incremento en el valor de NDVI a lo largo del cultivo, menos en el último día que disminuye (Tabla 12 y Figura 17). No obstante, existen interacciones entre los diferentes factores estudiados. El efecto del tratamiento sólo empieza a observarse a partir del día 45 de la fertilización diferencial. Sin embargo, las diferencias entre accesiones se observan a lo largo de todos los días medidos, menos a los 45 días (Tablas A45, A46, A47 y A48). Menos las accesiones CE3 y PP4, las demás son de interés, porque son capaces de mantener el valor del índice NDVI en el tratamiento con deficiencia de N.

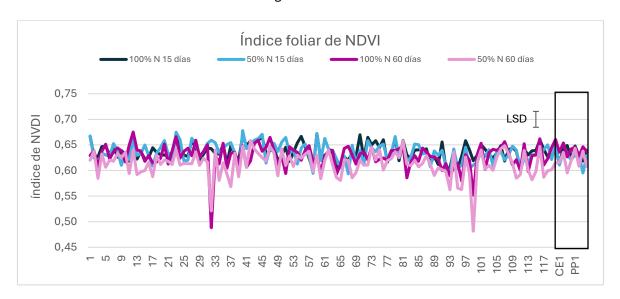


**Figura 17.** Valores del índice NDVI en las hojas de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 12.** ANOVA de tres factores para el valor del índice NDVI, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0246329	7	0,00351899	6,42	0,0000
Tratamiento (B)	0,0097483	1	0,0097483	17,77	0,0000
Fecha (C)	0,050614	3	0,0168713	30,76	0,0000
Interacciones					
AB	0,0037787	7	0,000539815	0,98	0,4431
AC	0,0194835	21	0,000927784	1,69	0,0322
ВС	0,00301363	3	0,00100455	1,83	0,1418
ABC	0,00533309	21	0,000253957	0,46	0,9803
Residuos	0,140412	256	0,000548483		
Total (corregido)	0,257016	319			

El análisis de las 120 accesiones de la población MAGIC (Tablas A39, A40, A41 y A42) muestra la misma tendencia que la de los parentales. En la Figura 18 se observa que entre los 15 y 60 días desde el tratamiento diferencial no existen grandes cambios.



**Figura 18.** NDVI en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la fecha de 60 días.

En la Tabla A42 se observa que, a los 60 días del tratamiento diferencial, existen diferencias significativas entre las accesiones y entre los dos tratamientos (100% N y 50% N) realizados. En la Figura 18 se observa que, en el día 60 con el 100 % N, las accesiones tienen diferente índice de NDVI. Ocurre lo mismo cuando nos fijamos en el tratamiento con el 50% N. Además, cada accesión reacciona de forma diferente al descenso de nitrógeno. Con todo lo que hemos comentado, podemos afirmar que existe variabilidad dentro de este parámetro. Nos encontramos accesiones con un alto índice de NDVI (por ejemplo, las accesiones 12, 23, 47, 116 y 120 con el 100% N y las accesiones 42, 81, 107, 40 y 116 con el 50% N) y accesiones con un bajo índice de NDVI (por ejemplo, las accesiones 32, 99, 96, 82 y 93 con el 100% N y las accesiones 99, 32, 93, 96 y 95 con el 50% N). Cabe destacar que 3 de las 120 accesiones muestran diferencias significativas cuando el índice NDVI es mayor con un 50% N (42, 32 y 94).

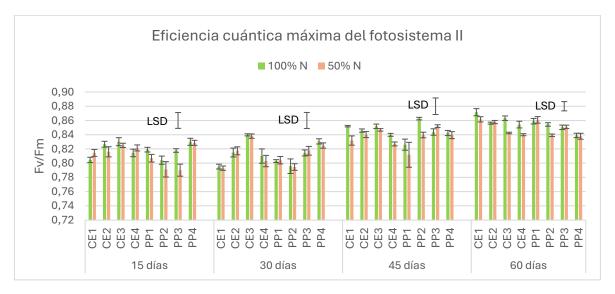
El NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) varía entre -1 y 1. Se calcula con la siguiente ecuación: NDVI = (infrarrojo-rojo) / (infarrojo+rojo) (Manrique, 1999). Los trabajos llevados a cabo sobre la influencia de la fertilización nitrogenada en la variación del índice NDVI han señalado una disminución de este parámetro al disminuir el aporte de N, en los cultivares de tomate Flora Dade y Roma FV (Bodirwa, 2009). Nuestros resultados, si bien muestran mayormente este tipo de respuesta, también señalan la existencia de ciertas líneas de la población MAGIC que son de interés porque en ellas el valor del índice NVDI no se ve afectado por el aporte de N ensayado.

#### 4.1.6. Eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (Fv/Fm)

La Figura 19 muestra la variación de Fv/Fm a los 15, 30, 45 y 60 días desde el inicio de la fertilización diferencial (100% N y 50% N) entre los 8 parentales.

Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones, un efecto de la disminución de aporte de N y un incremento en el Fv/Fm a lo largo del cultivo (Tabla 13 y Figura 19). No obstante, existen interacciones entre los diferentes factores estudiados. Las diferencias entre accesiones varían en función de la fecha considerada (Tablas A43, A44, A45 y A46).

Hay que destacar la accesión CE2, que no sufre una disminución de la eficiencia cuántica máxima al disminuir el aporte de N, en ninguna de las fechas estudiadas, y presenta valores bastante elevados hacia los 60 días de cultivo tras la aplicación de la fertilización diferencial. La accesión CE3 es de interés porque es capaz de mantener un valor alto de Fv/Fm en ambas condiciones de cultivo, durante las primeras fechas estudiadas, si bien muestra un descenso significativo en el tratamiento con deficiencia de N en el último día del periodo estudiado.

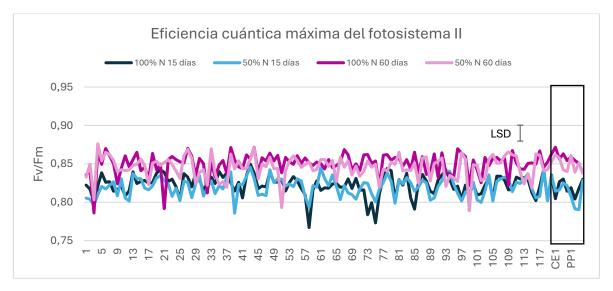


**Figura 19.** Fv/Fm de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)) a los 15, 30, 45 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). En cada fecha se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 13.** ANOVA de tres factores para el Fv/Fm, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100 % N y 50% N) durante 4 fechas.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0116908	7	0,00167012	3,12	0,0035
Tratamiento (B)	0,00303811	1	0,00303811	5,68	0,0179
Fecha (C)	0,092561	3	0,0308537	57,63	0,0000
Interacciones					
AB	0,000778837	7	0,000111262	0,21	0,9835
AC	0,0270592	21	0,00128854	2,41	0,0007
ВС	0,000689362	3	0,000229787	0,43	0,7322
ABC	0,00517469	21	0,000246414	0,46	0,9810
Residuos	0,137044	256	0,00053533		
Total (corregido)	0,278036	319			

El análisis de las 120 accesiones de la población MAGIC (Tablas A47, A48, A49 y A50) muestra la misma tendencia que la de los parentales. A lo largo del cultivo, el Fv/Fm aumenta en las hojas (Figura 20). También se observa un aumento progresivo de las diferencias en este parámetro debido al efecto del tratamiento.



**Figura 20.** Fv/Fm en las hojas de los 120 genotipos más los 8 parentales (dentro del recuadro negro), a los 15 y 60 días del inicio de la fertilización diferencial. Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05) para la fecha de 60 días.

En la Tabla A50 se observa que, a los 60 días del tratamiento diferencial, existen diferencias significativas entre las accesiones y entre los dos tratamientos (100% N y 50% N) realizados. En la Figura 20 se observa que, en el día 60 con el 100% N, las accesiones tiene diferentes valores de Fv/Fm. Ocurre lo mismo cuando nos fijamos en el tratamiento con el 50% N. Además, cada accesión reacciona de forma diferente a la disminución de nitrógeno. Con todo lo que hemos comentado, podemos afirmar que existe variabilidad dentro de este parámetro. Nos encontramos accesiones con valores altos de Fv/Fm (por ejemplo, las accesiones 44, 121, 38, 27 y 6 con el 100% N y las accesiones 4, 44, 33, 27 y 109 con el 50% N) y accesiones con bajos valores de Fv/Fm (por ejemplo, las accesiones 3, 21, 32, 99 y 76 con el 100% N y las accesiones 99, 51, 3, 115 y 37 con el 50% N). Cabe destacar que 3 de las 129 accesiones muestran diferencias significativas cuando el Fv/Fm es mayor con un 50% N (21, 109 y 88).

Como hemos podido observar, cuando existe una disminución de la fertilización nitrogenada, el Fv/Fm disminuye. Bahadur et al. (2015) obtuvo los mismos resultados. Cuando añadió menor cantidad de nitrógeno (80 y 40 kg/ha) los niveles de Fv/Fm eran más bajos que cuando añadió 120 kg/ha de nitrógeno.

# 4.2. Variación en parámetros relacionados con la producción en respuesta a la disminución del aporte de nitrógeno

Los parámetros de producción que se analizan en este trabajo son la producción total de cada accesión, el número medio de frutos por accesión y el peso medio de los frutos.

#### 4.2.1. Producción total

La Figura 21 muestra la producción total de los 8 parentales sometidos a dos tratamientos de fertilización (100% N y 50% N). Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones y un efecto de disminución de la producción al reducir el aporte de N (Tabla 14 y Figura 21). La accesión CE2 tiene mayor producción total en las dos condiciones estudiadas, si bien sufre un descenso significativo de la producción al reducir el aporte de N. La accesión CE3 tiene especial interés, porque es capaz de mantener la producción total alta en condiciones de deficiencia de N.

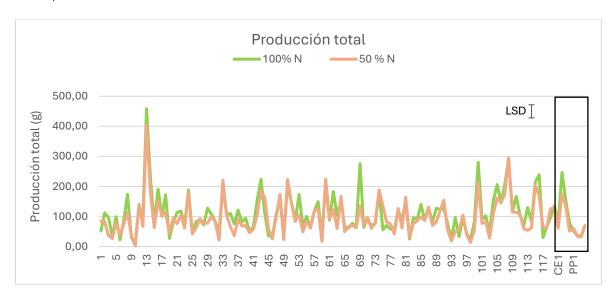


**Figura 21.** Producción total de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)). Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 14.** ANOVA de dos factores para la producción total, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N).

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	260726	7	37246,6	26,53	0,0000
Tratamiento (B)	6035,41	1	6035,41	4,3	0,0422
Interacciones					
AB	11246,5	7	1606,64	1,14	0,3471
Residuos	8983,7	64	1403,71		
Total (corregido)	367846	79			

La producción total de las 120 accesiones de la población MAGIC se muestra en la Figura 22. Se observan diferencias significativas entre las distintas accesiones en ambas condiciones ensayadas y en respuesta a la deficiencia de N.



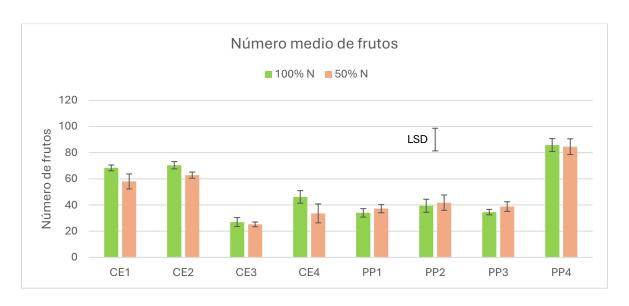
**Figura 22.** Producción total de las 120 accesiones más los 8 parentales (dentro del recuadro negro). Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

En la Figura 22 se observa que, las accesiones tienen diferentes cantidades de producción, ya sea con el 100% N, que con el 50% N. Además, cada accesión reacciona de forma diferente a la disminución de nitrógeno. Con lo que hemos comentado, podemos afirmar que existe variabilidad dentro de este parámetro. Nos encontramos accesiones con altos niveles de producción (por ejemplo, las accesiones 13, 108, 100, 69 y CE2 con el 100% N y las accesiones 13, 108, 60, 50 y 33 con el 50% N) y accesiones con bajos niveles de producción (por ejemplo, las accesiones 10, 6, 98, 93 y 82 con el 100% N y las accesiones 10, 98, 59, 93 y 32 con el 50% N). Cabe destacar que 2 de las 120 accesiones muestran diferencias significativas cuando la producción total es mayor en el medio con un 50% N (75 y 44).

Los trabajos publicados en tomate cultivado (Bodirwa, 2009) muestran una reducción en la producción al disminuir el aporte de N. Nishat et al. (2021) consigue tener mayor producción por ha en los dos niveles intermedios de nitrógeno (250 y 300 kg N ha<sup>-1</sup>), por encima y por debajo de esta cantidad disminuye la producción. Los materiales ensayados en este trabajo, sin embargo, no siempre muestran este descenso en la producción, y no siempre puede explicarse por una baja producción del genotipo que no requiere un aporte nitrogenado elevado, como es el caso de las accesiones 13 y 108 de un gran interés.

#### 4.2.2. Número medio de frutos

La Figura 23 muestra el número medio de frutos de los 8 parentales sometidos a dos tratamientos de fertilización (100% N y 50% N). Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones, en ambas condiciones de fertilización estudiadas. Sin embargo, el nº de frutos no se ve afectado significativamente por la disminución del aporte de N (Tabla 15 y Figura 23).

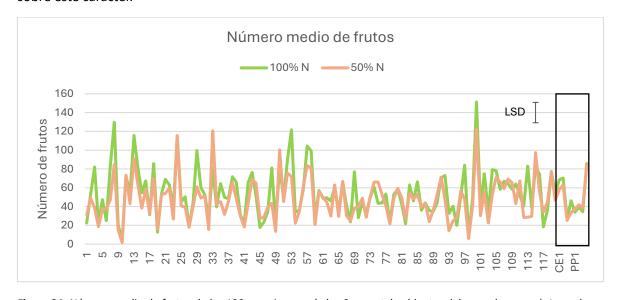


**Figura 23.** Número medio de frutos de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)). Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 15.** ANOVA de dos factores para el número medio de frutos, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N).

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	28300,2	7	4042,88	10,80	0,0000
Tratamiento (B)	177,012	1	177,012	0,47	0,4942
Interacciones					
AB	730,487	7	104,355	0,28	0,9601
Residuos	23960,8	64	374,387		
Total (corregido)	53168,5	79			

El número medio de frutos de las 120 accesiones de la población MAGIC estudiada, se presenta en la Figura 24. Se observa la existencia de diferencias significativas entre accesiones en las dos condiciones estudiadas para el carácter nº de frutos. Asimismo, aparece un efecto del aporte de N sobre este carácter.



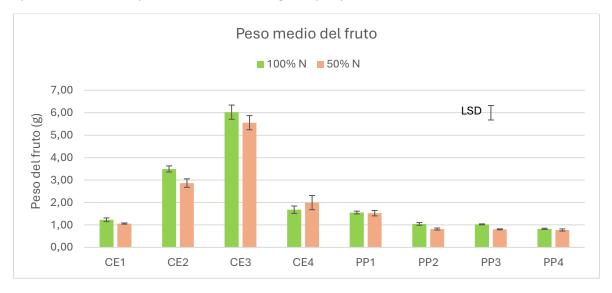
**Figura 24.** Número medio de frutos de las 120 accesiones más los 8 parentales (dentro del recuadro negro). Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

En la Figura 24 se observa que, las accesiones tienen diferente número de frutos, ya sea con el 100% N, que con el 50% N. Además, cada accesión reacciona de forma diferente a la disminución de nitrógeno. Con lo que hemos comentado, podemos afirmar que existe variabilidad dentro de este parámetro. Nos encontramos accesiones con gran cantidad de número de frutos (por ejemplo, las accesiones 100, 8, 53, 13 y 24 con el 100% N y las accesiones 100, 33, 24, 50 y 115 con el 50% N) y accesiones con un bajo número de frutos (por ejemplo, las accesiones 10, 98, 19, 45 y 117 con el 100% N y las accesiones 10, 98, 49, 93 y 9 con el 50% N). Cabe destacar que 2 de las 120 accesiones muestran diferencias significativas cuanto el número medio de frutos es mayor en el 50% N (33 y 75).

La disminución del nº de frutos al disminuir el aporte de N ha sido descrita, previamente, en la variedad de tomate Yaqui (Juárez Rivera, 2002). En el caso de Nishat et al. (2021) consigue mantener el número de frutos por planta constante, hasta que el nitrógeno aportado a la planta disminuye a 125 kg N ha<sup>-1</sup>. Nuestros resultados muestran una gran heterogeneidad de respuesta en las accesiones de la población MAGIC analizada, si bien en los parentales no se observa un efecto de la caída en el aporte de N sobre el nº de frutos.

#### 4.2.3. Peso medio del fruto

La Figura 25 muestra el peso medio de frutos de los 8 parentales sometidos a dos tratamientos de fertilización (100% N y 50% N). Los resultados señalan la existencia de variación entre accesiones, pero no un efecto del tratamiento de fertilización (Tabla 16 y Figura 25). Cabe destacar la CE3 como aquella con un mayor tamaño medio del fruto. Hay que señalar que si bien las diferencias existentes en el nº de frutos o el tamaño del mismo, debidas al aporte de N diferencial, no resultan significativas, al considerar conjuntamente los dos caracteres, sí que observamos un efecto del aporte de N sobre la producción total en los genotipos parentales.

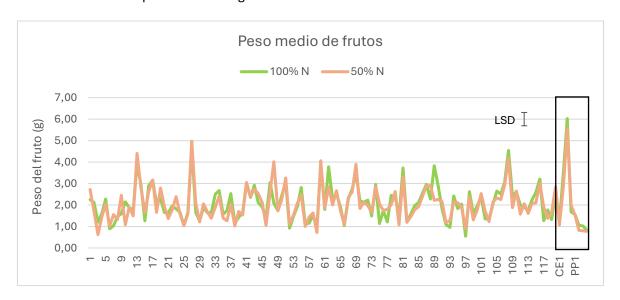


**Figura 25.** Peso medio de frutos de los genotipos parentales (4 accesiones *de S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (CE1, CE2, CE3, CE4) y las 4 accesiones de *S. pimpinellifolium* (PP1, PP2, PP3, PP4)). Los valores son medias de 5 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

**Tabla 16.** ANOVA de dos factores para el peso medio de fruto, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N).

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	204,84	7	29,2629	56,17	0,0000
Tratamiento (B)	0,68275	1	0,68275	1,31	0,2566
Interacciones					
AB	1,44013	7	0,205733	0,39	0,9020
Residuos	33,3449	64	0,521013		
Total (corregido)	240,308	79			

La Figura 26 muestra el peso medio del fruto de las 120 accesiones de la población MAGIC analizada. Se observa diferencias significativas entre accesiones en ambos tratamientos de fertilización, así como un efecto del aporte de N en algunas accesiones.



**Figura 26.** Peso medio de frutos de las 120 accesiones más los 8 parentales (dentro del recuadro negro). Los valores son medias de 3 plantas diferentes (±error estándar). Se indica el valor de LSD (Least significant difference P<0,05).

En la Figura 26 se observa que, las accesiones tienen diferente peso de los frutos, ya sea con el 100% N, que con el 50% N. Además, cada accesión reacciona de forma diferente a la disminución de nitrógeno. Con lo que hemos comentado, podemos afirmar que existe variabilidad dentro de este parámetro. Nos encontramos accesiones con un alto peso del fruto (por ejemplo, las accesiones CE3, 27, 108, 13 y 60 con el 100% N y las accesiones CE3, 27, 13, 108 y 60 con el 50% N) y accesiones con un bajo peso del fruto (por ejemplo, las accesiones 97, PP4, 6, 52 y 93 con el 100% N y las accesiones 3, 59, PP4, PP3 y PP2 con el 50% N). Cabe destacar que 5 de 120 accesiones muestran diferencias significativas cuando el peso medio del fruto es mayor en el medio de 50% N (48, 75, 9, 117 y 88).

De forma general se ha observado que el peso medio de los frutos no se alterado por la cantidad de nitrógeno aportado. Macua et al. (2011) obtiene resultados iguales. Independientemente del tratamiento realizado (0, 50, 100, 150, 200 Kg N/ha) el peso de fruto no muestra diferencias significativas.

#### 4.3. Correlaciones

Del estudio de las correlaciones entre los parámetros fotosintéticos (contenido en clorofilas, flavonoides, antocianinas, Fv/Fm, NBI y NDVI) a los 60 días de tratamiento diferencial cabe destacar la correlación negativa entre el contenido en clorofilas y antocianinas (r=-0,76; P<0,05). Por otro lado, la producción de fruto se correlacionó en mayor medida con el número de frutos (r=0,66) que con el tamaño medio del mismo (r=0,55). En conjunto, nuestros resultados muestran gran variación entre líneas MAGIC para la respuesta a la deficiencia de nitrógeno, tanto en los parámetros fotosintéticos como en los parámetros relacionados con la producción. Esta colección ha sido útil para seleccionar líneas/QTLs asociados a caracteres del tamaño del fruto, a la pigmentación de la planta, la morfología de la hoja y a la precocidad (Arrones et al., 2024). Esto sugiere que se trata de una población MAGIC con un elevado número de recombinaciones diferentes, y por lo tanto, de diversidad alélica (Soriano et al., 2023). En este trabajo, se ha explorado la variabilidad para la NUE en condiciones de bajos insumos de N. Cabe destacar la presencia de genotipos transgresivos para caracteres relacionados con la producción. Actualmente se están desarrollando estudios de asociación GWAS para la identificación de los alelos relacionados. Además, se están realizando estudios de transcriptómica para buscar genes de interés implicados en la definición de la NUE. Además, no se debería obviar la selección directa de materiales de premejora que se puedan incorporar a los programas de mejora para la NUE a corto plazo.

#### 5. CONCLUSIONES

En general, los 8 genotipos parentales de la colección MAGIC mostraron una reducción en el contenido en clorofilas, de los valores de Fv/Fm, NBI y NDVI, así como de la producción de fruto en respuesta a la disminución del aporte de N.

Para todos los parámetros estudiados, se ha encontrado variabilidad entre las accesiones de la población MAGIC, destacando la presencia de genotipos transgresivos en relación a los parentales. Hay que señalar la línea 13 que presenta una producción que dobla la del parental más productivo, incluso en condiciones de limitación de N.

La variabilidad observada en la colección MAGIC confirma la existencia de una amplia diversidad genética, que se podría utilizar para la búsqueda de genes de interés para la mejora de la NUE.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Abenavoli, M. R., Longo, C., Lupini, A., Miller, A. J., Araniti, F., Mercati, F., ... & Sunseri, F. (2016). Phenotyping two tomato genotypes with different nitrogen use efficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, 107, 21-32. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.021

Arrones, A., Antar, O., Pereira-Dias, L., Solana, A., Ferrante, P., Aprea, G., Plazas, M., Prohens, J., Díez, M. J., Giuliano, G., Gramazio, P., & Vilanova, S. (2024). A novel tomato inter-specific (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* and *S. pimpinellifolium*) MAGIC population facilitates trait association and candidate gene discovery in untapped exotic germplasm. *Horticulture Research*, uhae154. https://doi.org/10.1093/hr/uhae154

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(8), 229. https://doi.org/10.3390/biology9080229

AR Store Shop. (2024). Bomba centrífuga multietapa horizontal trifásica Lowara 3HM04P05T5RVBE. <a href="https://ar-storeshop.com/es/electrobombas-centrifugas-horizontales-multietapa/10851-bomba-centrifuga-multietapa-horizontal-trifasica-lowara-3hm04p05t5rvbe-8004314306041.html">https://ar-storeshop.com/es/electrobombas-centrifugas-horizontales-multietapa/10851-bomba-centrifuga-multietapa-horizontal-trifasica-lowara-3hm04p05t5rvbe-8004314306041.html</a> (consulta: 18 de julio de 2024)

Bahadur, A., Lama, T. D., & Chaurasia, S. N. S. (2015). Gas exchange, chlorophyll fluorescence, biomass production, water use and yield response of tomato (Solanum lycopersicum) grown under deficit irrigation and varying nitrogen levels. *Indian J. Agric. Sci*, 85, 224-228.

Barker, A. V., & Pilbeam, D. J. (2007). Handbook of Plant Nutrition. CRC Press.

Blanca, J., Sanchez-Matarredona, D., Ziarsolo, P., Montero-Pau, J., Van der Knaap, E., Díez, M. J., & Cañizares, J. (2022). Haplotype analyses reveal novel insights into tomato history and domestication driven by long-distance migrations and latitudinal adaptations. *Horticulture Research*, *9*, uhac030. https://doi.org/10.1093/hr/uhac030

Bodirwa, K. B. (2009). *Nitrogen variability assessment in tomatoes using the remote sensing technique for precision farming* (Doctoral dissertation).

Cabieses, F., & Lozano, N. (2009). La historia del tomate. *Científica (descontinuada)*, 6(2), 194-197. https://doi.org/10.21142/cient.v6i2.194-197

Cerisola, C. (2015). Fertilidad química. UNLP: La Plata, Argentina, 1-44.

Conant, R. T., Berdanier, A. B., & Grace, P. R. (2013). Patterns and trends in nitrogen use and nitrogen recovery efficiency in world agriculture. *Global Biogeochemical Cycles*, *27*(2), 558-566. <a href="https://doi.org/10.1002/gbc.20053">https://doi.org/10.1002/gbc.20053</a>

De Castro, A. P., Díez, M. J., & Nuez, F. (2010). Resistencia a la enfermedad del rizado amarillo del tomate en la especie silvestre *Solanum lycopersicoides*. *Actas Horticultura*, *55*, 169-170.

Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A., & Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. *Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability*, 159-179.

DUALEX Scientific. (2024). *Folleto DUALEX Scientific*. QDQ Media. <a href="https://estaticos.qdq.com/swdata/files/397/397890546/Folleto-DUALEX-SCIENTIFIC.pdf">https://estaticos.qdq.com/swdata/files/397/397890546/Folleto-DUALEX-SCIENTIFIC.pdf</a> (consulta: 20 de agosto de 2024).

Enriquez, E. E., Toledo, C. B., Fernández, R. G., & Corrales, P. R. (2020). DIAGNÓSTICO EXPERIMENTAL DE DEFICIENCIA DE MACRONUTRIENTES EN CULTIVO DE TOMATE (Solanum lycopersicum L.). *Centrosur Agraria*.

Flores Hernández, L. A. (2015). Los parientes silvestres del jitomate (Solanum lycopersicum L) como fuente de germoplasma en el mejoramiento genético (Master's thesis).

Flores Saavedra, M. I. (2021). Evaluación de accesiones de tomate para eficiencia de uso del nitrógeno.

Flores-Saavedra, M., Villanueva, G., Gramazio, P., Vilanova, S., Mauceri, A., Abenavoli, M. R., Sunseri, F., Prohens, J. & Plazas, M. (2024). Nitrogen use efficiency, growth and physiological parameters in different tomato genotypes under high and low N fertilisation conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 208, 108447. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108447

García, A. Á., & Carril, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, 2(3).

González Vargas, J., Cadenas Tortosa, F., Hernández Jiménez, M. (2003). El cultivo del tomate. En F. Camacho Ferre (Coord.), *Técnicas de producción en cultivos protegidos* (Vol.2, pp. 481-537). Caja Rural Intermediterránea, Cajamar.

Granados García, M. R., Thompson, R. B., Fernández, M. D., Gallardo, M., & Gázquez, J. C. (2007) PERDIDA DE NITRATOS POR LIXIVIACIÓN DE UN CULTIVO DE TOMATE EN SUELO BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO.

Gualazzi, R. J. V. (1997). "Lycopersicum esculentum": una breve historia del tomate. Alquibla: Revista de investigación del Bajo Segura, (3), 105-111.

Juárez Rivera, J. L. (2002) Respuesta de cuatro concentraciones de nitrato, en dos cultivares de tomate (*Lycopercicon esculentum* Mill.).

Krapp, A. (2015). Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. *Current opinion in plant biology*, *25*, 115-122. <a href="https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.010">https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.010</a>

Khavari-Nejad, R. A., Najafi, F., & Tofighi, C. (2009). Diverse responses of tomato to N and P deficiency. *Int. J. Agric. Biol*, 11, 209-213.

Long, J. (1995). De tomates y jitomates en el siglo XVI. Estudios de cultura náhuatl, 25, 239-252.

Macua, J. I., Lahoz, I., Jiménez, E., & Garnica, J. (2011). Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la producción y calidad de un cultivo de tomate de industria en Navarra. *Instituto Técnico y de Gestión Agrícola. Avda. Serapio Huici*, 20-22.

Manrique, E. G. (1999). Índice de vegetación. Aplicación del NDVI. In *Teledetección. Avances y Aplicaciones. VIII Congreso Nacional de Teledetección. Asociación Española de Teledetección. Albacete, AB, España* (pp. 217-219).

Marín, L., & Mayela, L. (2017). *Manual técnico del cultivo del tomate Solanum lycopersicum*. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria.

Maroto Borrego, J. V. (2002). Horticultura herbácea especial. Mundiprensa

Marschner, P. (Ed.). (2011). Marschner's mineral nutrition of higher plants (3a ed.). Academic Pres

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2022). *Anuario de estadística 2022: Capítulo 7, Grupo 6, Sección 27*. <a href="https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2022/default.aspx?parte=3&capitulo=07&grupo=6&seccion=27">https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2022/default.aspx?parte=3&capitulo=07&grupo=6&seccion=27</a>

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2024). Ficha de material vegetal: Ficha 2193. https://www.mapa.gob.es/app/MaterialVegetal/fichaMaterialVegetal.aspx?idFicha=2193

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y Ministerio para la Transición Ecológica (MAPAMA). (2024). *Geoportal SIG MAPAMA*. <a href="https://sig.mapama.gob.es/geoportal/">https://sig.mapama.gob.es/geoportal/</a> (consulta: 26 de mayo de 2024)

National Museum of Natural History, Smithsonian Institution. (2023). Solanum lycopersicum L. In Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (checklist dataset). <a href="https://doi.org/10.5066/f7kh0kbk">https://doi.org/10.5066/f7kh0kbk</a>. Consultado a través de GBIF.org. (Consulta 19 de mayo de 2024)

Navarro-González, I., & Periago, M. J. (2016). El tomate, ¿alimento saludable y/o funcional? *Revista española de nutrición humana y dietética*, 20(4), 323-335. <a href="https://doi.org/10.14306/renhyd.20.4.208">https://doi.org/10.14306/renhyd.20.4.208</a>

Nishat, N. J., Sazib Biswas, M. N. H. M., Rakib, A., & Akter, K. T. (2021). Effect of nitrogen and phosphorus on growth, yield and quality of tomato. *International Journal of Multidisciplinary Perspectives*, 2(01), 33-40.

Nuez, F. (2001). El cultivo del tomate. Mundiprensa

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2024a). FAOSTAT: Rankings de países por exportaciones de productos básicos. FAO. <a href="https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries\_by\_commodity\_exports">https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries\_by\_commodity\_exports</a> (consulta: 12 de mayo de 2024).

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2024b). *FAOSTAT:* Visualización de datos de producción agrícola (QCL). FAO. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize (consulta: 6 de mayo de 2024).

Parra-Gómez, M. A., Lobato-Ortiz, R., García-Zavala, J. J., Reyes-López, D., & Velasco-Alvarado, M. J. (2016). Evaluación de líneas de una cruza interespecífica de tomate. *Revista fitotecnia mexicana*, 39(1), 59-65.

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 in breeding for adaptation to climate change. *Euphytica*, *213*, 1-19. https://doi.org/10.1007/s10681-017-1938-9

Salas Sanjuán, M.C, Urrestarazu, M., & Valera, D. (2003). La contaminación por nitratos en los sistemas agrícolas. *Vida Rural*, 38-41

Soriano, J. M., Rufo, R., & Gadaleta, A. (2023). Los marcadores moleculares en la mejora genética. Engormix, 2023, Maig,,.

Spooner, D. M., Peralta, I. E., & Knapp, S. (2005). Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [Solanum L. section Lycopersicon (Mill.) Wettst.]. *Taxon*, *54*(1), 43-61.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2007). Fisiologia vegetal (Vol. 10). Universitat Jaume I.

## 7. ANEJOS

# 7.1. Sistema de riego

**Tabla A1.** Características del motor SM63HMHA/305. P<sub>N</sub>= Potencia nominal; I<sub>N</sub>=Intensidad nominal; T.amb=Temperatura ambiental (AR Store Shop, 2024).

P <sub>N</sub> kW							Condiciones de funcionamiento		
	Δ				Altitud	T. amb			
	220 V	230 V	240 V	240 V 380 V 400 V 415 V				Min/Max	
			I <sub>N</sub> (A)				ōC		
0,5	2,42	2,51	2,65	1,40	1,45	1,53	≤ 1000	-15/50	
			Rend	limiento r	٦n				
	Δ 220 V			Δ 230 V			Δ 240	V	
	Y 380 V		Y 400 V			Y 415	V		
4/4	3/4	2/4	4/4	3/4	2/4	4/4	3/4	2/4	
73	76,1	73,4	73	73,8	69,6	73	71,3	65,7	

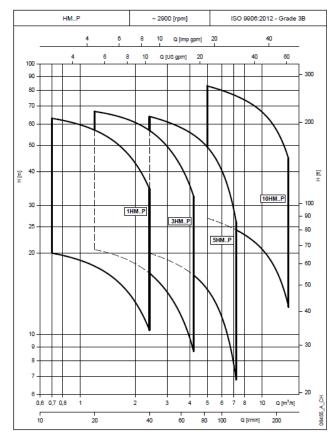


Figura A1. Gama de prestaciones hidráulicas a 50 Hz de la serie HM..P (AR Store Shop, 2024).

**Tabla A2.** Tabla de rendimiento hidráulico de la bomba 3HM04 trifásica con motor SM63HM../305.  $P_N$  = Potencia nominal;  $P_1$  = Potencia absorbida;  $P_1$  = Potencia absorbida;  $P_2$  = Corriente absorbida;  $P_3$  = Cor

Motor		Electrobo	mba				^				
I (A)						ζ					
P <sub>N</sub>	P <sub>N</sub> P <sub>1</sub>	( <b>W</b> ) 220-240 380-415 V	I/min 0	20	28	36	44	52	60	70	
(kW)	(kW)		380-415 V	m³/h 0	1,2	1,7	2,2	2,6	3,1	3,6	4,2
	V 000 120 V			H= altura total en metros de columna de agua.							
0,5	0,72	2,68	1,55	45,8	40,6	37,8	34,5	30,7	26,7	22,3	16,3

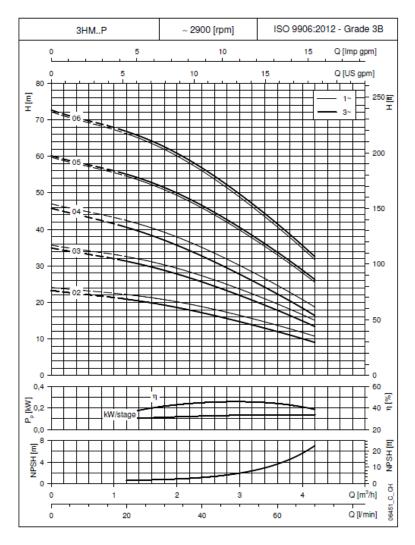


Figura A2. Características de funcionamiento de las bombas 3HM...P (AR Store Shop, 2024).

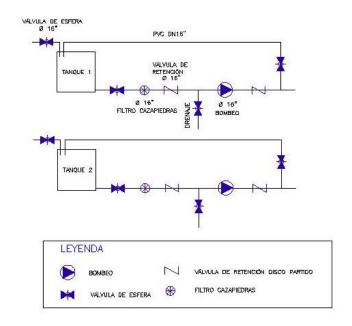


Figura A3. Esquema del cabezal de riego.

### 7.2. Resultados

**Tabla A3.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	79,2026	7	11,3147	1,51	0,1788
Tratamiento (B)	1,02604	1	1,02604	0,14	0,7123
Interacciones					
AB	24,9554	7	3,56506	0,48	0,8479
Residuos	478,521	64	7,47689		
Total (corregido)	583,705	79			

**Tabla A4.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	107,126	7	15,3037	2,86	0,0116
Tratamiento (B)	3,77624	1	3,77624	0,71	0,4040
Interacciones					
AB	11,3364	7	1,61949	0,30	0,9520
Residuos	342,436	64	5,35056		
Total (corregido)	464,675	79			

**Tabla A5.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	70,2627	7	10,0375	2,22	0,0443
Tratamiento (B)	53,6805	1	53,6805	11,85	0,0010
Interacciones					
AB	27,9229	7	3,98898	0,88	0,5270
Residuos	289,945	64	4,53039		
Total (corregido)	441,811	79			

**Tabla A6.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	62,8566	7	8,97951	1,22	0,3044
Tratamiento (B)	188,274	1	188,274	25,60	0,0000
Interacciones					
AB	29,1359	7	4,16227	0,57	0,7807
Residuos	470,652	64	7,35394		
Total (corregido)	750,919	79			

**Tabla A7.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	3694,23	127	29,0885	4,50	0,0000
Tratamiento (B)	12,4486	1	12,4486	1,93	0,1658
Interacciones					
AB	591,31	127	4,65598	0,72	0,9876
Residuos	3510,85	543	6,46566		
Total (corregido)	7817,21	798			

**Tabla A8.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	4581,71	127	36,0764	5,75	0,0000
Tratamiento (B)	1,68098	1	1,68098	0,27	0,6049
Interacciones					
AB	573,734	127	4,51759	0,72	0,9876
Residuos	3406,51	543	6,2735		
Total (corregido)	8554,82	798			

**Tabla A9.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	4474,84	127	35,235	5,84	0,0000
Tratamiento (B)	346,314	1	346,314	57,41	0,0000
Interacciones					
AB	688,388	127	5,42038	0,90	0,7670
Residuos	3275,39	543	6,03203		
Total (corregido)	8786,43	798			

**Tabla A10.** ANOVA de dos factores para el contenido en clorofila, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	6577,31	127	51,7899	6,31	0,0000
Tratamiento (B)	1277,42	1	1277,42	155,57	0,0000
Interacciones					
AB	987,433	127	7,77506	0,95	0,6406
Residuos	4458,73	543	8,21128		
Total (corregido)	13329,4	798			

**Tabla A11.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,593392	7	0,0847702	1,08	0,3860
Tratamiento (B)	0,00127201	1	0,00127201	0,02	0,8991
Interacciones					
AB	0,255086	7	0,0364408	0,46	0,8565
Residuos	5,01923	64	0,0784255		
Total (corregido)	5,86898	79			

**Tabla A12.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,263659	7	0,0376655	1,18	0,3259
Tratamiento (B)	0,016188	1	0,016188	0,51	0,4787
Interacciones					
AB	0,139282	7	0,0198974	0,62	0,7340
Residuos	2,04015	64	0,0318773		
Total (corregido)	2,45928	79			

**Tabla A 13.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,141794	7	0,0202563	4,85	0,0002
Tratamiento (B)	0,00748845	1	0,00748845	1,79	0,1851
Interacciones					
AB	0,0508572	7	0,00726531	1,74	0,1152
Residuos	0,267037	64	0,00417245		
Total (corregido)	0,467177	79			

**Tabla A14.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,069769	7	0,009967	2,38	0,0315
Tratamiento (B)	0,0161596	1	0,0161596	3,86	0,0538
Interacciones					
AB	0,0129505	7	0,00185007	0,44	0,8721
Residuos	0,267967	64	0,00418698		
Total (corregido)	0,366846	79			

**Tabla A15.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	32,1653	127	0,25327	3,60	0,0000
Tratamiento (B)	0,353248	1	0,353248	5,01	0,0255
Interacciones					
AB	3,41421	127	0,0268836	0,38	1,0000
Residuos	38,2484	543	0,0704391		
Total (corregido)	74,1547	798			

**Tabla A16.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	13,2027	127	0,103958	4,87	0,0000
Tratamiento (B)	0,00082298	1	0,00082298	0,04	0,8444
Interacciones					
AB	1,67439	127	0,0131841	0,62	0,9994
Residuos	11,5913	543	0,0213468		
Total (corregido)	26,4663	798			

**Tabla A17.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	3,47163	127	0,0273356	3,89	0,0000
Tratamiento (B)	0,195794	1	0,195794	27,85	0,0000
Interacciones					
AB	0,601533	127	0,00473648	0,67	0,9964
Residuos	3,81778	543	0,00703091		
Total (corregido)	8,08351	798			

**Tabla A18.** ANOVA de dos factores para el contenido en flavonoides, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	1,36898	127	0,0107794	3,05	0,0000
Tratamiento (B)	0,126094	1	0,126094	34,64	0,0000
Interacciones					
AB	0,278135	127	0,00219004	0,62	0,9994
Residuos	1,92103	543	0,0035378		
Total (corregido)	3,69797	798			

**Tabla A19.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0347573	7	0,00496534	3,22	0,0054
Tratamiento (B)	5E-8	1	5E-8	0,00	0,9955
Interacciones					
AB	0,0118894	7	0,00169848	1,10	0,3724
Residuos	0,0985772	64	0,00154027		
Total (corregido)	0,145224	79			

**Tabla A20.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0020794	7	0,000297057	1,05	0,4051
Tratamiento (B)	0,0000128	1	0,0000128	0,05	0,8321
Interacciones					
AB	0,001474	7	0,000210571	0,75	0,6347
Residuos	0,0180836	64	0,000282556		
Total (corregido)	0,0216498	79			

**Tabla A21.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,00241379	7	0,000344827	1,27	0,2812
Tratamiento (B)	0,00291611	1	0,00291611	10,71	0,0017
Interacciones					
AB	0,00206699	7	0,000295284	1,08	0,3838
Residuos	0,0174276	64	0,000272306		
Total (corregido)	0,0248245	79			

**Tabla A22.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,00135339	7	0,000193341	0,41	0,8923
Tratamiento (B)	0,00786061	1	0,00786061	16,70	0,0001
Interacciones					
AB	0,00114189	7	0,000163127	0,35	0,9292
Residuos	0,0301296	64	0,000470775		
Total (corregido)	0,0404855	79			

**Tabla A23.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,790908	127	0,00622762	4,65	0,0000
Tratamiento (B)	0,000734187	1	0,000734187	0,55	0,4593
Interacciones					
AB	0,119063	127	0,000937505	0,70	0,9925
Residuos	0,727071	543	0,00133899		
Total (corregido)	1,63894	798			

**Tabla A24.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,166964	127	0,00131468	5,16	0,0000
Tratamiento (B)	0,0000149189	1	0,0000149189	0,06	0,8088
Interacciones					
AB	0,0258086	127	0,000203218	0,80	0,9392
Residuos	0,138238	543	0,000254581		
Total (corregido)	0,330742	798			

**Tabla A25.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,187489	127	0,00147629	4,35	0,0000
Tratamiento (B)	0,0098193	1	0,0098193	28,91	0,0000
Interacciones					
AB	0,0321004	127	0,000252759	0,74	0,9785
Residuos	0,184401	543	0,000339596		
Total (corregido)	0,414178	798			

**Tabla A 26.** ANOVA de dos factores para el contenido en antocianinas, medido en 120 accesiones más los 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,252773	127	0,00199033	4,35	0,0000
Tratamiento (B)	0,0654435	1	0,0654435	142,88	0,0000
Interacciones					
AB	0,0481169	127	0,000378873	0,83	0,9039
Residuos	0,248709	543	0,0004580		
Total (corregido)	0,616873	798			

**Tabla A27.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	81,6174	7	11,6596	0,91	0,5012
Tratamiento (B)	0,0117612	1	0,0117612	0,00	0,9759
Interacciones					
AB	91,2039	7	13,0291	1,02	0,4246
Residuos	815,956	64	12,7493		
Total (corregido)	988,789	79			

**Tabla A28.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	343,953	7	49,1361	1,38	0,2300
Tratamiento (B)	0,756605	1	0,756605	0,02	0,8846
Interacciones					
AB	124,728	7	17,8183	0,50	0,8314
Residuos	2282,31	64	35,6611		
Total (corregido)	2751,75	79			

**Tabla A29.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	392,065	7	56,0094	2,18	0,0473
Tratamiento (B)	324,174	1	324,174	12,64	0,0007
Interacciones					
AB	210,671	7	30,0959	1,17	0,3305
Residuos	1641,29	64	25,6452		
Total (corregido)	2568,2	79			

**Tabla A30.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	301,519	7	43,0741	1,04	0,4143
Tratamiento (B)	981,33	1	981,33	23,63	0,0000
Interacciones					
AB	118,323	7	16,9033	0,41	0,8945
Residuos	2657,35	64	41,5211		
Total (corregido)	4058,53	79			

**Tabla A31.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	5326,85	127	41,9437	3,34	0,0000
Tratamiento (B)	3,36969	1	3,36969	0,27	0,6048
Interacciones					
AB	751,638	127	5,91841	0,47	1,0000
Residuos	6822,39	543	12,5643		
Total (corregido)	12908,2	798			

**Tabla A32.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	25582,1	127	201,434	5,78	0,0000
Tratamiento (B)	4,40764	1	4,40764	0,13	0,7221
Interacciones					
AB	2651,81	127	20,8804	0,60	0,9997
Residuos	18908,7	543	34,8226		
Total (corregido)	47103,8	798			

**Tabla A33.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	19187,5	127	151,083	4,48	0,0000
Tratamiento (B)	2937,4	1	2937,4	87,05	0,0000
Interacciones					
AB	4036,06	127	31,78	0,94	0,6547
Residuos	18322,7	543	33,7435		
Total (corregido)	44482,6	798			

**Tabla A34.** ANOVA de dos factores para valor del índice NBI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	24068,0	127	189,512	4,47	0,0000
Tratamiento (B)	7534,23	1	7534,23	177,64	0,0000
Interacciones					
AB	4363,14	127	34,3555	0,81	0,9262
Residuos	23029,7	543	42,412		
Total (corregido)	59181,9	798			

**Tabla A35.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0122632	7	0,00175188	4,41	0,0005
Tratamiento (B)	0,0019405	1	0,0019405	4,89	0,0306
Interacciones					
AB	0,00157501	7	0,000225001	0,57	0,7802
Residuos	0,0254122	64	0,000397066		
Total (corregido)	0,0411909	79			

**Tabla A36.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,00892898	7	0,00127557	4,08	0,0009
Tratamiento (B)	0,0000893398	1	0,0000893398	0,29	0,5947
Interacciones					
AB	0,00217329	7	0,000310469	0,99	0,4442
Residuos	0,0200002	64	0,000312503		
Total (corregido)	0,0311918	79			

**Tabla A37.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0114654	7	0,00163792	2,10	0,0566
Tratamiento (B)	0,00340981	1	0,00340981	4,36	0,0407
Interacciones					
AB	0,0036929	7	0,000527558	0,67	0,6925
Residuos	0,0500295	64	0,00078171		
Total (corregido)	0,0685976	79			

**Tabla A38.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0114588	7	0,00163698	2,33	0,0350
Tratamiento (B)	0,00732229	1	0,00732229	10,42	0,0020
Interacciones					
AB	0,0016706	7	0,000238657	0,34	0,9327
Residuos	0,0449698	64	0,000702652		
Total (corregido)	0,0654215	79			

**Tabla A39.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,205131	127	0,0016152	4,03	0,0000
Tratamiento (B)	0,000648948	1	0,000648948	1,62	0,2037
Interacciones					
AB	0,0389346	127	0,000306572	0,77	0,9669
Residuos	0,217578	543	0,000400696		
Total (corregido)	0,462731	798			

**Tabla A40.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,154205	127	0,00121421	4,54	0,0000
Tratamiento (B)	0,00104351	1	0,00104351	3,90	0,0487
Interacciones					
AB	0,0296098	127	0,000233148	0,87	0,8263
Residuos	0,145197	543	0,000267398		
Total (corregido)	0,330209	798			

**Tabla A41.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,209178	127	0,00164707	3,86	0,0000
Tratamiento (B)	0,0338035	1	0,0338035	79,28	0,0000
Interacciones					
AB	0,0458049	127	0,000360669	0,85	0,8750
Residuos	0,231534	543	0,000426398		
Total (corregido)	0,520383	798			

**Tabla A42.** ANOVA de dos factores para valor del índice NDVI, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,378974	127	0,00298405	3,95	0,0000
Tratamiento (B)	0,0463742	1	0,0463742	61,41	0,0000
Interacciones					
AB	0,0654891	127	0,000515662	0,68	0,9953
Residuos	0,410067	543	0,000755188		
Total (corregido)	0,902087	798			

**Tabla A43.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0086242	7	0,00123203	1,99	0,0705
Tratamiento (B)	0,0008712	1	0,0008712	1,41	0,2402
Interacciones					
AB	0,0025188	7	0,000359829	0,58	0,7692
Residuos	0,0396716	64	0,000619869		
Total (corregido)	0,0516858	79			

**Tabla A44.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0170586	7	0,00243694	3,84	0,0015
Tratamiento (B)	0,0000406125	1	0,0000406125	0,06	0,8011
Interacciones					
AB	0,000230287	7	0,0000328982	0,05	0,9998
Residuos	0,040626	64	0,000634781		
Total (corregido)	0,0579555	79			

**Tabla A45.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,0076918	7	0,00109883	1,63	0,1437
Tratamiento (B)	0,00178605	1	0,00178605	2,65	0,1087
Interacciones					
AB	0,00180175	7	0,000257393	0,38	0,9100
Residuos	0,0432052	64	0,000675081		
Total (corregido)	0,0544848	79			

**Tabla A46.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,00537549	7	0,000767927	3,63	0,0023
Tratamiento (B)	0,00102961	1	0,00102961	4,87	0,0310
Interacciones					
AB	0,00140369	7	0,000200384	0,95	0,4772
Residuos	0,0135416	64	0,000211588		
Total (corregido)	0,0213494	79			

**Tabla A47.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 15 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,110806	127	0,000872488	2,34	0,0000
Tratamiento (B)	0,00116991	1	0,00116991	3,14	0,0771
Interacciones					
AB	0,0244585	127	0,000192586	0,52	1,0000
Residuos	0,20245	543	0,000372836		
Total (corregido)	0,339147	798			

**Tabla A48.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 30 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,207079	127	0,00163045	3,14	0,0000
Tratamiento (B)	0,000337613	1	0,000337613	0,65	0,4203
Interacciones					
AB	0,0229972	127	0,00018108	0,35	1,000
Residuos	0,281855	543	0,00051907		
Total (corregido)	0,512205	798			

**Tabla A49.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 45 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,16374	127	0,00128929	1,54	0,0006
Tratamiento (B)	0,00368063	1	0,00368063	4,40	0,0365
Interacciones					
AB	0,0748951	127	0,000589725	0,70	0,9916
Residuos	0,454602	543	0,000837204		
Total (corregido)	0,697203	798			

**Tabla A50.** ANOVA de dos factores para el Fv/Fm, medido en 120 accesiones más 8 parentales sometidas a dos tratamientos (100% N y 50% N) a los 60 días del tratamiento diferencial.

Efectos principales	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Accesiones (A)	0,122552	127	0,000964977	2,86	0,0000
Tratamiento (B)	0,00422142	1	0,00422142	12,52	0,0004
Interacciones					
AB	0,0375439	127	0,000295621	0,88	0,8169
Residuos	0,183155	543	0,000337303		
Total (corregido)	0,347739	798			