



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias, Agroambientales y Alimentarias

Bases genéticas y moleculares de la fenología y la calidad del fruto en ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) y estudio de la transmisión de la autocompatibilidad y resistencia al virus de la sharka (Plum pox virus) en híbridos interespecíficos ciruelo japonés × albaricoquero (*P. salicina* × *P. armeniaca* L.)

María Nicolás Almansa

2024

Director: Dr. D. Pedro Martínez Gómez

Codirector: Dr. D. David Ruiz González

Parte de los resultados expuestos en la presente Tesis Doctoral, titulada "Bases genéticas y moleculares de la fenología y la calidad del fruto en ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) y estudio de la transmisión de la autocompatibilidad y resistencia al virus de la sharka (Plum pox virus) en híbridos interespecíficos ciruelo japonés x albaricoquero (*P. salicina* x *P. armeniaca* L.)", han sido publicados en revista científica, por lo que se presenta bajo la modalidad de **tesis por compendio** de la siguiente **publicación**:

- **Nicolás-Almansa, M.**, Ruiz, D., Salazar, J. A., Guevara, A., Cos, J., Martínez-Gómez, P. & Rubio, M. (2023). Phenotypic and molecular characterization of new interspecific Japanese plum× apricot hybrids (plumcots). *Scientia Horticulturae*, 318, 112131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112131>





El **Dr. D. Pedro Martínez Gómez**, director, y el **Dr. D. David Ruiz González** codirector de la tesis doctoral titulada **“Bases genéticas y moleculares de la fenología y la calidad del fruto en ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) y estudio de la transmisión de la autocompatibilidad y resistencia al virus de la Sharka (Plum pox virus) en híbridos interespecíficos ciruelo japonés x albaricoquero (*P. salicina* x *P. armeniaca* L.)”**

INFORMAN:

Que **Dña. María Nicolás Almansa** ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado **“Bases genéticas y moleculares de la fenología y la calidad del fruto en ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) y estudio de la transmisión de la autocompatibilidad y resistencia al virus de la Sharka (Plum pox virus) en híbridos interespecíficos ciruelo japonés x albaricoquero (*P. salicina* x *P. armeniaca* L.)”** conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos para los efectos oportunos, en Murcia a 15 de julio de 2024

Director de la tesis

Dr. D. Pedro Martínez Gómez

Codirector de la tesis

Dr. D. David Ruiz González



La **Dra. Dña. Juana Fernández López**, Coordinadora del Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias, Agroambientales y Alimentarias (ReTos-AAA) de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH),

INFORMA:

Que **Dña. María Nicolás Almansa** ha realizado bajo la supervisión de nuestro Programa de Doctorado el trabajo titulado **“Bases genéticas y moleculares de la fenología y la calidad del fruto en ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) y estudio de la transmisión de la autocompatibilidad y resistencia al virus de la Sharka (*Plum pox virus*) en híbridos interespecíficos ciruelo japonés × albaricoquero (*P. salicina* × *P. armeniaca* L.)”** conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo para los efectos oportunos, en Orihuela a 12 de julio de 2024

Profa. Dra. Dña. Juana Fernández López

Coordinadora del Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias,
Agroambientales y Alimentarias (ReTos-AAA)



El firmante de la presente Tesis Doctoral ha disfrutado de un contrato predoctoral del programa de Formación de Profesorado Universitario (FPU), con referencia FPU16/03896, concedido por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte del Gobierno de España.

INDICE

RESUMEN	23
ABSTRACT	27
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	35
1.1. EL CIRUELO JAPONÉS	35
1.1.1. Origen y distribución del cultivo	35
1.1.2. Taxonomía y descripción botánica.....	36
1.1.3. Biología reproductiva y adaptación agroclimática.....	40
1.1.4. Calidad del fruto.....	43
1.1.5. Importancia económica	44
1.1.6. Variedades cultivadas.....	48
1.1.7. Problemática del cultivo.....	50
1.2. MEJORA GENÉTICA EN CIRUELO JAPONÉS.....	50
1.2.1. Programas de mejora genética y objetivos en ciruelo japonés	50
1.2.2. Desarrollo de híbridos interespecíficos <i>P. salicina</i> × <i>P. armeniaca</i> (plumcots).....	53
1.2.3. Genómica y marcadores moleculares para selección asistida	55
1.2.3.1. Identificación de genes mayores y QTLs en especies del género <i>Prunus</i>	55
1.2.3.2. Utilización de marcadores moleculares para mejora asistida en <i>Prunus</i>	59
1.2.3.3. Recursos genéticos y genómicos en ciruelo japonés	61
1.2.3.4. Selección asistida por marcadores en ciruelo japonés.....	64
1.3. OBJETIVOS	65
2. MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES EXPERIMENTALES	69
2.1. MATERIAL VEGETAL INTRAESPECÍFICO DE CIRUELO JAPONÉS	69
2.1.1. Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'	70
2.1.2. Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'	71
2.1.3. Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'	72
2.2. MATERIAL VEGETAL INTERESPECÍFICO <i>Prunus salicina</i> × <i>Prunus armeniaca</i>	73
2.3. CONDICIONES EXPERIMENTALES.....	78
2.3.1. Localización y descripción de la parcela experimental.....	78
2.3.2. Condiciones agroclimáticas	79
2.3.3. Condiciones del cultivo.....	81

3. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y ESTUDIO DEL MODO DE HERENCIA DE CARACTERES FENOLÓGICOS Y DE CALIDAD DE FRUTO	85
3.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	85
3.2. MATERIAL VEGETAL	90
3.3. METODOLOGÍA.....	90
3.3.1. Toma de muestras.....	90
3.3.2. Evaluación de caracteres fenológicos	91
3.3.2.1. Fechas de floración, fecha de maduración y ciclo de desarrollo del fruto	91
3.3.2.2. Intensidad de floración y productividad.....	91
3.3.3. Evaluación de caracteres físicos del fruto.....	91
3.3.3.1. Peso del fruto	91
3.3.3.2. Diámetro del fruto.....	92
3.3.3.3. Forma del fruto	92
3.3.3.4. Profundidad de la sutura.....	93
3.3.3.5. Presencia de lenticelas en la piel.....	94
3.3.3.6. Adhesión del hueso a la pulpa.....	94
3.3.3.7. Hueso roto	95
3.3.3.8. Color del fruto	96
3.3.3.9. Firmeza.....	97
3.3.4. Evaluación de caracteres organolépticos del fruto.....	98
3.3.4.1. Contenido en sólidos solubles.....	98
3.3.4.2. Acidez y pH del fruto	98
3.3.5. Análisis estadístico.....	99
3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	100
3.4.1. Valores descriptivos y análisis estadístico de la caracterización fenotípica en las poblaciones evaluadas	100
3.4.2. Transmisión de caracteres fenológicos y de calidad del fruto	113
3.4.2.1. Caracteres fenológicos	113
3.4.2.2. Transmisión de caracteres físicos de la calidad del fruto.....	120
3.4.2.3. Peso del fruto	120
3.4.2.4. Forma del fruto	121
3.4.2.5. Profundidad de la sutura.....	122
3.4.2.6. Presencia de lenticelas.....	123
3.4.2.7. Adhesión del hueso a la pulpa.....	124

3.4.2.8. Hueso roto	125
3.4.2.9. Firmeza.....	126
3.4.2.10. Color de piel	128
3.4.2.11. Color de pulpa	131
3.4.2.12. Caracteres organolépticos de la calidad del fruto.....	133
3.4.2.13. Contenido en sólidos solubles.....	133
3.4.2.14. Acidez y pH del fruto.....	135
3.4.3. Correlaciones entre los diferentes caracteres fenológicos y de calidad del fruto evaluados.....	138
3.4.3.1. Correlaciones entre caracteres fenológicos	138
3.4.3.2. Correlaciones entre caracteres fenológicos y de calidad del fruto	140
3.4.3.3. Correlaciones entre caracteres de calidad del fruto.....	143
3.5. CONCLUSIONES.....	153
4. GENOTIPADO, CONSTRUCCIÓN DE MAPAS DE LIGAMIENTO GENÉTICO Y ANÁLISIS DE QTLs	157
4.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	157
4.2. MATERIAL VEGETAL.....	159
4.3. METODOLOGÍA.....	159
4.3.1. Toma de muestras, extracción y cuantificación de ADN	161
4.3.2. Secuenciación y ensamblado <i>de novo</i> del genoma completo de los genitores.....	162
4.3.3. Determinación de la variación genética en los genitores.....	162
4.3.4. Determinación del genotipo de los descendientes	163
4.3.5. Construcción de mapas de ligamiento genético y análisis de QTLs	164
4.3.6. Análisis del efecto alélico de SNPs.....	165
4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	165
4.4.1. Secuenciación del genoma completo (<i>Whole Genome Sequencing</i> , WGS) y ensamblaje de los genomas de los parentales.....	165
4.4.2. Determinación de la variación genética en los genitores.....	168
4.4.3. Determinación del genotipo de los descendientes	169
4.4.4. Mapas de ligamiento genético	171
4.4.5. Detección y análisis de QTLs e identificación de su efecto alélico.....	186
4.4.5.1. Caracteres fenológicos	186
4.4.5.1.1. Fecha de floración.....	194
4.4.5.1.2. Intensidad de floración	199

4.4.5.1.3. Fecha de maduración y periodo de desarrollo del fruto	202
4.4.5.1.4. Productividad	208
4.4.5.2. Caracteres físicos	211
4.4.5.2.1. Peso y diámetro del fruto	228
4.4.5.2.2. Forma del fruto	235
4.4.5.2.3. Profundidad de la sutura	240
4.4.5.2.4. Presencia de lenticelas en la piel	242
4.4.5.2.5. Adhesión del hueso a la pulpa	246
4.4.5.2.6. Hueso roto	251
4.4.5.2.7. Color visual de fondo	253
4.4.5.2.8. Color de piel	258
4.4.5.2.9. Color de pulpa	270
4.4.5.2.10. Firmeza	277
4.4.5.3. Caracteres organolépticos	284
4.4.5.3.1. Contenido en sólidos solubles	288
4.4.5.3.2. Acidez y pH	292
4.5. CONCLUSIONES	300
5. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y MOLECULAR DE NUEVOS HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE CIRUELO JAPONÉS × ALBARICOQUERO (PLUMCOTS)...	305
6. CONCLUSIONES GENERALES	323
7. BIBLIOGRAFÍA	329
8. ANEXO	365

ÍNDICE DE FIGURAS

INTRODUCCIÓN GENERAL

Figura 1.1. Origen y dispersión de ciruelo japonés (azul) y europeo (rojo). Figura adaptada de Topp <i>et al.</i> (2012).	35
Figura 1.2. Detalle del porte de un ciruelo japonés en floración y fructificación.	37
Figura 1.3. Detalle de las hojas de <i>P. salicina</i> Lindl.	38
Figura 1.4. Yemas florales en distintas formaciones fructíferas (izquierda) y detalle de yemas florales, indicadas mediante flechas negras, flanqueando una yema vegetativa, indicada mediante una flecha blanca (derecha) en ciruelo japonés.	38
Figura 1.5. Botones florales y flores hermafroditas (izquierda) y detalle de la alta intensidad de floración (derecha) en ciruelo japonés.	39
Figura 1.6. Detalle de la diversidad de forma y color del fruto en ciruelo japonés.	40
Figura 1.7. Esquema del crecimiento de tubos polínicos en una reacción compatible (naranja) e incompatible (azul) en una flor de ciruelo japonés.	41
Figura 1.8. Top 10 de países productores de ciruela en orden descendente en función de la producción obtenida en 2021. La escala del eje y cambia a partir del primer millón de toneladas.	45
Figura 1.9. Evolución de la producción de los principales frutales de hueso (FAOSTAT, 2022).	45
Figura 1.10. Distribución de la producción de frutales de hueso a nivel nacional (MAPA, 2022).	46
Figura 1.11. Producción nacional de ciruela por Comunidades Autónomas en 2022 (MAPA, 2022).	47
Figura 1.12. Evolución de la superficie de cultivo y la producción de ciruela desde 2000 hasta 2021 en España (FAOSTAT, 2022).	47
Figura 1.13. Evolución de la superficie de cultivo y la producción de ciruela desde 2008 hasta 2022 en la Región de Murcia (CARM, 2023).	48
Figura 1.14. Posición aproximada de 28 genes mayores mapeados en diferentes poblaciones de albaricoquero (fondo azul), melocotonero (fondo naranja), almendro o almendro × melocotonero (fondo amarillo) y mirabolano (fondo verde) en el mapa de referencia de <i>Prunus</i> . Las abreviaturas de los genes corresponden a: Y, color de pulpa de melocotón; B, color de pétalos de melocotón y almendro; Sharka, resistencia a plum pox virus en albaricoquero; B, color de la flor en almendro × melocotonero; Mi, Resistencia a nemátodos de melocotonero; D, dureza de la cáscara en almendro; Br, hábito de crecimiento columnar en melocotonero; DI, flores dobles en melocotonero; Cs, color de la pulpa alrededor del hueso en melocotonero; Ag, color de las anteras en almendro × melocotonero; Pcp, flor pluricarpelar en melocotonero; Fc, color de la flor en melocotonero ; Lb, fecha de floración en almendro; F, adherencia de la pulpa al hueso en melocotonero; D, no acidez en fruto en melocotonero; Sk, amargor de la semilla en almendro; G, pubescencia en la piel del fruto en melocotonero; NI, forma de la hoja en melocotonero; Dw, tamaño enano de la planta en melocotonero; Ps, androesterilidad en melocotonero; Sc, color de la piel del fruto en melocotonero; Gr, color de la hoja en melocotonero; S*, forma del fruto en melocotonero; S, autoincompatibilidad en almendro y albaricoquero; Ma, resistencia a nemátodos en mirabolano; E, forma de las glándulas foliares en melocotonero; Sf, resistencia a mildiu en melocotonero. Los genes DI y Br están localizados en una posición desconocida de G2. Figura procedente del trabajo de Dirlwanger <i>et al.</i> (2004).	56

MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES EXPERIMENTALES

Figura 2.1. Diversidad de tipología de fruto en las tres poblaciones de estudio.	69
Figura 2.2. Detalle de los frutos de las variedades 'Black Splendor' (izquierda) y 'Pioneer' (derecha).	71
Figura 2.3. Detalle del fruto de la variedad 'Red Beaut'	71

Figura 2.4. Detalle del fruto de 'Santa Rosa Precoz'.....	72
Figura 2.5. Detalle del fruto y porte del cultivar 'Rojo Pasión'.....	73
Figura 2.6. Detalle del fruto y porte del cultivar 'Mirlo Anaranjado'.....	74
Figura 2.7. Detalle del fruto y su distribución en el árbol de la selección '1001-5-26'.....	74
Figura 2.8. Detalle del fruto del cultivar 'Honey Dawn'. Fotografías de la compañía obtentora StarGrow (izquierda) (https://stargrow.co.za/) y de la empresa IPS-PLANT (derecha) (https://www.ips-plant.com).	75
Figura 2.9. Detalle del fruto de las preselecciones '0715-6', '0614-5' y '0112-11'.....	76
Figura 2.10. Detalle de la finca experimental del programa mejora genético del CEBAS-CSIC/IMIDA de ciruelo japonés. Imagen satélite obtenida de Google Earth 2019.....	79
Figura 2.11. Evolución de las temperaturas durante 2019, 2020 y 2021. Las temperaturas medias (T^a MED) se representan con barras, mientras que las temperaturas máximas (T^a MAX) y mínimas (T^a MIN) son representadas mediante líneas. Los colores azules corresponden a las temperaturas de 2019, los colores verdes a las de 2020 y los rojizos a 2021.....	80
Figura 2.12. Acumulación de frío invernal en porciones para los periodos de 2018-2019 (azul), 2019-2020 (verde) y 2020-2021 (rojo).....	81

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y ESTUDIO DEL MODO DE HERENCIA DE CARACTERES FENOLÓGICOS Y DE CALIDAD DEL FRUTO

Figura 3.1. Detalle de la balanza digital utilizada para pesar los frutos.....	92
Figura 3.2. Detalle del diámetro polar, ecuatorial y sutural (izquierda). Calibre electrónico empleado para medir los frutos (derecha).....	92
Figura 3.3. Diferentes formas del fruto en vista lateral de ciruelo japonés según la UPOV. Figura extraída de las directrices generales de la UPOV para <i>P. salicina</i> (UPOV, 2011).	93
Figura 3.4. Clasificación de los frutos de ciruelo japonés según la UPOV en función de la profundidad de la sutura. Figura extraída de las directrices generales de la UPOV para <i>P. salicina</i> (UPOV, 2011).	93
Figura 3.5. Clasificación de los frutos en función de la presencia de lenticelas en la piel.	94
Figura 3.6. Ejemplo de clasificación de frutos en función de la adhesión del hueso a la pulpa, siendo 0: no adherente, 1: semiadherente y 2: adherente. En esta muestra el genotipo presenta 10 frutos valorados como adherentes (2) y dos frutos como no adherentes (0), por lo que el porcentaje de adherencia de este genotipo sería del 83%.....	95
Figura 3.7. Muestra de 12 frutos en la que se observan 4 frutos con el hueso roto, por lo que el genotipo tendrá un porcentaje de hueso roto del 33%.	95
Figura 3.8. Medición del color de piel mediante el colorímetro Minolta Chroma Meter modelo CR-300 (izquierda). Modelo de definición de color CIELab. Figura de Pérez <i>et al.</i> (2008) (derecha).....	96
Figura 3.9. Detalle del Texturómetro TA.TXPlus con los accesorios empleados en el ensayo de compresión.	97
Figura 3.10. Detalle del refractómetro utilizado en la medición de los sólidos solubles (izquierda) y del valorador automático ácido-base empleado para la medición del pH y la acidez del fruto (derecha).	98
Figura 3.11. Distribución de frecuencias de la población 'Black Splendor' × 'Pioneer' evaluada con relación a los distintos caracteres fenológicos, que abarcan el inicio de la floración, plena floración, final de la floración y fecha de maduración, todos expresados en días julianos (DJ), así como el periodo de desarrollo del fruto en días (D), intensidad de floración (0-3) y productividad (0-5) en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor' y PIO 'Pioneer'.	116

- Figura 3.12.** Distribución de frecuencias de la población 'Red Beaut' × 'Black Splendor' evaluada con relación a los distintos caracteres fenológicos, que abarcan el inicio de la floración, plena floración, final de la floración y fecha de maduración, todos expresados en días julianos (DJ), así como el periodo de desarrollo del fruto en días (D), intensidad de floración (0-3) y productividad (0-5) en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor' y RB 'Red Beaut'..... 117
- Figura 3.13.** Distribución de frecuencias de la población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' evaluada con relación a los distintos caracteres fenológicos, que abarcan el inicio de la floración, plena floración, final de la floración y fecha de maduración, todos expresados en días julianos (DJ), así como el periodo de desarrollo del fruto en días (D), intensidad de floración (0-3) y productividad (0-5) en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 118
- Figura 3.14.** Biplot del análisis de componentes principales (PCA) mostrando los siete caracteres fenológicos y los genotipos de cada población estudiada (izquierda), junto con el gráfico de sedimentación (derecha) que muestra el porcentaje de varianza explicada para los siete componentes principales obtenidos del PCA. La población 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO) está representada por círculos rojos, 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) por triángulos verdes, y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) por cuadrados azules. Los caracteres fenológicos representados son el inicio de la floración (F5), plena floración (F50), final de la floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF) y productividad (P). 119
- Figura 3.15.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el peso del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 120
- Figura 3.16.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la forma del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. En cada población los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 122
- Figura 3.17.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la profundidad de la sutura en los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 123
- Figura 3.18.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para presencia de lenticelas en la piel durante los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 124
- Figura 3.19.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el porcentaje de adhesión del hueso a la pulpa durante los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran los valores medios de los tres años de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.... 125
- Figura 3.20.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el porcentaje de hueso roto durante los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran los valores medios de los tres años de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 126

- Figura 3.21.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la firmeza del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 127
- Figura 3.22.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el color de piel del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'. 129
- Figura 3.23.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el color de fondo visual durante los años 2019, 2020 y 2021. En las tres poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 129
- Figura 3.24.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el color de piel visual durante los años 2019, 2020 y 2021. En las tres poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 130
- Figura 3.25.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el color de pulpa del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'. 131
- Figura 3.26.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el color de pulpa visual durante los años 2019, 2020 y 2021. En las tres poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 132
- Figura 3.27.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el contenido en sólidos solubles del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 135
- Figura 3.28.** Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la acidez del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'..... 137
- Figura 3.29.** Mapas de calor de la correlación de Spearman entre las distintas variables evaluadas a lo largo de tres años de estudio en la población 'Black Splendor' × 'Pioneer'. Las variables representadas son el inicio de la floración (F5), plena floración (F50), final de la floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF), productividad (P), peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (ØEC), diámetro polar (ØPOL), diámetro sutural (ØSUT), forma del fruto (FORMA), profundidad de la sutura (P.SUT), presencia de lenticelas en la piel (LENT), adhesión del hueso a la pulpa (AD), porcentaje de hueso roto (H.ROTO), color visual de fondo (CV.F), color visual de piel (CV.PI), color visual de pulpa (CV.PU), luminosidad color de piel (PI_L), intensidad del color de piel (PI_C), tono de color de piel (PI_H), luminosidad color de pulpa (PU_L), intensidad del color de pulpa (PU_C), tono de color de pulpa (PU_H), firmeza del fruto (FIRM), contenido en sólidos solubles (SSC), pH del fruto (pH), acidez (A). Dentro de cada módulo, el nivel de significancia del valor p de cada correlación se indica con asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *, $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como *** 150

Figura 3.30. Mapas de calor de la correlación de Spearman entre las distintas variables evaluadas a lo largo de tres años de estudio en la población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'. Las variables representadas son el inicio de la floración (F5), plena floración (F50), final de la floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF), productividad (P), peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (ØEC), diámetro polar (ØPOL), diámetro sutural (ØSUT), forma del fruto (FORMA), profundidad de la sutura (P.SUT), presencia de lenticelas en la piel (LENT), adhesión del hueso a la pulpa (AD), porcentaje de hueso roto (H.ROTO), color visual de fondo (CV.F), color visual de piel (CV.PI), color visual de pulpa (CV.PU), luminosidad color de piel (PI_L), intensidad del color de piel (PI_C), tono de color de piel (PI_H), luminosidad color de pulpa (PU_L), intensidad del color de pulpa (PU_C), tono de color de pulpa (PU_H), firmeza del fruto (FIRM), contenido en sólidos solubles (SSC), pH del fruto (pH), acidez (A). Dentro de cada módulo, el nivel de significancia del valor p de cada correlación se indica con asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***. 151

Figura 3.31. Mapas de calor de la correlación de Spearman entre las distintas variables evaluadas a lo largo de tres años de estudio en la población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'. Las variables representadas son el inicio de la floración (F5), plena floración (F50), final de la floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF), productividad (P), peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (ØEC), diámetro polar (ØPOL), diámetro sutural (ØSUT), forma del fruto (FORMA), profundidad de la sutura (P.SUT), presencia de lenticelas en la piel (LENT), adhesión del hueso a la pulpa (AD), porcentaje de hueso roto (H.ROTO), color visual de fondo (CV.F), color visual de piel (CV.PI), color visual de pulpa (CV.PU), luminosidad color de piel (PI_L), intensidad del color de piel (PI_C), tono de color de piel (PI_H), luminosidad color de pulpa (PU_L), intensidad del color de pulpa (PU_C), tono de color de pulpa (PU_H), firmeza del fruto (FIRM), contenido en sólidos solubles (SSC), pH del fruto (pH), acidez (A). Dentro de cada módulo, el nivel de significancia del valor p de cada correlación se indica con asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***. 152

GENOTIPADO, CONSTRUCCIÓN DE MAPAS DE LIGAMIENTO GENÉTICO Y ANÁLISIS DE QTLs

Figura 4.1. Esquema de la metodología empleada en la elaboración del presente capítulo. 160

Figura 4.2. Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población 'Black Splendor' × 'Pioneer'. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino 'Black Splendor' (BS) están indicados en verde y los del parental masculino 'Pioneer' (PIO) en azul. 173

Figura 4.3. Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino 'Red Beaut' (RB) están indicados en azul y los del parental masculino 'Black Splendor' (BS) en verde. 177

Figura 4.4. Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino 'Red Beaut' (RB) están indicados en azul y los del parental masculino 'Santa Rosa Precoz' (SRP) en verde. 181

Figura 4.5. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter. 187

Figura 4.6. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter. 190

- Figura 4.7.** QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter..... 193
- Figura 4.8.** Efecto alélico del marcador SNP 'S3_8100233' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para el inicio de floración (F5) diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del marcador SNP 'S3_8100233'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio. 195
- Figura 4.9.** Efecto alélico del marcador SNP 'S6_32102679' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para plena floración (F50) diferenciando entre los genotipos "CC" y "CT" del marcador SNP 'S6_32102679'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio. 197
- Figura 4.10.** Efecto alélico del marcador SNP 'S3_22540873' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para el inicio de floración (F5) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S3_22540873'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio..... 197
- Figura 4.11.** Efecto alélico del marcador SNP 'S2_1349597' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución para la intensidad de floración (IF) diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del marcador SNP 'S2_1349597'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la intensidad de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio. 200
- Figura 4.12.** Efecto alélico del marcador SNP 'S5_18937962' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución para la intensidad de floración (IF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S5_18937962'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la intensidad de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio. 201
- Figura 4.13.** Efecto alélico del marcador SNP 'S4_5730378' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para fecha de maduración (FM) diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del marcador SNP 'S4_5730378'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio..... 203
- Figura 4.14.** Efecto alélico de los marcadores SNP 'S3_27200935' (arriba) y 'S4_26130483' (abajo) de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días (D) para el periodo de desarrollo del fruto (PDF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S3_27200935' y "CC" y "CG" del marcador 'S4_26130483'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución ambos caracteres entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio. 205
- Figura 4.15.** Efecto alélico del marcador SNP 'S3_31551230' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días (D) para el periodo de desarrollo del fruto (PDF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S3_31551230'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del periodo de desarrollo de fruto entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio. 206
- Figura 4.16.** Efecto alélico del marcador SNP 'S4_19494943' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para la fecha de maduración (FM) y en días (D) para el periodo de desarrollo del fruto (PDF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AT" del marcador SNP 'S4_19494943'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio. 207

- Figura 4.17.** Efecto alélico del marcador SNP 'S5_16796426' de 'Pioneer'. Cada diagrama de caja representa la distribución para la productividad diferenciando entre los genotipos "AA" y "AT" del marcador SNP 'S5_16796426'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de la productividad entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio..... 209
- Figura 4.18.** QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter..... 212
- Figura 4.19.** QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter..... 217
- Figura 4.20.** QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter..... 223
- Figura 4.21.** Efecto alélico de los marcadores SNPs 'S1_39002565', 'S8_16889344' y 'S1_50028951' de 'Pioneer' en el peso del fruto (PF). Cada diagrama de caja representa la distribución en gramos (g) del PF, diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del marcador 'S1_39002565', "CC" y "CT" del marcador 'S8_16889344', y "CC" y "GC" del marcador 'S1_50028951'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio..... 230
- Figura 4.22** Efecto alélico del SNP 'S4_21612756' de 'Santa Rosa Precoz'. Cada diagrama de caja representa la distribución en gramos (g) para peso del fruto (PF) (arriba) y milímetros (mm) para el diámetro sutural (DIAM.SUT) (abajo), diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del marcador 'S4_21612756'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 234
- Figura 4.23.** Efecto alélico del SNP 'S3_22967767' de 'Black Splendor' en la forma del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la forma del fruto diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S3_22967767'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 236
- Figura 4.24.** Efecto alélico de los SNPs 'S3_6234082' (izquierda) y 'S4_19494943' (derecha) de 'Red Beaut' en la forma del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la forma del fruto diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S3_6234082', y "AA" y "AT" del SNP 'S4_19494943'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de la forma del fruto entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 238
- Figura 4.25.** Efecto alélico del SNP 'S3_10907210' de 'Santa Rosa Precoz' en la forma del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la forma del fruto diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S3_10907210'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de la forma del fruto entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 239
- Figura 4.26.** Efecto alélico de los SNPs 'S3_2785835' de 'Black Splendor' (arriba) y 'S7_28078249' de 'Pioneer' (abajo). Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la presencia de lenticelas en la piel del fruto, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador 'S3_2785835', y "TT" y "CT" del marcador SNP 'S7_28078249'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 243

- Figura 4.27.** Efecto alélico de los SNPs 'S2_19071447' (izquierda) y 'S3_22540873' de 'Black Splendor' (derecha). Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la presencia de lenticelas en la piel del fruto, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador 'S2_19071447', y "CC" y "AC" del SNP 'S3_22540873'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 245
- Figura 4.28.** Efecto alélico de los SNPs 'S4_5730378' (arriba) y 'S7_2852243' (abajo) de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para la adhesión del hueso a la pulpa (AD), diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S4_5730378' y "GG" y "GT" del SNP 'S7_2852243'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 247
- Figura 4.29.** Efecto alélico del SNP 'S3_31551230' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para la adhesión del hueso a la pulpa (AD), diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_31551230'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 249
- Figura 4.30.** Efecto alélico de los SNPs 'S4_21169779' de 'Red Beaut' (arriba) y 'S5_14601493' de 'Santa Rosa Precoz' (abajo). Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para la adhesión del hueso a la pulpa (AD), diferenciando entre los genotipos "CC" y "CT" del SNP 'S4_21169779' y "AG" y "GG" del SNP 'S5_14601493'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 250
- Figura 4.31.** Efecto alélico del SNP 'S5_16094396' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para el hueso roto del fruto (HR), diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S5_16094396'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 252
- Figura 4.32.** Efecto alélico del SNP 'S5_18259949' de 'Pioneer' en el color visual de fondo del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de fondo diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S5_18259949'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 254
- Figura 4.33.** Efecto alélico del SNP 'S3_12468085' de 'Red Beaut' en el color visual de fondo de fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de fondo diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S3_12468085'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 255
- Figura 4.34.** Efecto alélico de los SNPs 'S3_2523481' (izquierda) y 'S5_21755470' (derecha) de 'Black Splendor' en el color de fondo. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de fondo fruto diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S3_2523481', y "CC" y "AC" del SNP 'S5_21755470'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 257
- Figura 4.35.** Efecto alélico del SNP 'S3_20860507' de 'Black Splendor' en el color visual de la piel del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_20860507'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del color visual de la piel del fruto entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 259
- Figura 4.36.** Efecto alélico del SNP 'S3_21522917' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución para ángulo Hue de color de piel del fruto (PIEL.H), diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S3_21522917'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio... 260

- Figura 4.37.** Efecto alélico del SNP 'S4_5716486' de 'Black Splendor' en el color visual de la piel del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S4_5716486'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 261
- Figura 4.38.** Efecto alélico del SNP 'S1_28927521' de 'Pioneer' para el color de piel del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución ángulo Hue de color de piel del fruto (PIEL.H) (arriba) y los diagramas de barras representan la distribución de los individuos para el color de piel visual (abajo), diferenciando entre los genotipos "TT" y "GT" del SNP 'S1_28927521'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 262
- Figura 4.39.** Efecto alélico del SNP 'S3_16074034' de 'Red Beaut' en el color visual de la piel del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S3_16074034'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 264
- Figura 4.40.** Efecto alélico de los SNPs 'S2_12337790' (izquierda) y 'S3_22540873' (derecha) de 'Black Splendor' en el color de la piel. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de la piel del fruto diferenciando entre los genotipos "CC" y "CT" del SNP 'S2_12337790', y "CC" y "AC" del SNP 'S3_22540873'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 265
- Figura 4.41.** Efecto alélico de los SNPs 'S1_1369077' (arriba) y 'S3_11503414' (abajo) de 'Red Beaut' en el color de la piel del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución para ángulo Hue de color de piel del fruto (PIEL.H), diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S1_1369077', y "GG" y "CG" del SNP 'S3_11503414'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 267
- Figura 4.42.** Efecto alélico de los SNPs 'S1_1369077' (izquierda) y 'S3_11503414' (derecha) de 'Red Beaut' en el color de piel. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel del fruto visual diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S1_1369077', y "GG" y "CG" del SNP 'S3_11503414'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 268
- Figura 4.43.** Efecto alélico del SNP 'S3_10518042' de 'Black Splendor' para el color de pulpa del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución ángulo Hue de color de pulpa del fruto (PULPA.H) (arriba) y los diagramas de barras representan la distribución de los individuos para el color de pulpa visual (abajo), diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_10518042'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 271
- Figura 4.44.** Efecto alélico del SNP 'S3_15526069' de 'Black Splendor' para el color de pulpa del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución ángulo Hue de color de pulpa del fruto (PULPA.H) (arriba) y los diagramas de barras representan la distribución de los individuos para el color de pulpa visual (abajo), diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_15526069'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 272
- Figura 4.45.** Efecto alélico de los SNPs 'S3_6363950' y 'S3_125839945' de 'Black Splendor' para el color de pulpa del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de pulpa visual diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_6363950', y "CC" y "CT" del SNP 'S3_125839945'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 275

- Figura 4.46.** Efecto alélico del SNP 'S1_39702792' de 'Pioneer' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "TT" y "GT" del SNP 'S1_39702792'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio..... 278
- Figura 4.47.** Efecto alélico de los SNPs 'S1_34874582' (arriba) y 'S4_25017134' (abajo) de 'Red Beaut' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "CC" y "AC" del SNP 'S1_34874582' y "GG" y "AG" del SNP 'S4_25017134'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio..... 280
- Figura 4.48.** Efecto alélico de los SNPs 'S3_31551230' (arriba) y 'S5_19427100' (abajo) de 'Black Splendor' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" de los SNPs "S3_31551230" y 'S5_19427100'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio..... 282
- Figura 4.49.** Efecto alélico del SNP 'S4_19494943' de 'Red Beaut' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AT" del SNP 'S4_19494943'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio..... 283
- Figura 4.50.** QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres organolépticos en los parentales de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los SNPs más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter..... 285
- Figura 4.51.** QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres organolépticos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los SNPs más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter..... 286
- Figura 4.52.** QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres organolépticos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los SNPs más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter..... 287
- Figura 4.53.** Efecto alélico del SNP 'S5_2176885' de 'Red Beaut' en el contenido de sólidos solubles (SS) del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución en °Brix del contenido en sólidos solubles, diferenciando entre los genotipos "TT" y "GT" del SNP 'S5_2176885'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio..... 290
- Figura 4.54.** Efecto alélico del SNP 'S5_2478624' de 'Santa Rosa Precoz' en el contenido de sólidos solubles (SS) del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución en °Brix del contenido en sólidos solubles, diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S5_2478624'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio..... 291
- Figura 4.55.** Efecto alélico de los SNPs 'S8_711642' (arriba) y 'S1_49558809' (abajo) de 'Pioneer'. Cada diagrama de caja representa la distribución en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A.MÁLICO) y pH, diferenciando entre los genotipos "AT" y "TT" del SNP 'S8_711642' y "AG" y "GG" del SNP 'S1_49558809'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 294

- Figura 4.56.** Efecto alélico del SNP 'S3_27891968' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución de la acidez medida en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A. MÁLICO) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG". Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio. 296
- Figura 4.57.** Efecto alélico de los SNPs 'S1_35202962' (arriba) y 'S2_34148615' (abajo) de 'Santa Rosa Precoz'. Cada diagrama de caja representa la distribución de la acidez medida en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A. MÁLICO), diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S1_35202962' y "CC" y "CT" del SNP 'S2_34148615'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio..... 298



ÍNDICE DE TABLAS

INTRODUCCIÓN GENERAL

Tabla 1.1. Principales QTLs relacionados con caracteres agronómicos identificados en especies del género <i>Prunus</i>	57
Tabla 1.2. Resumen de los mapas genéticos de ciruelo japonés disponibles hasta la fecha.....	62
Tabla 1.3. Características generales de los genomas completos disponibles de ciruelo japonés.	64

MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES EXPERIMENTALES

Tabla 2.1. Resumen de las características agronómicas (fecha de floración y cosecha, color de piel y pulpa, autocompatibilidad y resistencia a PPV) de las variedades y/o selecciones de albaricoquero y ciruelo japonés empleadas en los cruzamientos interespecíficos con híbridos confirmados. En color de piel, el color indicado entre paréntesis corresponde al color de la chapa. SC: Autocompatible; SI: Autoincompatible; R: Resistente a PPV; S: Susceptible a PPV.....	76
Tabla 2.2. Listado de cruzamientos interespecíficos empleando <i>P. armeniaca</i> como parental femenino y número de semillas obtenidas por cruzamiento.	77
Tabla 2.3. Listado de cruzamientos interespecíficos empleando <i>P. salicina</i> como parental femenino y número de semillas obtenidas por cruzamiento.	78

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y ESTUDIO DEL MODO DE HERENCIA DE CARACTERES FENOLÓGICOS Y DE CALIDAD DEL FRUTO

Tabla 3.1. Resumen de los valores descriptivos para los caracteres fenológicos evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). Las fechas de floración y maduración se expresan en días julianos (DJ), el periodo de desarrollo del fruto en días (D).....	101
Tabla 3.2. Resumen de los valores descriptivos para los caracteres físicos del fruto evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). El peso está expresado en gramos (g), el diámetro en milímetros (mm), la adhesión del hueso a la pulpa y la presencia de hueso roto en porcentaje (%), el color de piel y pulpa mediante el ángulo Hue (H°) y la firmeza en Newton (N).....	103
Tabla 3.3. Resumen de los valores descriptivos para los caracteres organolépticos del fruto evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). El contenido en sólidos solubles está expresado en °Brix, el pH es adimensional y la acidez está expresada como g. ácido málico/100 ml.	105
Tabla 3.4. Prueba de normalidad de los caracteres fenológicos inicio de floración (F5), plena floración (F50), final de floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF) y productividad (P) para las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante los tres años de estudio. Estadístico: valor estadístico de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov; gl: grados de libertad; Sig.: significancia.	106

- Tabla 3.5.** Prueba de normalidad de los caracteres físicos de calidad del fruto: peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (DIAM.EC), forma, color visual (CV) de fondo, piel y pulpa, parámetro H de color de piel (PIEL_H) y pulpa (PULPA_H), presencia de lenticelas, incidencia de hueso roto, profundidad de la sutura (PROF.SUTURA), adhesión del hueso a la pulpa y firmeza) para las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante los tres años de estudio. Estadístico: valor estadístico de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov; gl: grados de libertad; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican que satisfacen el criterio de normalidad..... 107
- Tabla 3.6.** Prueba de normalidad de los caracteres organolépticos de calidad del fruto contenido en sólidos solubles (CSS), pH y acidez para las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante los tres años de estudio. Estadístico: valor estadístico de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov; gl: grados de libertad; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican que satisfacen el criterio de normalidad..... 108
- Tabla 3.7.** Análisis de la varianza multivariante (ANOVA) para el factor año en los caracteres evaluados con distribución normal en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). SC: Suma de cuadrados tipo III; gl: grados de libertad; MC: media cuadrática; F: valor estadístico F multivariante; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas..... 109
- Tabla 3.8.** Prueba de comparaciones múltiples empleando el método de Tukey para identificar diferencias significativas entre años en el contenido en sólidos solubles (CSS) y pH de la población 'Black Splendor' × 'Pioneer'. Sig.: significancia; L.I.: límite inferior del intervalo; L.S.: límite superior del intervalo. El asterisco (*) indica que la diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05. Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas..... 109
- Tabla 3.9.** Análisis Kruskal-Wallis para muestras independientes para el factor año en los caracteres evaluados que muestran una distribución no paramétrica en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas en la distribución de los caracteres..... 110
- Tabla 3.10.** Prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples del factor año en los caracteres y poblaciones con diferencias significativas entre años, en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). EC: Estadístico de contraste del análisis; DES. EC: Desviación del estadístico de contraste; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican que hay diferencias significativas en esa comparación..... 112
- Tabla 3.11.** Coeficientes de correlación de Spearman entre los años 2019, 2020 y 2021 para los caracteres fenológicos en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). El nivel de significancia del valor p de la correlación se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***..... 140
- Tabla 3.12.** Coeficientes de correlación de Spearman entre los años 2019, 2020 y 2021 para los caracteres físicos de calidad del fruto en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). El nivel de significancia del valor p de la correlación se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***. El año 2019 se representa como 19, el año 2020 como 20 y el año 2021 como 21. 148
- Tabla 3.13.** Coeficientes de correlación de Spearman entre los años 2019, 2020 y 2021 para los caracteres organolépticos de calidad del fruto en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). El nivel de significancia del valor p de la correlación se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***..... 149

GENOTIPADO, CONSTRUCCIÓN DE MAPAS DE LIGAMIENTO GENÉTICO Y ANÁLISIS DE QTLs

Tabla 4.1. Resultados de la secuenciación del genoma completo (<i>Whole Genome Sequencing</i> , WGS) de los parentales 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS). Se muestran los datos brutos generados por el secuenciador, las lecturas brutas y conservadas. El porcentaje de lecturas conservadas se muestra entre paréntesis.	166
Tabla 4.2. Métricas de evaluación de la calidad del ensamblaje del genoma completo obtenido mediante MaSurCa para los parentales 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS). Las métricas incluyen: número secuencias ensambladas (contigs) de diferentes tamaños (≥ 0 pb, 1.000 pb, 5.000 pb, etc); longitud total de las secuencias ensambladas por tamaño mínimo de contig (≥ 0 pb, 1.000 pb, 5.000 pb, etc); porcentaje de contenido de guanina y citosina en el ADN ensamblado (GC %); N50 y N75: longitud del contig más corto que abarca el 50 y 75% de la longitud total del ensamblaje, respectivamente; L50 y L75: número de contigs necesarios para alcanzar el 50% y el 75% de la longitud total del ensamblaje, respectivamente; número de secuencias ambiguas (N's) por cada 100 kbp del ADN ensamblado.	167
Tabla 4.3. Alineación de lecturas con los ensamblajes MaSuRcA de los genomas completos de 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS).	168
Tabla 4.4. Análisis de calidad BUSCO del ensamblaje de los genomas completos de los parentales 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS).	168
Tabla 4.5. Deleciones, inserciones y SNPs observados en los genomas completos de 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS).	169
Tabla 4.6. Distribución de transiciones y transversiones en variantes genéticas para los genomas completos de 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS). Se muestra el número de sitios alélicos donde se han detectado transiciones y transversiones, junto con el porcentaje de estos entre paréntesis.	169
Tabla 4.7. Número de SNPs procesados en las distintas etapas de la determinación del genotipo de los descendientes.	170
Tabla 4.8. Resumen del mapeo de los marcadores tipo SNP en los mapas de ligamiento genético obtenidos para los parentales 'Black Splendor' (BS), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Santa Rosa Precoz' (SRP) de las tres poblaciones de estudio 'Black Splendor' \times 'Pioneer' (BS \times PIO), 'Red Beaut' \times 'Black Splendor' (RB \times BS) y 'Red Beaut' \times 'Santa Rosa Precoz' (RB \times SRP).	171
Tabla 4.9. Descripción de los SNPs mapeados y las distancias genéticas en cada grupo de ligamiento (GL) para cada progenitor en la población F1 de ciruelo japonés 'Black Splendor' \times 'Pioneer'.	172
Tabla 4.10. Descripción de los SNPs mapeados y las distancias genéticas en cada grupo de ligamiento (GL) para cada progenitor en la población F1 de ciruelo japonés 'Red Beaut' \times 'Black Splendor'.	176
Tabla 4.11. Descripción de los SNPs mapeados y las distancias genéticas en cada grupo de ligamiento (GL) para cada progenitor en la población F1 de ciruelo japonés 'Red Beaut' \times 'Santa Rosa Precoz'.	180
Tabla 4.12. Características de los mapas genéticos de ciruelo japonés disponibles incluyendo los desarrollados en este estudio.	185
Tabla 4.13. Genotipos parentales de la población formada por 'Black Splendor' \times 'Pioneer' para los marcadores SNP más significativos de cada QTL asociado con los caracteres fenológicos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.	189
Tabla 4.14. Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' \times 'Black Splendor' para los marcadores SNP más significativos de cada QTL asociado con los caracteres fenológicos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.	192

- Tabla 4.15.** Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' para los marcadores SNP más significativos de cada QTL asociado con los caracteres fenológicos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis..... 193
- Tabla 4.16.** Genotipos parentales de la población formada por 'Black Splendor' × 'Pioneer' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis..... 215
- Tabla 4.17.** Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Black Splendor' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis..... 220
- Tabla 4.18.** Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis..... 227
- Tabla 4.19.** Genotipos parentales de la población formada por 'Black Splendor' × 'Pioneer' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres organolépticos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis..... 285
- Tabla 4.20.** Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Black Splendor' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres organolépticos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis..... 286
- Tabla 4.21.** Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres organolépticos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis..... 288



RESUMEN - ABSTRACT

RESUMEN

El ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) es uno de los frutales de hueso más cultivados en el mundo, ocupando el segundo lugar en producción después del melocotonero, con una producción global de más de 12 millones de toneladas. Sin embargo, el cultivo del ciruelo japonés presenta una serie de deficiencias y problemas que deben ser abordados para asegurar su viabilidad y rentabilidad. Una de las principales dificultades radica en el limitado elenco varietal disponible para el cultivo, donde la producción mundial depende todavía en gran medida de un número limitado de variedades tradicionales. Un aspecto de gran relevancia y complejidad en el cultivo de esta especie es la generalizada autoincompatibilidad floral, con solo unas pocas variedades comerciales autocompatibles, lo que hace necesario el diseño de las plantaciones con variedades polinizadores, intercompatibles y coincidentes en época de floración. Otro problema grave que afecta sobre todo a la Región de Murcia y a la Comunidad Valenciana es la incidencia de la enfermedad de la sharka, causada por el potyvirus plum pox virus, que provoca importantes daños en esta especie afectando tanto a la calidad como a la producción. Este problema conlleva una difícil solución, ya que no se dispone de fuentes de resistencia al virus en ciruelo japonés y la totalidad de las variedades cultivadas son susceptibles. La calidad del fruto es otro aspecto a mejorar en la especie, ya que parte de las variedades cultivadas no alcanzan los parámetros de calidad requeridos por la industria comercializadora y los consumidores. Un color atractivo de piel y pulpa, firmeza, sabor y buena aptitud poscosecha son los principales caracteres a considerar en las nuevas variedades.

La necesidad de afrontar estos desafíos derivados de las problemáticas del cultivo, la evolución de la demanda y expectativas de los consumidores, la creciente competencia de los mercados, así como los nuevos retos tecnológicos, agronómicos y medioambientales, incluyendo el impacto del cambio climático y la sostenibilidad ecológica, requieren de programas de mejora genética que den respuesta a estas necesidades mediante la obtención de nuevas variedades de alto valor y excelencia que incrementen la diversidad genética y fenotípica de la especie. Sin embargo, la mejora de esta especie, al igual que otros cultivos leñosos, presenta unos ciclos de mejora muy extensos debido a los largos periodos de juvenilidad, su biología reproductiva compleja y el alto grado de heterocigosidad que presenta. En la actualidad, existen programas de mejora genética de ciruelo japonés alrededor de todo el mundo, y aunque los programas de mejora más avanzados se encuentran principalmente en California, se están llevando a cabo esfuerzos significativos en otros países como China, Japón, Chile, Sudáfrica, Australia y España. Estos programas de mejora se fundamentan en los procedimientos clásicos, basados en cruzamientos dirigidos, generación de progenies, evaluación de descendencias y selección de genotipos de interés en base a sus características fenotípicas, lo que requiere de largos periodos de tiempo, un trabajo ingente de campo y laboratorio y un elevado coste económico.

El uso de herramientas biotecnológicas, tales como la selección asistida por marcadores (MAS) y de la genómica, puede ayudar a optimizar los programas de mejora de ciruelo japonés,

mejorando significativamente su eficiencia y reduciendo el tiempo requerido para la obtención final de nuevas variedades. En este sentido, la disponibilidad de marcadores moleculares en la especie ciruelo japonés es actualmente muy limitada, focalizándose principalmente en la identificación de los alelos de incompatibilidad, lo que facilita la evaluación de la compatibilidad entre genotipos y la planificación estratégica de los cruzamientos. Más recientemente, se han desarrollado marcadores moleculares para el color de la piel y el color de la pulpa, permitiendo la determinación de la presencia o ausencia de pigmentación roja en ambos tejidos.

En este contexto, la Tesis Doctoral se ha realizado en el marco del programa de mejora genética del ciruelo japonés desarrollado conjuntamente por el CEBAS-CSIC y el IMIDA, iniciado en 2011 en la Región de Murcia, cuyos principales objetivos son la obtención de variedades de bajas necesidades de frío, que se adapten a las condiciones climáticas actuales y futuras, autocompatibles, de maduración temprana (mayo, junio), alta productividad, elevada calidad del fruto, y, en lo posible, resistentes al virus de la enfermedad de la sharka mediante la generación de híbridos interespecíficos realizando cruzamientos con variedades resistentes y autocompatibles de albaricoquero (plumcots).

El objetivo general de esta tesis doctoral ha sido el estudio de las bases genéticas y moleculares de los principales caracteres implicados en la fenología y calidad del fruto en ciruelo japonés, así como la caracterización fenotípica y molecular de híbridos interespecíficos ciruelo japonés × albaricoquero (plumcots), incluyendo la validación de su naturaleza interespecífica, la evaluación de la resistencia al virus de la sharka (PPV) y la determinación de alelos de compatibilidad floral. Para ello, dentro de la línea de trabajo intraespecífica se ha realizado una caracterización fenotípica durante tres años de estudio y se ha estudiado el modo de herencia de los principales caracteres fenológicos y de calidad del fruto en tres poblaciones F1 segregantes de ciruelo japonés ('Black Splendor' × 'Pioneer' ('BS×PIO'), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' ('RB×BS') y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' ('RB×SRP')). Además, se ha llevado a cabo la caracterización molecular de las tres poblaciones implementando una estrategia de genotipado novedosa en frutales, no empleada anteriormente en ciruelo japonés ni en otras especies del género *Prunus*, que reduce los costes en el proceso mediante la combinación de alta cobertura (*Whole Genome Sequencing*, WGS) de los parentales y baja cobertura (*Low Coverage Whole Genome Sequencing*, LcWGS) de las descendencias, con el fin de elaborar mapas de ligamiento genético e identificar regiones del genoma asociadas a caracteres de interés (QTLs) de fenología y calidad del fruto. Por otro lado, dentro de la línea de trabajo interespecífica, se ha llevado a cabo una caracterización fenotípica y molecular de los híbridos interespecíficos resultantes de los cruzamientos entre variedades de interés de ciruelo japonés y variedades de albaricoquero resistentes a PPV y autocompatibles, lo que ha permitido el estudio de la transmisión de la resistencia a PPV y la autocompatibilidad floral desde el albaricoquero al ciruelo en los híbridos interespecíficos.

En cuanto a los resultados obtenidos, podemos destacar que los resultados derivados de la caracterización fenotípica y estudio del modo de herencia de los principales caracteres fenológicos y de calidad del fruto en las tres poblaciones de ciruelo japonés objeto de estudio (Capítulo 3) muestran una gran diversidad y segregación fenotípica en todos los caracteres evaluados, lo que corrobora la naturaleza segregante de las poblaciones, condición indispensable para abordar los objetivos planteados en la presente tesis doctoral. Además, se ha observado una alta variabilidad en las descendencias de las tres poblaciones, presentando fenotipos transgresivos en comparación con los progenitores en todos los caracteres fenológicos y de calidad del fruto, lo que puede atribuirse a la influencia del fondo genético de los parentales. Un ejemplo muy representativo es la presencia de genotipos con coloración de piel amarilla en la descendencia de las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP', a pesar de que ninguno de los parentales exhibe esta característica, lo que demuestra la significativa influencia del patrimonio genético de las variedades 'RB' y 'SRP', que poseen pedigríes complejos, producto de cruzamientos entre distintas especies de *Prunus*. Por otro lado, los análisis estadísticos y los histogramas de frecuencias realizados revelan una distribución no paramétrica en todos los caracteres fenológicos evaluados y en la mayoría de los caracteres físicos que determinan la calidad del fruto, con la excepción del peso y diámetro, que presentan una distribución normal. Asimismo, todos los caracteres organolépticos analizados exhiben una distribución normal en las tres poblaciones. Destaca el color de pulpa en las poblaciones 'BS×PIO' y 'RB×BS', que presenta una distribución bimodal, diferenciando entre genotipos con pulpa roja y pulpa amarilla. Sin embargo, la población 'RB×SRP' muestra una distribución asimétrica negativa, abarcando desde una coloración de pulpa anaranjada y bicolor hasta un color amarillo. La mayoría de los caracteres evaluados muestran una herencia cuantitativa, que avala su naturaleza poligénica, excepto el color de pulpa, que muestra una herencia cualitativa debido presumiblemente a su carácter oligogénico o monogénico. Por último, se han obtenido correlaciones altamente significativas entre los distintos caracteres evaluados, pudiendo destacar las observadas entre las distintas fechas de floración (inicio, plena y final), y entre la fecha de maduración y el periodo de desarrollo del fruto. También se han observado correlaciones significativas entre el periodo de desarrollo del fruto, el peso y el diámetro, la fecha de maduración, el periodo de desarrollo del fruto y la firmeza, el periodo de desarrollo del fruto, la firmeza y el contenido en sólidos solubles, entre otras.

La implementación de la novedosa estrategia de genotipado combinando la secuenciación de los parentales a alta cobertura (*Whole Genome Sequencing*, WGS) y a baja cobertura las descendencias (*Low Coverage Whole Genome Sequencing* (LcWGS) (Capítulo 4), ha permitido desarrollar con éxito mapas de ligamiento genético en todos los parentales de las tres poblaciones evaluadas y, posteriormente, identificar un elevado número de QTLs ligados a los principales caracteres de fenología y calidad del fruto de una manera más eficiente económicamente en comparación con las técnicas empleadas con anterioridad en esta especie. Los mapas de ligamiento generados muestran características similares de tamaño y número de SNPs mapeados a los desarrollados previamente por otros autores con otras estrategias de genotipado más costosas. Si bien, esta técnica ha presentado algunas dificultades debido al

empleo de la baja cobertura en las descendencias, ya que algunos grupos de ligamiento están representados por segmentos no conectados. En un número elevado de QTLs se han identificado SNPs asociados a la expresión de muchos de los caracteres evaluados, que presentan un efecto alélico significativo y estable durante los tres años de estudio, cuya validación en futuros trabajos puede facilitar el desarrollo de marcadores moleculares específicos para su uso en mejora asistida, y así reducir los tiempos y recursos empleados dentro de un programa de mejora genética clásico.

Cabe destacar que la mayoría de los SNPs de los QTLs ligados a la fecha de floración en las tres poblaciones evaluadas presentan un efecto alélico significativo vinculado a una fecha de floración tardía, excepto los identificados en el parental 'PIO' de la población 'BS×PIO' y en el parental 'BS' de la población 'RB×BS', que están asociados a una fecha de floración temprana. Además, se han identificado por primera vez en la especie ciruelo japonés QTLs ligados a la intensidad de floración y la productividad, cuyos SNPs presentan distintos efectos alélicos en función del parental y grupo de ligamiento. Asimismo, la mayoría de los QTLs ligados a la fecha de maduración y periodo de desarrollo del fruto se encuentran localizados en regiones similares de los grupos de ligamiento en función de la población donde se han identificado. Se ha identificado el primer QTL ligado a la fisiopatía de hueso roto en frutales del género *Prunus*, siendo el identificado en el GL 5 del parental 'BS' de la población 'BS×PIO' el único estable durante los tres años de fenotipado, donde los genotipos que presentan el SNP de este QTL muestran una menor incidencia de dicho desorden. En cuanto a los caracteres de color de piel y color de pulpa del fruto destacan los grupos de ligamiento 3 y 5 por presentar en ellos los QTLs con mayor significancia. Además, se han asociado SNPs a la expresión de color de piel amarillo, rojo, violáceo y negro, así como a colores de pulpa amarillo, rojo y bicolor según el grupo de ligamiento en el que se han identificado. Por último, en lo referente a los resultados obtenidos respecto a los caracteres organolépticos, se han identificado por primera vez QTLs estables durante tres años de fenotipado asociados al contenido en sólidos solubles, acidez y pH del fruto, destacando el GL5, donde se ha identificado el mayor número de QTLs estables.

En cuanto a los resultados obtenidos en la línea interespecífica (Capítulo 5), el presente estudio demuestra el reto que supone generar híbridos interespecíficos *Prunus salicina* Lindl. × *Prunus armeniaca* L. (plumcots), teniendo tasas de éxito de hibridación muy bajas, influenciadas por la dirección del cruzamiento, siendo solo viables los que interviene *P. salicina* como parental materno. La naturaleza interespecífica de los híbridos ha sido verificada con éxito empleando marcadores moleculares tipo SSR, ya que todos los híbridos confirmados presentaban un alelo derivado del ciruelo japonés y otro del albaricoquero, lo que además pone de manifiesto la alta transferibilidad de los marcadores empleados entre especies de *Prunus*. Estos híbridos muestran relaciones genéticas más similares con los albaricoqueros, presentando además características fenotípicas propias de dicha especie como la morfología de las hojas, la pubescencia del gineceo y del fruto, entre otros. Por otro lado, los alelos *S* de incompatibilidad se genotiparon con éxito en todos los híbridos, segregando para la mayoría

el alelo *Sc* que confiere la autocompatibilidad al albaricoquero, por lo que *a priori* tendrían que ser autocompatibles y autofértiles. Sin embargo, los estudios de viabilidad del polen han mostrado androesterilidad en todos los plumcots que florecieron, lo que sugiere que dicha hibridación interespecífica provoca androesterilidad en la descendencia. En cuanto a la evaluación de la resistencia a PPV, tanto por fenotipado como genotipado, los resultados obtenidos no coincidían con la resistencia esperada, ya que la mayoría de los plumcots clasificados genéticamente como resistentes, al presentar los alelos que confieren resistencia a PPV en albaricoquero, no mostraron resistencia en la evaluación fenotípica. Sin embargo, sí que se han identificado plumcots tolerantes, es decir, no presentan síntomas de la enfermedad, aunque mostraban resultados positivos de ELISA y RT-PCR en laboratorio. La mayoría de plumcots tolerantes portaban los alelos asociados a la resistencia, por lo que la presencia del alelo de resistencia podría ser el resultado de una disminución de la susceptibilidad, con un grupo importante de plumcots susceptibles que se convierten en tolerantes/resistentes tras el primer ciclo de fenotipado. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la existencia de importantes retos por resolver en los cruzamientos interespecíficos, como la androesterilidad o la resistencia total a PPV, así como la correcta validación fenotípica y genotípica de los plumcots, a fin de evitar la incorrecta denominación de "plumcots" de genotipos de ciruelo que en realidad no proceden de cruzamientos ciruelo × albaricoquero.

ABSTRACT

Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) is one of the most widely cultivated stone fruit trees in the world, ranking second in production after peach, with a global production exceeding 12 million tons. However, in Spain, the cultivation of Japanese plum faces a series of deficiencies and challenges that must be addressed to ensure its viability and profitability. One of the main difficulties lies in the limited varietal assortment available for cultivation, with global production still heavily reliant on a limited number of traditional cultivars. A highly relevant and complex aspect of cultivating this species is its floral self-incompatibility, with only a few commercially self-compatible varieties, necessitating the design of plantations with pollinator varieties that are inter-compatible and have synchronized blooming periods. Another significant issue, particularly affecting the Region of Murcia and the Valencian Community, is the incidence of Sharka disease, caused by the plum pox virus (PPV), which causes considerable damage to this species, impacting both quality and yield. This problem presents a challenging solution, as there are no sources of resistance to the virus in Japanese plum, and all cultivated varieties are susceptible. Fruit quality is another aspect requiring improvement in this species, as some of the cultivated varieties do not meet the quality parameters demanded by the commercial industry and consumers. Attractive skin and flesh color, firmness, flavor, and good postharvest performance are the main characteristics to be considered in new varieties.

The necessity to address these challenges arising from cultivation issues, the evolution of consumer demand and expectations, the growing market competition, as well as new technological, agronomic, and environmental challenges—including the impact of climate

change and ecological sustainability, —requires genetic improvement programs that respond to these needs by developing new high-value and excellent varieties that increase the genetic and phenotypic diversity of the species. However, the improvement of this species, like other woody crops, entails very long improvement cycles due to the extended juvenility periods, complex reproductive biology, and high degree of heterozygosity. Currently, there are Japanese plum breeding programs around the world, and although the most advanced breeding programs are primarily in California, significant efforts are being made in other countries such as China, Japan, Chile, South Africa, Australia, and Spain. These breeding programs are based on classical procedures, including directed crosses, progeny generation, offspring evaluation, and genotype selection based on phenotypic characteristics, which require long periods of time, extensive field and laboratory work, and high economic costs.

The use of biotechnological approaches, such as marker-assisted selection (MAS) and genomics, can help optimize Japanese plum breeding programs, significantly improving their efficiency and reducing the time required to develop new varieties. In this regard, the availability of molecular markers in Japanese plum is currently very limited, mainly focusing on the identification of incompatibility alleles, which facilitates the assessment of compatibility between genotypes and the strategic planning of crosses. More recently, molecular markers have been developed for skin color and flesh color, allowing the determination of the presence or absence of red pigmentation in both tissues.

In this context, the Doctoral Thesis has been carried out within the framework of the Japanese plum breeding program developed jointly by CEBAS-CSIC and IMIDA, initiated in 2011 in the Region of Murcia. The main objectives are to obtain varieties with low chilling requirements, adapted to current and future climatic conditions, self-compatible, early maturing (May, June), highly productive, with high fruit quality, and, if possible, resistant to the Sharka disease virus through the generation of interspecific hybrids by crossing with resistant and self-compatible apricot varieties (plumcots).

The overall objective of this doctoral thesis has been to study the genetic and molecular bases of the main traits involved in the phenology and fruit quality of Japanese plum, as well as the phenotypic and molecular characterization of Japanese plum × apricot (plumcot) interspecific hybrids. This includes the validation of their interspecific nature, the evaluation of resistance to the sharka virus (PPV), and the determination of floral compatibility alleles. To achieve this, within the intraspecific work line, a three-year phenotypic characterization has been conducted, and the inheritance patterns of the main phenological and fruit quality traits have been studied in three segregating F1 populations of Japanese plum ('Black Splendor' × 'Pioneer' ('BS×PIO'), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' ('RB×BS'), and 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' ('RB×SRP')). Additionally, molecular characterization of the three populations has been carried out by implementing a novel genotyping strategy in fruit trees, not previously used in Japanese plum or other species of the genus *Prunus*. This approach reduces costs by combining high coverage (Whole Genome Sequencing, WGS) of the parents and low coverage (Low

Coverage Whole Genome Sequencing, LcWGS) of the progeny to develop genetic linkage maps and identify genome regions associated with traits of interest (QTLs) related to phenology and fruit quality. Furthermore, within the interspecific work line, phenotypic and molecular characterization of the interspecific hybrids resulting from crosses between Japanese plum varieties of interest and PPV-resistant, self-compatible apricot varieties has been performed. This has enabled the study of the transmission of PPV resistance and floral self-compatibility from apricot to plum in the interspecific hybrids.

Regarding the results obtained, it is worth highlighting that the findings from the phenotypic characterization and inheritance study of the main phenological and fruit quality traits in the three Japanese plum populations under study (Chapter 3), show a great diversity and phenotypic segregation in all evaluated traits, corroborating the segregating nature of the populations—an essential condition for addressing the objectives of this doctoral thesis. Additionally, high variability was observed in the progeny of the three populations, presenting transgressive phenotypes compared to the parents in all phenological and fruit quality traits, which can be attributed to the genetic background influence of the parents. A very representative example is the presence of genotypes with yellow skin coloration in the progeny of the 'RB×BS' and 'RB×SRP' populations, despite neither parent exhibiting this characteristic, demonstrating the significant influence of the genetic heritage of the 'RB' and 'SRP' varieties, which have complex pedigrees resulting from crosses between different *Prunus* species.

Moreover, statistical analyses and frequency histograms reveal a non-parametric distribution in all evaluated phenological traits and in most physical traits determining fruit quality, except for weight and diameter, which exhibit a normal distribution. Similarly, all analyzed organoleptic traits show a normal distribution in the three populations. Notably, flesh color in the 'BS×PIO' and 'RB×BS' populations exhibits a bimodal distribution, distinguishing between genotypes with red and yellow flesh. However, the 'RB×SRP' population shows a negatively skewed distribution, ranging from orange and bicolor flesh coloration to yellow. Most evaluated traits exhibit quantitative inheritance, supporting their polygenic nature, except for flesh color, which shows qualitative inheritance likely due to its oligogenic or monogenic nature.

Finally, highly significant correlations were found between various evaluated traits, particularly those observed between different flowering dates (beginning, full, and end), and between the ripening date and fruit development period. Significant correlations were also observed between the fruit development period, weight and diameter, ripening date, fruit development period and firmness, fruit development period, firmness, and soluble solids content, among others.

The implementation of the novel genotyping strategy, combining high coverage sequencing of the parents (Whole Genome Sequencing, WGS) and low coverage sequencing of the progeny (Low Coverage Whole Genome Sequencing, LcWGS) (Chapter 4), has

successfully allowed the development of genetic linkage maps for all parents of the three evaluated populations. Subsequently, a large number of QTLs linked to the main phenological and fruit quality traits were identified in a more economically efficient manner compared to previously used techniques in this species. The generated linkage maps exhibit similar characteristics in terms of size and number of mapped SNPs to those developed by other authors using more expensive genotyping strategies. However, this technique has encountered some difficulties due to the use of low coverage in the progeny, resulting in some linkage groups being represented by unconnected segments.

A significant number of QTLs have been identified with SNPs associated with the expression of many evaluated traits, showing a significant and stable allelic effect over the three years of study. Validation of these QTLs in future work can facilitate the development of specific molecular markers for use in marker-assisted breeding, thereby reducing the time and resources required in a traditional breeding program.

It is noteworthy that most of the SNPs from the QTLs linked to flowering date in the three evaluated populations show a significant allelic effect associated with a late flowering date, except for those identified in the parent 'PIO' of the 'BS×PIO' population and in the parent 'BS' of the 'RB×BS' population, which are associated with an early flowering date. Additionally, QTLs linked to flowering intensity and productivity have been identified for the first time in the Japanese plum species, with SNPs showing different allelic effects depending on the parent and linkage group.

Similarly, most QTLs linked to the ripening date and fruit development period are located in similar regions of the linkage groups depending on the population in which they were identified. The first QTL linked to split-pit disorder in fruit trees of the genus *Prunus* has been identified, with the one identified in linkage group 5 of the 'BS' parent in the 'BS×PIO' population being the only one stable over the three years of phenotyping. Genotypes presenting the SNP of this QTL show a lower incidence of this disorder.

Regarding skin and flesh color traits, linkage groups 3 and 5 stand out for having the most significant QTLs. Additionally, SNPs have been associated with the expression of yellow, red, purple, and black skin color, as well as yellow, red, and bicolor flesh color, depending on the linkage group in which they were identified.

Finally, concerning the results obtained for organoleptic traits, stable QTLs over three years of phenotyping have been identified for the first time, associated with soluble solids content, acidity, and fruit pH. Linkage group 5 is particularly noteworthy for having the highest number of stable QTLs identified.

Regarding the results obtained in the interspecific line (Chapter 5), this study demonstrates the challenge of generating *Prunus salicina* Lindl. × *Prunus armeniaca* L. (plumcots) interspecific hybrids, having very low hybridization success rates, influenced by the

direction of the cross, with only those involving *P. salicina* as the maternal parent being viable. The interspecific nature of the hybrids has been successfully verified using SSR molecular markers, as all confirmed hybrids presented one allele derived from the Japanese plum and another from the apricot, highlighting the high transferability of the markers used between *Prunus* species. These hybrids show genetic relationships more similar to apricots, also presenting phenotypic characteristics typical of that species, such as leaf morphology, gynoecium pubescence, and fruit pubescence, among others.

Moreover, the *S* alleles of incompatibility were successfully genotyped in all hybrids, with most segregating for the *Sc* allele that confers self-compatibility to apricot, suggesting that they should be self-compatible and self-fertile. However, pollen viability studies have shown male sterility in all plumcots that flowered, suggesting that this interspecific hybridization causes male sterility in the progeny.

Regarding the evaluation of PPV resistance, both phenotyping and genotyping results did not match the expected resistance, as most plumcots genetically classified as resistant, having the alleles that confer PPV resistance in apricot, did not show resistance in phenotypic evaluation. However, tolerant plumcots were identified, showing no symptoms of the disease despite positive ELISA and RT-PCR results in the laboratory. Most tolerant plumcots carried the alleles associated with resistance, suggesting that the presence of the resistance allele could result in reduced susceptibility, with a significant group of susceptible plumcots becoming tolerant/resistant after the first phenotyping cycle.

The results highlight significant challenges to be resolved in interspecific crossings, such as male sterility or total PPV resistance, as well as the correct phenotypic and genotypic validation of plumcots, to avoid the incorrect designation of "plumcots" for plum genotypes that do not actually result from plum × apricot crosses.



1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. EL CIRUELO JAPONÉS

1.1.1. Origen y distribución del cultivo

Existe una gran diversidad de cultivares de ciruela pertenecientes a más de 25 especies distribuidas en Asia, Europa y América. A pesar de esta amplia diversidad únicamente dos especies predominan en la producción comercial: el ciruelo europeo (*Prunus domestica* L.), hexaploide ($2n = 6x = 48$), y el ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.), diploide ($2n = 2x = 16$). Aunque pertenecen a la misma sección taxonómica, son cultivos distintos en términos de usos, adaptación, origen y domesticación. Los ciruelos europeos están adaptados a zonas frías mientras que los ciruelos japoneses presentan unas necesidades de frío bajas-medias, adaptándose así a zonas templadas (Okie, 2008; Okie & Hancock, 2008; Topp *et al.*, 2012).

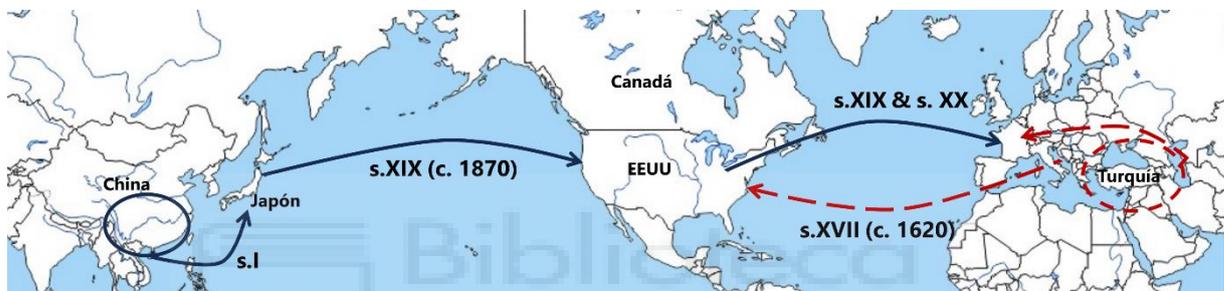


Figura 1.1. Origen y dispersión de ciruelo japonés (azul) y europeo (rojo). Figura adaptada de Topp *et al.* (2012).

El ciruelo japonés tiene su origen en China, concretamente en la cuenca del río Yangtze, tratándose de un cultivo milenario datado del año 300 a.C. Fue cultivado en China durante varios miles de años antes de ser introducido en Japón hace más de dos mil años (Yoshida, 1987; Faust & Surányi, 1998) (Figura 1.1). Su introducción a nivel mundial no se produjo hasta bien entrado el siglo XIX (Faust & Surányi, 1998). En ese momento, el mejorador Luther Burbank introdujo algunos genotipos de ciruelo japonés como 'Kelsey' y 'Abundance' en California (EEUU) desde Japón (Okie & Hancock, 2008), donde inició un programa de mejora genética de ciruelo cruzándolos con otras especies diploides como *P. americana*, *P. hortulana*, *P. munsoniana* y *P. simonii* para mejorar su adaptación a los ambientes locales. Los esfuerzos de Burbank dieron lugar a la creación de varios cultivares, como 'Santa Rosa', 'Beauty', 'Eldorado' y 'Burbank', entre otros, que se difundieron desde California a zonas templadas de todo el mundo durante el siglo XX (Burbank, 1914; Faust & Surányi, 1998; Topp *et al.*, 2012) (Figura 1.1). Algunos de estos cultivares fueron posteriormente cruzados con otras especies locales de ciruelos, como *P. americana*, *P. angustifolia*, *P. nigra* y *P. besseyi* en Estados Unidos, y *P. cerasifera* en Sudáfrica y Australia. Por lo tanto, el término "ciruelo japonés" se refiere a un grupo heterogéneo de híbridos interespecíficos derivados de cruces que involucran hasta 15 especies diferentes de *Prunus*, en lugar de representar una especie pura (Okie, 2006, 2008; Topp *et al.*, 2012; Karp, 2015).

1.1.2. Taxonomía y descripción botánica

El ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.), también conocido como ciruelo chino o ciruelo asiático, es un frutal de hueso perteneciente al género *Prunus* dentro de la familia *Rosaceae*. Se clasifica taxonómicamente de la siguiente forma:

Reino: Plantae
 División: Tracheophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Rosales
 Familia: Rosaceae
 Subfamilia: Amygdaloideae
 Género: *Prunus*
 Subgénero: *Prunophora*
 Sección: *Euprunus*

Rosaceae es una familia de angiospermas moderadamente grande del orden Rosales con alrededor de 100 géneros y 3000 especies distintas distribuidas mundialmente, siendo de un gran interés botánico por la inmensa variedad de especies que son cultivos de gran importancia económica tras un extenso proceso de domesticación, como las pertenecientes al género *Malus* (manzano), *Pyrus* (peral), *Fragaria* (fresa), *Rubus* (frambuesa, mora), *Cydonia* (membrillero), *Eriobotrya* (níspero) y *Prunus* (frutales de hueso), así como otras especies con importancia a nivel ornamental como las pertenecientes al género *Rosa* (rosas), *Crataegus* (espino) y *Sorbus* (serbal) entre otros (Xiang *et al.*, 2017). Los miembros de esta familia se pueden dividir en tres subfamilias, con dos subfamilias grandes, *Rosoideae* y *Amygdaloideae*, con alrededor de 2000 y 1000 especies, respectivamente, y una subfamilia pequeña, *Dyradaoideae*, con menos de 30 especies (Potter *et al.*, 2007).

A su vez, el género *Prunus*, perteneciente a la subfamilia *Amygdaloideae*, incluye más de 200 especies de árboles y arbustos tanto caducifolios como perennes, algunos de los cuales se cultivan a nivel mundial tanto por su interés agronómico como ornamental. Los frutales de este género son conocidos comúnmente como frutales de hueso debido a la presencia de una semilla rodeada por un endocarpo lignificado. El nombre del género proviene del nombre latino de la ciruela (*prūna*), ya que fue la primera especie en incluirse en el mismo (Okie, 2008). La clasificación taxonómica del género y en especial su delimitación ha presentado controversia entre los taxonomistas (Lee & Wen, 2001), siendo la clasificación mayormente aceptada la propuesta por Rehder (1940) y posteriormente complementada por Ingram (1948), donde se divide en seis subgéneros, de los cuales cabe resaltar tres debido a su importancia económica: *Prunophora* (ciruelo y albaricoquero), *Cerasus* (cerezos) y *Amygdalus* (melocotonero y almendro), mientras que los subgéneros *Laurocerasus*, *Padus* y *Lithocerasus* apenas presentan importancia agronómica.

El subgénero *Prunophora* se caracteriza por la presencia de una sutura en el fruto, poca pubescencia en el mismo, presencia de una capa cerosa, yemas axilares solitarias y ausencia de yema terminal, y se divide en tres secciones (Okie, 2008; Topp *et al.*, 2012):

- La sección *Euprunus* contiene seis especies asiáticas y europeas de ciruelos, entre los que se incluyen el ciruelo europeo (*Prunus domestica* L.), el mirabolano (*Prunus cerasifera* L.) y el ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.), distinguiéndose del resto por tener una o dos flores por yema, hueso adherente, hojas enrolladas en la yema y ovarios y frutos glabros.
- La sección *Prunocerasus* contiene 13 especies de ciruelos nativos de América del Norte, caracterizadas por tener tres o más flores por yema, un hueso liso, hojas conduplicadas en la yema, entre las que se encuentran *Prunus americana* Marsh., *Prunus subcordata* Benth. y *Prunus angustifolia* A. Sav.
- La sección *Armeniaca* contiene seis especies de albaricoqueros, diferenciándose de las demás por tener ovarios y frutos pubescentes, flores sésiles ligeramente pedunculadas y hojas enrolladas en la yema, entre las que se encuentran el albaricoquero ampliamente cultivado (*Prunus armeniaca* L.), el albaricoquero japonés (*Prunus mume* Koehne) y el siberiano (*Prunus sibirica* hort. ex C.K.Schneid.)

El ciruelo japonés (*P. salicina* Lindl.) es un **árbol** frutal de hoja caduca que presenta un tamaño medio llegando a alcanzar entre los 8 y 10 m de altura (Okie, 2008). Se trata de árboles muy vigorosos, sobre todo en su periodo de juvenilidad, normalmente conducidos en vaso abierto con cuatro o cinco ramas principales, lo que hace necesario realizar una poda en verde para evitar así el sombreado de ramas y frutos, y promover una buena aireación, lo que repercute directamente en la producción y la calidad de la cosecha final (Figura 1.2). Poseen un **tronco** robusto de madera fina color verde violáceo cuando es joven y oscuro y agrietado conforme envejece (Agustí, 2010). Además, presenta un **sistema radicular** superficial con raíces largas y flexibles.



Figura 1.2. Detalle del porte de un ciruelo japonés en floración y fructificación.

Las **hojas** son simples, alternas, con una forma que varía de elíptica a obovada, con un ápice de agudo a acuminado y un tamaño de entre 5 a 10 cm de longitud y de 3 a 6 cm de ancho (Okie, 2008). Son caducas y caen en otoño. Presentan estípulas en el peciolo, donde además se observan glándulas de pequeño tamaño, tienen un margen crenado o serrado (Figura 1.3). Las yemas axilares crecen en la base de las hojas en verano.



Figura 1.3. Detalle de las hojas de *P. salicina* Lindl.

Las **yemas florales** dan lugar a inflorescencias en forma de cimas que se encuentran en estructuras cortas, lo que resulta en brotes con múltiples flores o en ramos mixtos (Agustí, 2010). Estas inflorescencias suelen producirse en ramas de un año de edad o en ramas cortas de madera de varios años (Figura 1.4). La mayoría de las formas de fructificación en los ciruelos son en forma de dardos, brindillas, ramos mixtos y anticipados. Por lo general, las yemas florales se encuentran junto a una yema vegetativa, y cada yema vegetativa puede contener de una a tres flores (Figura 1.4) (Okie & Weinberger, 1996).



Figura 1.4. Yemas florales en distintas formaciones fructíferas (izquierda) y detalle de yemas florales, indicadas mediante flechas negras, flanqueando una yema vegetativa, indicada mediante una flecha blanca (derecha) en ciruelo japonés.

Las **flores** son principalmente blancas, aunque en ocasiones pueden tener un ligero tono rosado antes de caer. Son flores pentámeras, compuestas por cinco sépalos y cinco pétalos, dispuestas de forma alterna y solitaria o en grupos de dos a cinco flores con pedicelos largos (Figura 1.5). Tienen un gineceo unicarpelar glabro libre y un androceo con numerosos estambres (entre 20 y 30) con filamentos libres insertados en un hipanto generalmente productor de néctar (Okie & Weinberger, 1996; Looney & Jackson, 1999; Okie, 2008). El porcentaje de flores que llegan a ser frutos es bastante bajo (5-14%) en comparación con otras especies de *Prunus* (18-40%) (Guerra & Rodrigo, 2015), sin embargo, la alta densidad floral en esta especie (Figura 1.5), alrededor de 100.000 flores por árbol, garantiza un buen rendimiento de cosecha, incluso siendo necesario aun así llevar a cabo aclareo químico o manual.



Figura 1.5. Botones florales y flores hermafroditas (izquierda) y detalle de la alta intensidad de floración (derecha) en ciruelo japonés.

El **fruto** es una drupa glabra generalmente recubierta con pruina, que ejerce de capa protectora en el fruto ayudándola a retener la humedad y disminuir la pérdida de agua, dándole un aspecto opaco o polvoriento. Presenta una amplia variedad de tamaños, formas y color (Okie, 2008; Okie & Hancock, 2008; Topp *et al.*, 2012) (Figura 1.6). Su tamaño oscila entre 2 a 8 cm y su forma varía desde cordiforme (acorazonada), elíptica (alargado), achatada y circular, presentando una sutura generalmente no muy profunda y un pedúnculo mediano (Figura 1.6). En su interior presenta un endocarpo lignificado, de forma variable, alargado o redondeado y aplastado, que contiene una semilla amarga con testa marrón y cotiledones blancos (Agustí, 2010). El color del exocarpo varía desde verde y amarillo a rojo, violáceo o incluso negro, en función de la variedad. Presenta un mesocarpo carnoso, generalmente adherente al hueso (endocarpo lignificado), que puede tener desde un color blanquecino-verdoso, verde-amarillento, amarillo, anaranjado, rojo a rojo oscuro (Topp *et al.*, 2012).



Figura 1.6. Detalle de la diversidad de forma y color del fruto en ciruelo japonés.

El fruto presenta una curva de crecimiento doble-sigmoide típica de los frutales de hueso, donde el embrión madura durante la fase de estancamiento del crecimiento del mesocarpo y endurecimiento del endocarpo. Respecto a la fisiología de su maduración, las ciruelas han sido tradicionalmente clasificadas como frutos climatéricos, sin embargo, algunas variedades han sido clasificadas como climatéricos suprimidos, ya que realizan una síntesis limitada de etileno, pero son sensibles a una fuente exógena del mismo, así como ha llegado a describirse un mutante no climatérico (Minas *et al.*, 2015).

1.1.3. Biología reproductiva y adaptación agroclimática

En los frutales de hueso la polinización es necesaria para que se produzca la fecundación y el posterior cuajado del fruto. La polinización en *Prunus* es de naturaleza entomófila, realizándose por insectos, generalmente himenópteros de los géneros *Bombus* y *Aphis* (Calzoni & Speranza, 1998; Guerra & Rodrigo, 2015), que depositan el polen en el estigma de la flor. El estigma de la flor de ciruelo japonés es de tipo húmedo, como en otros *Prunus*, y cuando está receptivo produce una secreción que ayuda a la adherencia de los granos de polen en su superficie y ofrece un medio adecuado para la germinación de los mismos (Guerra & Rodrigo; 2015; Lora *et al.*, 2016). Una vez germinados, los granos de polen emiten un tubo polínico que avanza por el tejido de transmisión del estilo, sirviéndole de sustento nutritivo, hasta llegar al ovario. La doble fecundación se produce cuando un tubo polínico atraviesa uno de los dos primordios seminales y llega al saco embrionario (Herrero & Hormaza, 1996). En los frutales del género *Prunus* es necesaria la fecundación de al menos uno de los dos óvulos que se encuentran en el ovario para que se produzca el cuajado, ya que en este género no se producen frutos por partenocarpia.

Una vez ocurrida la polinización se lleva a cabo un proceso de reconocimiento entre el grano de polen y los tejidos que conforman el pistilo que desemboca en la expresión de la incompatibilidad polen-pistilo (De Nettancourt, 2001). El ciruelo japonés, presenta un tipo de sistema de incompatibilidad polen-pistilo de tipo gametofítico, como otros frutales de hueso

del género *Prunus*, cuya función principal es evitar la autofecundación (auto-incompatibilidad) o la fecundación con polen de individuos genéticamente emparentados (inter-incompatibilidad) (Bateman, 1952), promoviendo así la polinización cruzada evitando la consanguinidad y favoreciendo la heterocigosis, por lo que es considerada una ventaja evolutiva (De Nettancourt, 2001).

Este mecanismo de autoincompatibilidad está controlado por dos genes localizados en un único locus polimórfico, el locus S. Uno de los genes codifica glicoproteínas con actividad ribonucleasa (S-RNasas) en el pistilo y el otro es un gen F-Box que se expresa en el polen codificando una proteína con una caja F, denominada SFB (S-haplotype-specific F-box gen) (Kao & Tsukamoto, 2004). Esta autoincompatibilidad se manifiesta por la inhibición del crecimiento de los tubos polínicos en el estilo, impidiendo por tanto su llegada al ovario y evitando así su autofecundación. En este mecanismo, cuando el alelo S del grano de polen (haploide) es diferente de los dos alelos S presentes en el estilo (diploide) el tubo polínico puede crecer hasta llegar al ovario y así fecundar el primordio seminal, sin embargo, cuando el alelo S expresado en el polen es el mismo que alguno de los expresados en el pistilo, las S-RNasas degradan el ARN del tubo polínico, deteniendo así su crecimiento e impidiendo por tanto la fecundación (McCubbin & Kao, 2000; Akagi *et al.*, 2016) (Figura 1.7).



Figura 1.7. Esquema del crecimiento de tubos polínicos en una reacción compatible (naranja) e incompatible (azul) en una flor de ciruelo japonés.

En las últimas décadas, se ha logrado identificar los genotipos S en algunas especies de *Prunus* mediante técnicas enzimáticas (Bošković & Tobutt, 1996) y moleculares (Tao *et al.*, 1997, 1999; Yamane *et al.*, 2001; Beppu *et al.*, 2002). Estas técnicas han permitido la detección de las proteínas asociadas a los alelos S tanto en el pistilo como en el polen. En particular, el desarrollo de técnicas moleculares basadas en PCR ha sido fundamental en los últimos 20 años para avanzar en la identificación de los alelos S en especies de *Prunus* que presentan autoincompatibilidad, como el albaricoquero, almendro, cerezo, ciruelo europeo y ciruelo japonés (Herrera *et al.*, 2021).

En el caso específico del ciruelo japonés, se han identificado más de 42 alelos S-RNasa (Yamane *et al.*, 1999; Beppu *et al.*, 2002, 2003, 2012a; Zhang *et al.*, 2007, 2008; Guerra *et al.*, 2009a; Guerra & Rodrigo, 2015; Hedhly *et al.*, 2023) y de 15 alelos SFB (Zhang *et al.*, 2007; Sutherland *et al.*, 2008; Guerra *et al.*, 2012; Hedhly *et al.*, 2023). Esto ha permitido determinar el genotipo S de 249 variedades, las cuales han sido clasificadas en 26 grupos de incompatibilidad (Guerra & Rodrigo, 2015). Es importante destacar que las variedades autoincompatibles pertenecientes al mismo grupo son incompatibles entre sí, pero son compatibles con cualquier variedad perteneciente a un grupo diferente, siempre y cuando coincidan en el periodo de floración (Herrera *et al.*, 2021).

La mayoría de las variedades de ciruelo japonés son autoincompatibles (Okie & Weinberger, 1996; Okie, 2006; Guerra & Rodrigo, 2015), por lo que hay que tener este factor en cuenta en el diseño de las plantaciones disponiendo de variedades polinizadoras intercompatibles y coincidentes en época de floración para asegurar el cuajado (Okie, 2006).

También se han descrito algunas variedades autocompatibles. En esta especie, el carácter de autocompatibilidad al principio se asoció a la presencia en el genotipo del haplotipo *Se* en variedades como 'Santa Rosa', 'Late Santa Rosa' y 'Beauty' (Beppu *et al.*, 2005, 2010b). Posteriormente, se describieron otras posibles fuentes de autocompatibilidad asociadas al haplotipo *Sb* en 'Nubiana' y 'Zanzi Sun' (Guerra *et al.*, 2009a; Beppu *et al.*, 2012a), *St* en 'Karari' (Beppu *et al.*, 2012b) y *Sg* en 'Methley' (Beppu *et al.*, 2012a). Se ha sugerido que la autocompatibilidad del haplotipo *Se* podría deberse a una insuficiente acumulación de S-RNasa en el pistilo por una baja transcripción de la misma (Watari *et al.*, 2007), y en los haplotipos *Sb* y *Sg* se ha asociado a una pérdida de funcionalidad del polen para ser reconocido por parte del pistilo, sin estar asociada a una mutación de los genes ni a una inhibición de la transcripción de los mismos (Beppu *et al.*, 2012a).

Por lo tanto, la información y el conocimiento disponible en la actualidad no es concluyente y no permite predecir si una variedad de ciruelo es autocompatible o no a partir de su haplotipo S, ya que no se ha asociado ningún alelo S a la autocompatibilidad en ciruelo japonés, a diferencia de otras especies de este género como el albaricoquero (*Sc*) (Halász *et al.*, 2007) y el almendro (*Sf*) (Socías & Felipe, 1987), en las que sí que se ha asociado un alelo específico a la autocompatibilidad de la especie.

Desde el punto de vista de la adaptación a las condiciones agroclimáticas, los dos factores más determinantes son la satisfacción de las necesidades de frío, especialmente en zonas cálidas con baja acumulación de frío invernal, y la fecha de floración para evitar el riesgo de heladas en zonas frías. Las yemas florales y vegetativas necesitan cumplimentar unas determinadas necesidades de frío para salir del estado de dormancia, que son genotipo-específicas, y posteriormente una acumulación de calor para producirse la evolución fenológica que conducirá a una brotación y floración adecuada. Es importante que se cubran correctamente las necesidades de frío para que el crecimiento vegetativo y la capacidad

productiva sean satisfactorias (Saure, 1985; Egea *et al.*, 2003; Campoy *et al.*, 2011; Atkinson *et al.*, 2013). Las necesidades de frío en el ciruelo japonés varían en función del cultivar, desde 20 a más de 60 porciones (*Chill portions*), lo que determina considerablemente la época de floración, al existir una estrecha correlación entre las necesidades de frío y la fenología (Ruiz *et al.*, 2018).

1.1.4. Calidad del fruto

En el contexto de la producción agrícola y la industria alimentaria, especialmente en el caso de los frutales del género *Prunus*, la calidad del fruto presenta una elevada importancia, convirtiéndose en un factor determinante para garantizar la satisfacción de los consumidores y lograr la competitividad del sector comercializador en los mercados.

La calidad del fruto es un concepto complejo en el que intervienen características físicas, químicas y organolépticas, que determinan la aptitud del fruto para su consumo y uso final. En el caso específico del ciruelo japonés, la calidad abarca una amplia gama de atributos, entre los que se incluyen características sensoriales (textura, jugosidad, sabor y aroma), atributos estéticos (aparición visual y presencia de defectos), propiedades mecánicas (tamaño, forma, firmeza) y nutricionales (Infante *et al.*, 2008). Estos atributos son esenciales para lograr la aceptación por parte del consumidor y el incremento de la demanda en los mercados. En términos de atributos sensoriales, el dulzor, la acidez, el "sabor a ciruela" y la intensidad del aroma son algunos de los rasgos que se tienen en cuenta y han sido evaluados en ciruela (Crisosto *et al.*, 2007)

La ciruela posee un alto grado de aceptación por parte de los consumidores debido a sus cualidades nutritivas y organolépticas, y su elevado contenido en compuestos beneficiosos para la salud tales como compuestos fenólicos, antocianinas, carotenoides, minerales y pectinas (Gil *et al.*, 2002; Walkowiak-Tomczak, 2008; Tomás-Barberán *et al.*, 2013; Sahamishirazi *et al.*, 2017), lo que ha motivado que sea una de las frutas de mayor importancia (Díaz-Mula *et al.*, 2008). Las ciruelas son una gran fuente de azúcares como glucosa, fructosa, sacarosa y sorbitol, siendo la glucosa el azúcar predominante (Usenik *et al.*, 2008; Lozano *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2009; Infante *et al.*, 2011). También contienen ácido málico como el principal ácido orgánico, responsable de más del 80% del total, junto con otros ácidos como el succínico, cítrico, tartárico y fumárico (Singh *et al.*, 2009). En cuanto a su contenido nutricional y funcional, las ciruelas poseen importantes propiedades nutricionales y funcionales debido a su riqueza en fibra y antioxidantes, contienen elevadas cantidades de compuestos bioactivos como vitaminas (A, C y E), antocianinas, flavonoles, compuestos fenólicos y carotenoides (Stacewicz-Sapuntzakis *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2003). Estos compuestos bioactivos tienen efectos beneficiosos para la salud, ya que se ha evidenciado que su consumo está asociado con la prevención de la inflamación, hipertensión, riesgo a sufrir trombosis y cáncer (Simonavice *et al.*, 2014; Santhakumar *et al.*, 2015; Igwe *et al.*, 2017; Muzzaffar & Masoodi, 2018). En

comparación con otras especies del género *Prunus*, las ciruelas presentan niveles de emisión de compuestos volátiles de aroma más bajos (Gómez & Ledbetter, 1994).

El color, tanto de la piel como de la pulpa del fruto, es una característica distintiva entre diferentes especies y variedades de frutas, y juega un papel crucial en la calidad del fruto y en la aceptación del consumidor (Dar *et al.*, 2019; Tadeo *et al.*, 2022). Existe una amplia variabilidad en el color de la piel y de pulpa en los cultivares de ciruela japonesa, pudiendo presentar piel negra, violácea, granate, roja, verde o amarilla (Wang *et al.*, 2020a). El color de pulpa más común es amarillo o rojo, incluso algunos cultivares presentan una combinación de pulpa roja y amarilla (Fanning *et al.*, 2014). La pigmentación roja se debe principalmente a la acumulación de antocianinas, que son antioxidantes naturales con potenciales beneficios para la salud humana (Kruger *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2020a).

La firmeza del fruto y la textura de la pulpa son otros atributos de gran importancia, cada vez más demandados por el sector comercializador y los consumidores. Una firmeza elevada garantiza en general una buena aptitud para la manipulación y un buen comportamiento poscosecha. Por su parte, la textura crujiente tipo 'crunchy' es un carácter cada vez más demandado por los consumidores.

La calidad del fruto de ciruela puede estar influenciada por una serie de factores agronómicos y ambientales interrelacionados que intervienen desde la floración hasta la cosecha y el almacenamiento posterior (Crisosto *et al.*, 1997). Entre los factores agronómicos, podemos incluir el patrón utilizado, la poda, por su influencia en el vigor, la fertilización y el riego, los cuales tienen un impacto significativo en la calidad del fruto en términos de tamaño, sabor y textura. Los factores climáticos también juegan un papel importante, ya que las condiciones de temperatura, humedad y radiación solar durante el desarrollo del fruto afectan a la síntesis de compuestos que influyen en el sabor, color y firmeza del fruto. Por otra parte, en términos de poscosecha, factores como el almacenamiento y el transporte son cruciales para mantener la calidad durante la comercialización, requiriendo una manipulación adecuada, una temperatura óptima de almacenamiento y minimizando la duración del transporte.

1.1.5. Importancia económica

A nivel mundial, la producción de fruta de hueso supera los 48 millones de toneladas (Mt) (FAOSTAT, 2022). El ciruelo es el segundo frutal de hueso que más se produce tras el grupo formado por el melocotonero y la nectarina, con actualmente una producción global de más de 12 Mt y una tendencia ascendente de producción en las últimas 3 décadas, si bien se ha estabilizado en los últimos años (Figura 1.8). En cuanto a la superficie cultivada, el ciruelo es la especie de *Prunus* más cultivada con 2,6 millones de hectáreas (Mha), seguido del almendro (2,1 Mha) y el melocotonero (1,5 Mha) (FAOSTAT, 2022). Es importante destacar que las estadísticas oficiales no diferencian entre ciruela de tipo europea (*Prunus domestica* L.) y de tipo japonés (*Prunus salicina* Lindl.), por lo que los datos incluyen ambos cultivos.

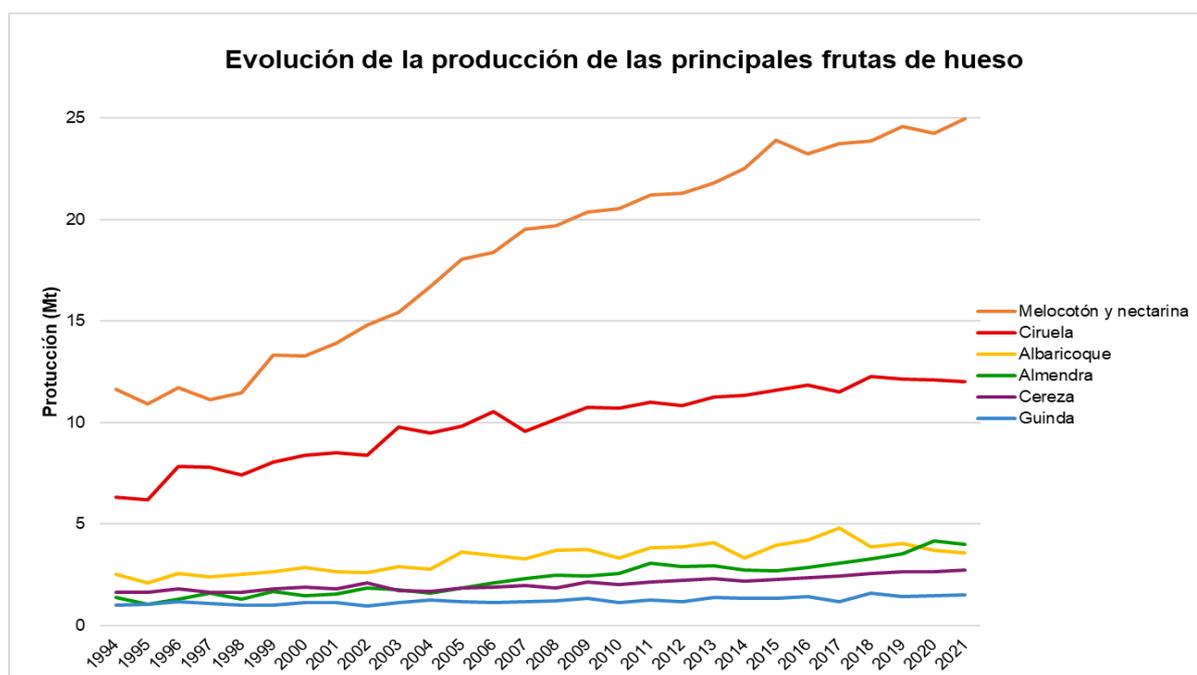


Figura 1.9. Evolución de la producción de los principales frutales de hueso (FAOSTAT, 2022).

Asia lidera la producción mundial de ciruela con más del 65% de la producción total, seguida de Europa (23,5%) y América (7,3%). China es el principal productor, con alrededor de la mitad de la producción mundial (6,62 Mt), centrándose esta en la producción de ciruela japonesa. Rumanía y Serbia ocupan el segundo y cuarto puesto, respectivamente, como países productores, basándose su producción en ciruela europea debido a sus condiciones climatológicas. En el hemisferio sur, destaca Chile como principal productor con 422.407 toneladas (t), ocupando el tercer puesto a nivel mundial, produciendo principalmente ciruela japonesa. Otros países productores importantes son Irán, Turquía, EE.UU., Rusia y Ucrania (FAOSTAT, 2022) (Figura 1.9).

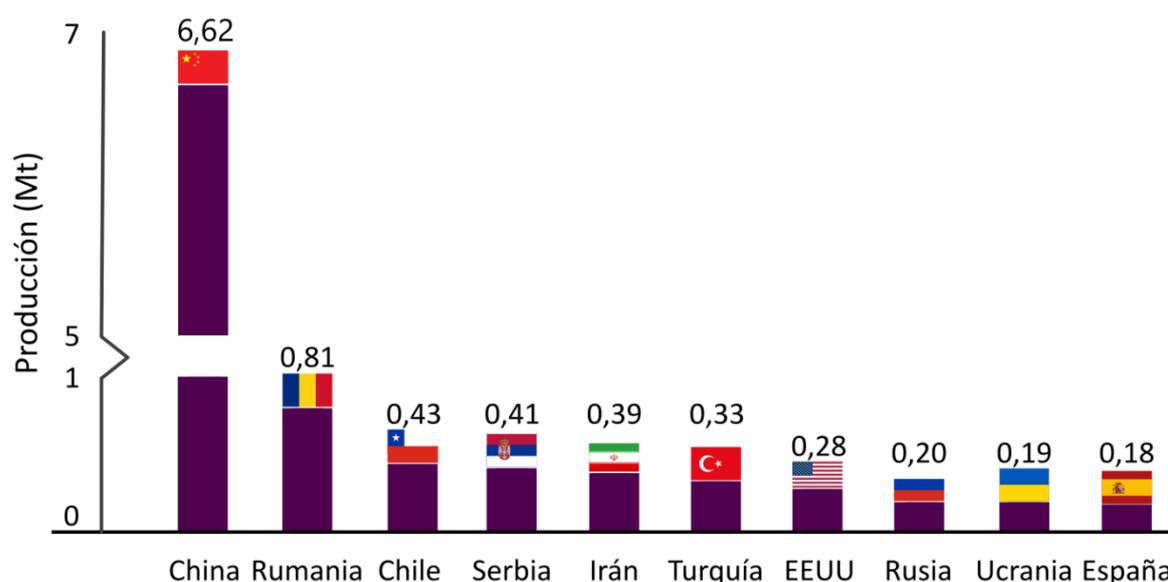


Figura 1.8. Top 10 de países productores de ciruela en orden descendente en función de la producción obtenida en 2021. La escala del eje y cambia a partir del primer millón de toneladas.

España, es un importante país productor de ciruela, ocupando el décimo puesto de países productores de ciruelo a nivel mundial (Figura 1.9), con una producción de 182.826 t y 13.685 ha destinadas a su cultivo (FAOSTAT, 2022), siendo su producción mayoritariamente de ciruelo japonés. A nivel nacional, el ciruelo se posiciona como el segundo frutal de hueso en términos de volumen de producción, situándose detrás del melocotonero y por encima del albaricoquero y el cerezo (Figura 1.10). Del total de la producción de ciruelas, el 92% se destina al consumo en fresco, el 4% se utiliza para transformación industrial, y el 2% restante se destina al autoconsumo, tanto para alimentación humana como animal (MAPA, 2022).

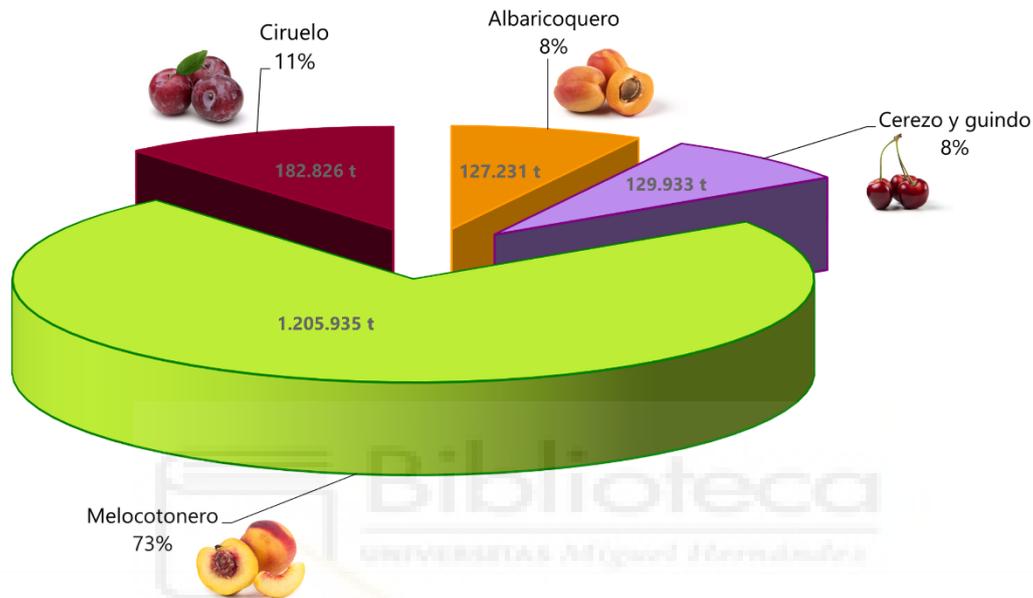


Figura 1.10. Distribución de la producción de frutales de hueso a nivel nacional (MAPA, 2022).

En cuanto a la superficie cultivada, el ciruelo se sitúa en torno a 13.685 ha, siendo el cuarto frutal de hueso más cultivado en España (MAPA, 2022). Las principales comunidades autónomas productoras de ciruelo son Extremadura, con un 55% de la producción nacional y un total de 101.100 t en 6.457 ha, seguida de Andalucía con una producción de 18.777 t en 1.316 ha, Aragón con 13.358 t en 1.331 ha, la Comunidad Valenciana con una producción de 12.243 t en 1.483 ha y la Región de Murcia con 10.701 t en 537 ha (Figura 1.11). La producción en todas estas regiones se centra en el cultivo de ciruelo japonés, excepto en Aragón, donde también se cultivan ciruelas europeas (MAPA, 2022).

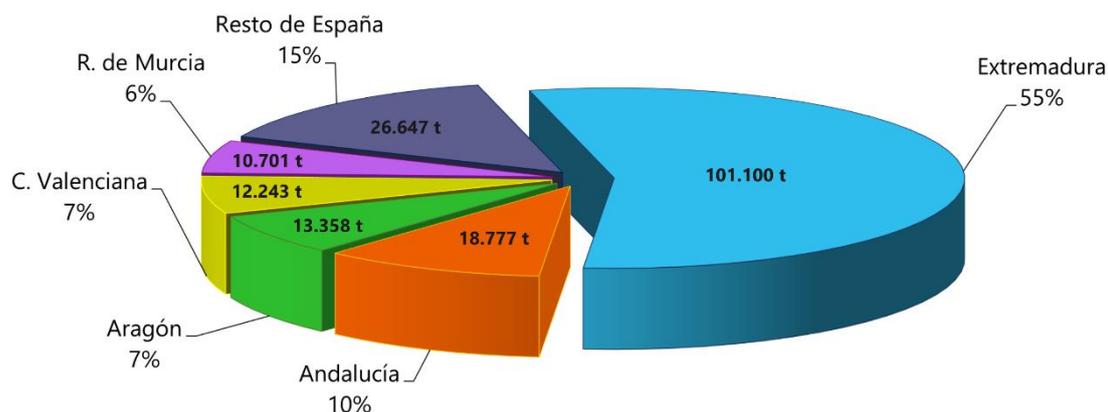


Figura 1.11. Producción nacional de ciruela por Comunidades Autónomas en 2022 (MAPA, 2022).

La superficie destinada al cultivo de ciruelo ha experimentado una disminución significativa en los últimos años, registrando una reducción del 27% desde 2008. Esta disminución ha tenido un impacto directo en la producción, que ha disminuido en un 9,85% desde 2008, alcanzando las 179.320 t en 2021, según datos de FAOSTAT (2022) (Figura 1.12).

Evolución superficie y producción ciruela en España

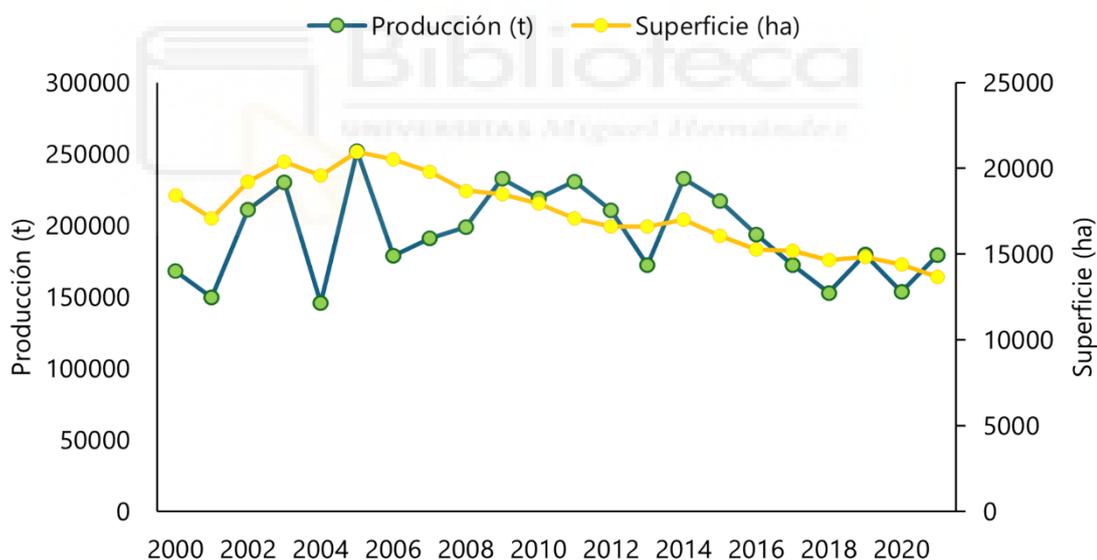


Figura 1.12. Evolución de la superficie de cultivo y la producción de ciruela desde 2000 hasta 2021 en España (FAOSTAT, 2022).

En particular, la Región de Murcia ha sufrido un declive muy significativo en la producción de ciruela. Como se puede observar en la Figura 1.13, en el periodo de 2008 a 2010 la producción cayó casi hasta casi la mitad, pasando de producir 40.000 t a aproximadamente 23.000 t en tan solo dos años, y en los años posteriores la tendencia ha seguido siendo decreciente. Actualmente, la Región de Murcia cuenta con una superficie de cultivo de 517 ha y una producción de 7.921 t (CARM, 2023).

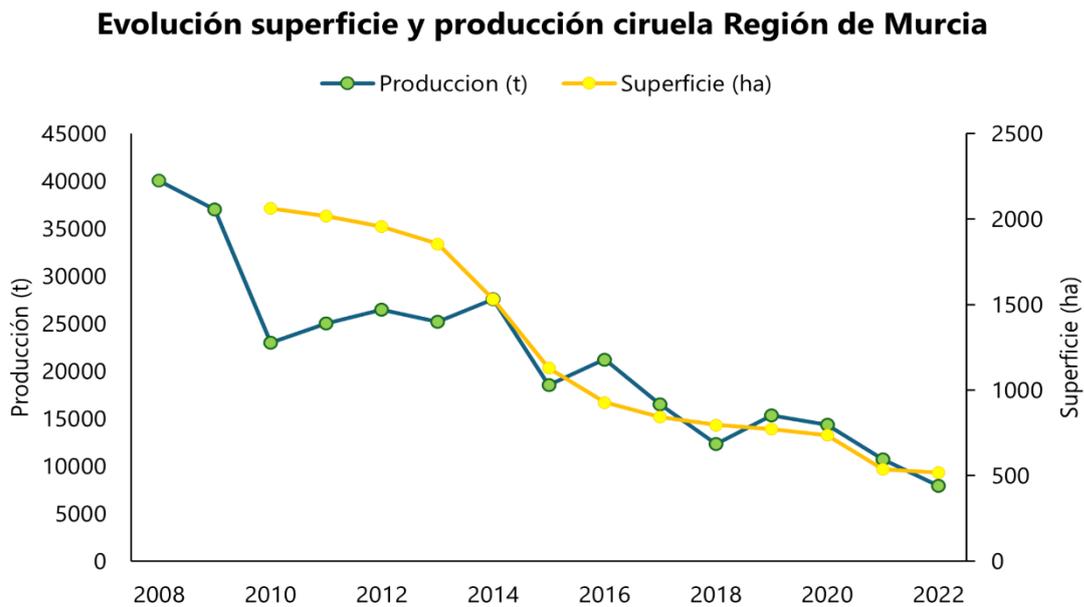


Figura 1.13. Evolución de la superficie de cultivo y la producción de ciruela desde 2008 hasta 2022 en la Región de Murcia (CARM, 2023).

1.1.6. Variedades cultivadas

La estructura varietal del ciruelo japonés está en un constante proceso de renovación, incorporándose cada año nuevas variedades procedentes de distintos programas de mejora, que se unen a una serie de variedades tradicionales que resisten el paso del tiempo debido a sus buenas características como la elevada productividad, calidad y calibre o la buena aptitud para el transporte a largas distancias (Guerrero *et al.*, 2019). Una parte de la producción se sigue basando en variedades utilizadas tradicionalmente como 'Red Beaut', 'Golden Japan', la 'Serie Black', 'Santa Rosa', 'Fortune', 'Angelino', etc.), si bien algunas variedades foráneas introducidas en los últimos años, tales como 'Black Splendor' o 'Crimson Globe' están teniendo una importante expansión en nuestro país.

En Europa, se ha solicitado el registro de 617 nuevas obtenciones entre 1995 y 2022, de las cuales 357 han sido aprobadas y el resto se encuentran en diversas fases de evaluación, lo que supone una media de 23 variedades nuevas registradas en los últimos 27 años (Guerra *et al.*, 2022). No obstante, el ciruelo japonés es la especie con menor dinamismo y renovación varietal dentro de los frutales de hueso.

En España el cultivo de ciruelo se introdujo en los años 70 con la variedad 'Golden Japan' de piel amarilla, 'Burbank' de piel amarillo-rojiza, 'Methley' y 'Santa Rosa' de piel rojiza (Rodrigo & Guerra, 2014). Años más tarde, las variedades más cultivadas eran 'Red Beaut', 'Golden Japan' y 'Santa Rosa'. Sin embargo, en la actualidad la situación varietal es muy distinta. Más de la mitad de la producción nacional recae en variedades de piel negra, como 'Black Diamond' y 'Angelino', esta última destacando entre todas las variedades ya que es la más cultivada (Guerra *et al.*, 2022), seguida de las variedades de piel roja como 'Fortune', 'Laetitia',

'Larry Ann' y 'Red Beaut' o amarillas, como 'Songold', 'Golden Globe' y 'Golden Japan'. Se espera que algunas variedades novedosas e interesantes, como 'Shapiro', 'African Rose', 'Sunkiss' o las líneas Ebony y las nuevas variedades de la serie Myrtea, 'lucía myrtea' y 'victoria myrtea', aumenten su presencia en los próximos años, lo que conllevará una disminución de la superficie ocupada por variedades tradicionales como 'Angeleno', 'Fortune' o 'Songold'. (Rodrigo & Guerra, 2014; Guevara *et al.*, 2021; Guerra *et al.*, 2022).

Atendiendo a una clasificación por fecha de maduración, algunas de las principales variedades cultivadas actualmente en nuestro país son:

- Variedades precoces: Se caracterizan por presentar una fecha de maduración entre el 15 de mayo y el 15 de junio. La variedad más representativa y también la más ampliamente cultivada de este grupo es 'Red Beaut', que madura en la segunda quincena de mayo, siendo la variedad de maduración más temprana. Sin embargo, su cultivo ha disminuido notablemente debido a su sensibilidad al virus de la sharka, androesterilidad, dificultad de polinización y una moderada calidad del fruto. En los últimos años, se han introducido nuevas variedades, como 'Gaia', 'Songría 15', 'Sonrisa 25', 'Earliqueen' y 'Black Splendor'. De estas, solo 'Black Splendor' ha experimentado un notable incremento en superficie y producción, siendo actualmente la variedad más cultivada en estas fechas. Este grupo se completa con las variedades 'Golden Japan' y 'Royal Garnet', utilizadas tradicionalmente y cuya maduración se sitúa entre el 10 y el 15 de junio. Más recientemente, se han registrado y comenzado a cultivar las nuevas variedades 'lucía myrtea' y 'victoria myrtea' del programa de mejora CEBAS-IMIDA, que maduran en la primera quincena de junio y presentan un gran potencial de cultivo por sus bajas necesidades de frío, elevada calidad gustativa y autocompatibilidad floral en el caso de 'victoria myrtea' (Guevara *et al.*, 2021).

- Variedades de media estación: Estas variedades maduran entre el 15 de junio y el 15 de julio. En este grupo se incluye la variedad tradicional 'Santa Rosa'. A pesar de que en los últimos años ha disminuido su cultivo, en la actualidad sigue siendo una de las variedades más cultivadas, destacándose por su autocompatibilidad floral (Egea & García-Brunton, 1995) y elevada calidad del fruto. Este grupo también incluye a la mayoría de las variedades de la serie Black ('Black Beaut', 'Black Star', 'Black Amber', 'Black Gold', 'Black Diamond'), que experimentaron un notable auge debido a la demanda de ciruelas de piel negra-violácea. Sin embargo, la rapidez de su coloración ha llevado a un manejo inadecuado de la recolección, afectando negativamente a su aceptación por parte del consumidor. Otras variedades como 'Ambra' (utilizada frecuentemente como polinizador de 'Red Beaut') o 'Queen Rose', tienen un cultivo muy minoritario.

- Variedades tardías: Estas variedades maduran a partir del 15 de julio. En general, se siguen cultivando principalmente las variedades tardías tradicionales, tales como 'Fortune', 'Friar', 'Royal Diamond', 'Son Gold', 'Laetitia', 'Larry Ann' o 'Angeleno'. Recientemente, se ha añadido 'Grimson Globe', aunque se observa una menor renovación varietal en este segmento.

1.1.7. Problemática del cultivo

El cultivo de ciruelo en España presenta una serie de deficiencias y problemas que se deben abordar con premura. El elenco de variedades tradicionales utilizadas es reducido y muchas de las nuevas variedades proceden de programas de mejora foráneos, lo que implica normalmente el pago de grandes cánones, falta de información, una disponibilidad tardía de las mejores variedades, además de presentar problemas de adaptación a nuestras condiciones, generalmente por sus elevadas necesidades de frío invernal (Ruiz *et al.*, 2010a). Un apartado que merece ser destacado debido a su importancia y por las dificultades que conlleva en el cultivo de la especie es la autoincompatibilidad floral, lo que implica la necesidad de tenerlo en cuenta en el diseño de las plantaciones disponiendo de variedades polinizadoras intercompatibles y coincidentes en época de floración (Guerra *et al.*, 2011; Guerra & Rodrigo, 2015).

Otro problema grave que afecta sobre todo a la Región de Murcia y a la Comunidad Valenciana es la incidencia de la enfermedad de la sharka, causada por el potyvirus plum pox virus (PPV), que causa importantes daños en esta especie frutal afectando tanto a la calidad como a la producción (LLácer & Cambra, 1986). Además, el ciruelo es una fuente de infección para otras especies como el melocotonero y albaricoquero, donde esta enfermedad también es crucial. Este problema conlleva una difícil solución, ya que no se dispone de material vegetal de ciruelo japonés resistente al virus y la totalidad de las variedades cultivadas son susceptibles (Rubio *et al.*, 2011a).

Otro de los problemas que se hacen presentes en el ciruelo japonés es la mediocre calidad comercial de parte de las variedades cultivadas. La creciente competitividad de los mercados unida a las nuevas exigencias de los consumidores lleva a la necesidad de producir una ciruela de gran calidad caracterizada por un aspecto atractivo, adecuadas textura y firmeza, y elevada calidad gustativa (Ruiz *et al.*, 2011).

1.2. MEJORA GENÉTICA EN CIRUELO JAPONÉS

1.2.1. Programas de mejora genética y objetivos en ciruelo japonés

La necesidad de afrontar los desafíos emergentes derivados de las diversas problemáticas del cultivo, la evolución de las demandas y expectativas de los consumidores y la creciente competencia de los mercados, así como los nuevos retos tecnológicos, agronómicos y medioambientales, incluyendo el impacto del cambio climático y la sostenibilidad ecológica, requieren de programas de mejora genética que den respuesta a estas necesidades mediante la obtención de nuevas variedades de alto valor y excelencia que incrementen la diversidad genética y fenotípica de la especie.

En la actualidad, existen programas de mejora genética de ciruelo japonés alrededor de todo el mundo, localizándose en los cinco continentes (Hartmann & Neumüller, 2009; Topp

et al., 2012; Guerra & Rodrigo, 2017; Petri *et al.*, 2020). La intensa actividad de estos programas de mejora durante las últimas décadas ha impulsado considerablemente la renovación varietal en este cultivo (Guerra & Rodrigo, 2017), que, en comparación con otras especies de frutales de hueso, presenta un menor dinamismo varietal.

En el continente asiático destacan programas de mejora genética en Corea del Sur, China, Israel, Japón, Taiwán y Tailandia. En China se desarrollan siete programas activos en diversas regiones frías del país, enfocados en aumentar el tamaño y la firmeza del fruto, sin comprometer la calidad gustativa, mejorar su adaptación a diferentes zonas de cultivo, así como sus características poscosecha y la resistencia a manchas y enfermedades (Topp *et al.*, 2012; Milošević & Milošević, 2018). Recientemente, se ha obtenido con éxito la variedad de ciruela de piel amarilla denominada 'Crown' (Li *et al.*, 2015). En Japón, la mejora del ciruelo es llevada a cabo principalmente por el sector privado (80%) con una contribución menor del sector público (20%). Sus esfuerzos se centran en ampliar las fechas de recolección y mejorar la calidad del fruto. Algunas de las variedades más interesantes obtenidas por el programa de mejora público del Instituto Nacional de Ciencias de Árboles Frutales (*National Institute of Fruit Tree Science*) en Tsukuba son la autocompatible 'Honey Rose' (Yamaguchi *et al.*, 1998; Beppu *et al.*, 2010a) y 'Honey Heart' (Yamaguchi *et al.*, 1999). En Corea del Sur los objetivos primordiales se centran en mejorar la calidad del fruto, dando lugar a diversas variedades como 'Purple Queen' y 'Honey Red' (Jun *et al.*, 2008) desarrolladas por Instituto Nacional de Investigación Hortícola (*National Horticultural Research Institute*) o 'Summer Fantasía' desarrollada por el Instituto Nacional de Ciencias Hortícolas y Herbáceas (*National Institute of Horticultural and Herbal Science of the Rural Development Administration*) (Li *et al.*, 2015). En Taiwán y Tailandia la mejora se enfoca en desarrollar variedades con bajas necesidades de frío, alta calidad de fruto y capacidad de almacenamiento prolongado (Milošević & Milošević, 2018).

En América, se desarrollan diversos programas de mejora de ciruelo en Brasil, Chile, México, Uruguay y Estados Unidos. En los países de América del Sur la mejora se centra en lograr cultivares con bajas necesidades de frío y resistencia a enfermedades (Topp *et al.*, 2012; Milošević & Milošević, 2018). Estados Unidos tiene una larga historia de mejoramiento del ciruelo, remontándose a la segunda mitad del siglo XIX, siendo Luther Burbank uno de los primeros mejoradores que empleó métodos científicos para obtener ciruelas japonesas, algunas de las cuales, como 'Santa Rosa', todavía tienen una gran relevancia comercial en la actualidad (Karp, 2015). Estados Unidos cuenta con programas de mejora muy activos tanto en el sector público como en el privado, con ubicaciones en California, Georgia, Texas y Florida. Los programas del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) tienen como principales objetivos aumentar el calibre en frutas tempranas y mejorar la calidad gustativa y organoléptica. De este programa provienen importantes variedades como 'Black Splendor', 'Fortune', 'Black Amber', 'Friar' y 'Queen Rosa'. También se encuentran programas de mejora en el sur de los Estados Unidos que buscan obtener variedades adaptadas a zonas con mayor humedad, más tardías para evitar las heladas primaverales y resistentes a enfermedades como el cancro bacteriano, la mancha bacteriana y la escaldadura de la hoja del ciruelo. De este

programa se derivan cultivares como 'Byrongold', 'Ruby Queen' o 'Segundo' (Okie, 2006). No obstante, la mayoría de las nuevas variedades provienen de obtentores privados en California, entre las que destacan Sun World, Zaiger Genetics y Bradford Farms, que presentan programas de mejora muy activos con novedades casi anuales, tales como las variedades 'Yummy Gem', 'Yummy Beaut' y 'Red Yummy' de Bradford Farms, o las variedades 'Rubirosa' y 'Emerald Beaut' de Zaiger Genetics. Además, Sun World ha desarrollado una serie de ciruelas de piel negra y pulpa roja comercializadas bajo la marca 'Black Diamond' (Topp *et al.*, 2012; Guerra & Rodrigo, 2017; Milošević & Milošević, 2018).

En Sudáfrica, destacan los programas de StarGrow, de carácter privado, y de ARC Infrutec-Nietvoorbij, de carácter público, cuyos objetivos principales son obtener variedades con grandes frutos, ampliar la gama de colores de su piel, desarrollar resistencia a enfermedades y poseer buenas características poscosecha que permitan su exportación al hemisferio norte. Entre las variedades obtenidas de interés se encuentran 'Songold', 'Pioneer', 'Golden Kiss', 'Sourvenir', 'African Rose' y 'Sundew' entre otras (Topp *et al.*, 2012; Guerra & Rodrigo, 2017; Milošević & Milošević, 2018).

En Oceanía, se llevan a cabo programas de mejora genética en Australia y Nueva Zelanda. El programa público de la Universidad de Queensland en Australia se enfoca en la resistencia a enfermedades, bajas necesidades de frío y maduración temprana, habiendo obtenido exitosamente variedades como 'Queensland Bellerosa', 'Queensland Earlisweet' y 'Queen Garnet', esta última comercializada por primera vez en 2007 (Netzel *et al.*, 2010). Esta variedad destaca por su alto valor nutracéutico debido a su elevada concentración de antocianinas y a su gran poder antioxidante (Topp *et al.*, 2012; Guerra & Rodrigo, 2017; Milošević & Milošević, 2018).

En Europa, la mejora del ciruelo japonés es relativamente reciente y se concentra principalmente en países como España, Italia y Francia. En Italia hay programas de mejora en Roma, Florencia, Bolonia y Forli, cuyos objetivos son lograr una alta calidad de fruto y una mayor productividad (Topp *et al.*, 2012; Guerra & Rodrigo, 2017; Milošević & Milošević, 2018). El programa coordinado por el Departamento de Horticultura de la Universidad de Florencia busca obtener nuevos cultivares adecuados para las zonas climáticas del centro-norte de Italia (Bellini & Nencetti, 1997). En el programa de Florencia destacan la obtención variedades como 'DoFi-Guidy' y 'DoFi-Sandra' (Bellini & Nencetti, 2002), mientras que el programa de Bolonia ha lanzado cultivares como 'Dark Sunshine', 'Dark Sunlight' (Milošević & Milošević, 2018) y 'Black Glow' (Lugli *et al.*, 2019). En España, existen varios programas de mejora. En Extremadura la empresa Provedo lidera un programa privado con enfoque en la alta calidad del fruto, aptitud poscosecha y alta productividad. Recientemente, la empresa PSB ha comenzado a desarrollar variedades de ciruela centradas en una alta calidad gustativa y elevada producción, registrándose variedades como 'Pallatina-cov', 'Apolina-cov' y 'Rossarmor-cov', mientras que la empresa Ibergen ha desarrollado varias variedades bajo las marcas BabyPlum, centradas en una tipología de fruta pequeña, e IberPlum, híbridos de ciruela y albaricoque que abarcan toda

la campaña con distintos colores de piel y pulpa. Por otro lado, el sector público cuenta con el programa desarrollado en colaboración entre el IMIDA y el CEBAS-CSIC en la Región de Murcia que busca obtener variedades extratempranas con bajas necesidades de frío, alta calidad gustativa, autocompatibles y resistentes al virus de la enfermedad de la sharka (Ruiz *et al.*, 2019). Recientemente, este programa ha desarrollado dos variedades notables, 'lucía myrtea' y 'victoria myrtea', caracterizadas por su pulpa roja, bajas necesidades de frío, maduración temprana, buena adaptación a zonas cálidas y la autocompatibilidad de una de ellas (Guevara *et al.*, 2021).

Los objetivos perseguidos en la mejora del ciruelo japonés pueden variar de un país a otro, pero de manera general, se ha enfocado en ampliar el calendario de producción y disponibilidad de fruta en el mercado, obtener una firmeza óptima para facilitar la manipulación, el almacenamiento y transporte, garantizar una alta calidad organoléptica y una buena apariencia del fruto, aumentar el tamaño de la fruta y mejorar su aptitud poscosecha. En relación a la fecha de floración, los objetivos pueden variar dependiendo del lugar de mejora, buscando variedades extratempranas adaptadas a zonas muy cálidas o variedades tardías para reducir el riesgo de heladas primaverales. Además, características como la autocompatibilidad, adaptabilidad climática, productividad y resistencia, especialmente a PPV, son ampliamente valoradas y deseadas en la mejora genética de esta especie.

1.2.2. Desarrollo de híbridos interespecíficos *P. salicina* × *P. armeniaca* (plumcots)

La hibridación interespecífica es una técnica comúnmente empleada en mejora genética de plantas para transferir genes de una especie a otra. Se efectúa con el propósito de desarrollar nuevas tipologías de frutas que combinen características deseables de dos o más especies estrechamente relacionadas. Asimismo, se emplea cuando algún carácter de interés no está presente en la especie que se desea mejorar, pero sí está presente en especies estrechamente relacionadas, como es el caso de ciertas resistencias a enfermedades. Sin embargo, dentro del género *Prunus*, los híbridos interespecíficos presentan una notable dificultad de obtención (Pérez & Moore, 1985), dado que las barreras genéticas que obstaculizan la hibridación tienden a incrementarse conforme aumenta la divergencia genética (Layne & Sherman, 1986; Okie, 2005; Morimoto *et al.*, 2019).

El desarrollo de los híbridos interespecíficos entre *P. salicina* y *P. armeniaca* se remonta a principios del siglo XX, cuando Luther Burbank se propuso crear una nueva fruta que combinara las cualidades deseables de ambas especies. Su objetivo era obtener un fruto que mantuviera la jugosidad y el sabor característico de las ciruelas japonesas, pero con la dulzura y suavidad distintivas de los albaricoques. Para ello Burbank llevó a cabo cruces entre las dos especies, dando origen a los primeros híbridos interespecíficos conocidos como plumcots. El término plumcot fue acuñado por el propio Burbank para describir esta nueva fruta, combinando las palabras "plum" (ciruela) y "apricot" (albaricoque) (Roeding, 1908; Hedrick,

1911; Howard, 1945; Topp *et al.*, 2012). Sin embargo, los primeros híbridos no fueron comerciales debido a su baja productividad y elevada acidez (Ledbetter *et al.*, 1994; Okie, 2005; Jun & Chung, 2007).

En la primera generación de descendencia de los cruzamientos interespecíficos entre ciruelo y albaricoque, las plántulas híbridas heredan la piel pubescente del albaricoque y la semilla adherida al hueso del ciruelo, dando lugar a una gran variabilidad en el tamaño, forma, color, sabor y firmeza de los frutos (Ledbetter *et al.*, 1994; Jun *et al.*, 2009). Una de las razones que justifican el hibridar ciruelo y albaricoquero fue combinar la pulpa firme y el amplio rango de floración y madurez del ciruelo con el aroma y sabor del albaricoque. Existen diferencias en los aromas presentes en el ciruelo y el albaricoquero, con lactonas y alcoholes terpénicos que proporcionan el característico aroma del albaricoque (Gómez & Ledbetter, 1997; Gómez-Plaza & Ledbetter, 2010). Los plumcots producen niveles elevados de compuestos volátiles típicos tanto del ciruelo como del albaricoque, además de volátiles únicos que no están presentes en ninguno de los progenitores (Gómez *et al.*, 1993; Gómez & Ledbetter, 1993).

Mediante la selección y retrocruzamiento continuo con ciruelo, los defectos que aparecen en los primeros plumcots tienden a reducirse en sucesivos cruzamientos, siendo posible la obtención de genotipos más comerciales, lo que explica un aumento en el número de híbridos interespecíficos de ciruelo que se están cultivando en la actualidad. El programa genético de Zaiger Genetics registró las denominaciones '*pluot*' y '*aprium*' en 1991 para distinguir sus híbridos interespecíficos de los ciruelos regulares. La segunda generación de híbridos, procedentes del retrocruzamiento entre plumcots y ciruelo resultó en híbridos actualmente conocidos como '*pluots*', donde la ciruela aporta el 75% del nuevo híbrido y el 25% restante el albaricoquero, teniendo así predominantemente ascendencia y morfología de ciruelo, mientras que los '*apriums*' son híbridos procedentes de retrocruzamientos entre plumcot y albaricoquero, presentando una predominancia del 75% de albaricoquero (Topp *et al.*, 2012; Milošević & Milošević, 2018).

Diversos programas de mejora de ciruelo en diferentes países han implementado la hibridación interespecífica para el desarrollo de nuevas variedades que abordan aspectos como la transmisión de bajas necesidades de frío, resistencia al virus de sharka (PPV) y calidad del fruto (Topp *et al.*, 2012; Milošević & Milošević, 2018). Los programas más activos que se han centrado en este enfoque se encuentran en Corea del Sur (National Institute of Horticultural and Herbal Science), Estados Unidos (Bradford Farms, Zaiger Genetics y USDA) y España (CEBAS-CSIC/IMIDA, Ibergen y Provedo). La gran aceptación por parte de los consumidores situó a variedades de interespecíficos del programa de Zaiger Genetics como '*Black Kat*', '*Flavor Fall*', '*Flavorich*' y '*Flavorosa*' entre las variedades de "ciruelo" más cultivadas en California en 2008 (Topp *et al.*, 2012). El programa de Corea del Sur ha registrado plumcots procedentes de cruzamientos entre el cultivar '*Soldam*' (ciruelo japonés) y '*Harcot*' (albaricoquero) como '*Beniasama*', '*Red Pricot*', '*New Castle Gold*', '*Tiffany*', '*Harmony*',

'Symphony' y 'Shiny' (Jun *et al.*, 2011; Nam *et al.*, 2013, 2015, 2016; Milošević & Milošević, 2018; Kwon *et al.*, 2020).

En España, algunos programas de mejora están desarrollando híbridos interespecíficos entre ciruelo japonés y albaricoquero con distintos objetivos. El programa público CEBAS-CSIC/IMIDA busca la introducción de la resistencia a PPV y autocompatibilidad mediante hibridaciones interespecíficas empleando albaricoqueros resistentes y autocompatibles (Ruiz *et al.*, 2019). El programa de mejora de la empresa Provedo tiene por objetivos el desarrollo de híbridos interespecíficos con una elevada productividad y aptitud poscosecha, como 'Ebony 85' y 'Ebony 88' (Provedo, 2017). Por último, el programa de Ibergen busca ampliar el calendario de cosecha, abarcando toda la campaña, con frutos de alta calidad y con un amplio rango de colores de piel y pulpa bajo la gama IberPlum (Ibergen, 2023).

1.2.3. Genómica y marcadores moleculares para selección asistida

1.2.3.1. Identificación de genes mayores y QTLs en especies del género *Prunus*

Existen numerosos estudios que se han realizado para identificar regiones genómicas asociadas a caracteres de interés agronómico en el género *Prunus* (Salazar *et al.*, 2014). Cuando la expresión del fenotipo está influenciada por muchos genes que contribuyen en distinta magnitud, el carácter recibe el nombre de cuantitativo o poligénico, mientras que los caracteres en los que su expresión fenotípica está controlada por un solo gen se denominan caracteres cualitativos, mendelianos o monogénicos. Un QTL (*Quantitative Trait Loci*) se puede definir como una región genómica, influenciada por varios genes, a priori responsable de la variación genética cuantitativa de un rasgo donde la variación alélica de un locus está asociada con la del rasgo poligénico, mientras que un MTL (*Mendelian Trait Loci*) se puede describir como una región del genoma vinculada a un único gen responsable de la variación del fenotipo de un rasgo monogénico (Collard *et al.*, 2005).

Gracias al elevado nivel de sintenia entre el genoma de las diferentes especies del género *Prunus* y la existencia de un mapa de referencia del género (Joobeur *et al.*, 1998), mejorado mediante diversos estudios (Joobeur *et al.*, 2000; Donoso *et al.*, 2015), resultante de una progenie F2 de almendro (cv. 'Texas') × melocotonero (cv. 'Earlygold'), Dirlewanger *et al.* (2004) elaboraron un mapa integrado de varias especies del género como melocotonero, albaricoquero, almendro y mirabolano mediante marcadores en común posicionando así 28 genes mayores estudiados en diferentes poblaciones (Figura 1.14). De los 28 genes mayores mapeados, la mayoría de ellos (19) fueron mapeados en progenies de melocotonero, seis en progenies de almendro o almendro × melocotonero, dos en albaricoquero y uno en ciruelo mirabolano.

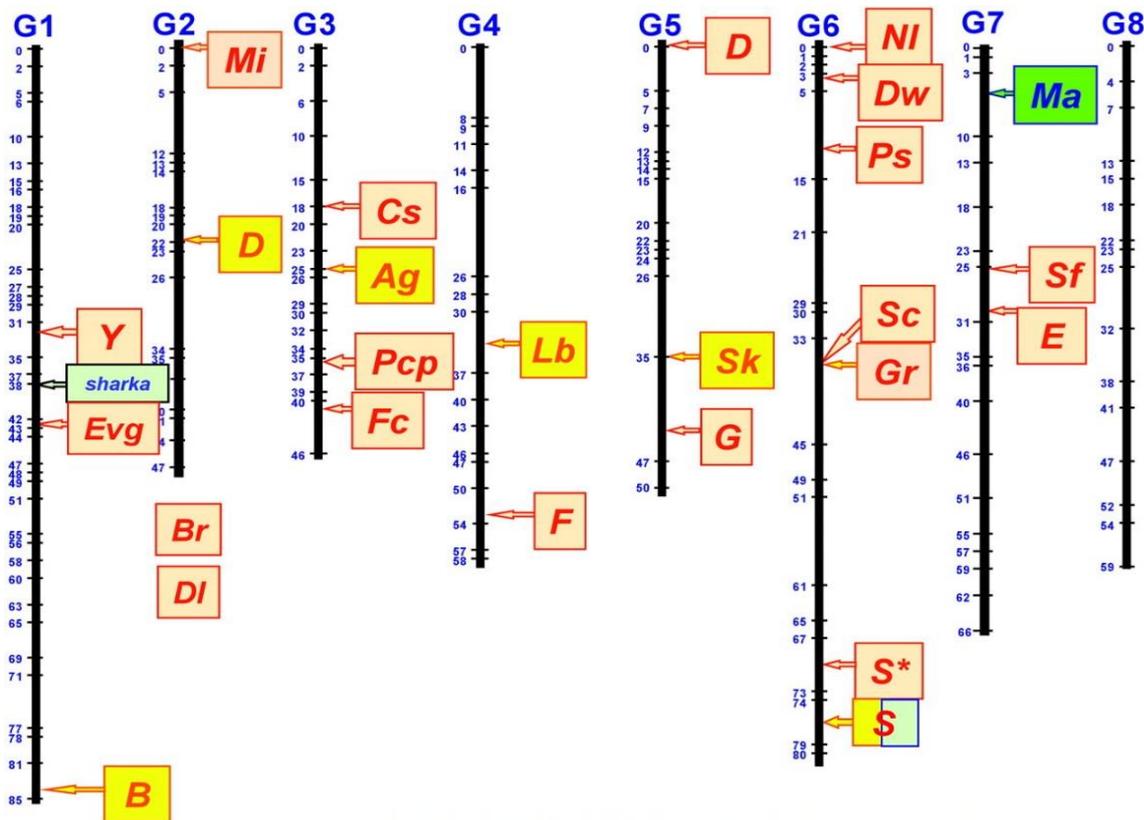


Figura 1.14. Posición aproximada de 28 genes mayores mapeados en diferentes poblaciones de albaricoquero (fondo azul), melocotonero (fondo naranja), almendro o almendro x melocotonero (fondo amarillo) y mirabolano (fondo verde) en el mapa de referencia de *Prunus*. Las abreviaturas de los genes corresponden a: Y, color de pulpa de melocotón; B, color de pétalos de melocotón y almendro; Sharka, resistencia a plum pox virus en albaricoquero; B, color de la flor en almendro x melocotonero; Mi, Resistencia a nemátodos de melocotonero; D, dureza de la cáscara en almendro; Br, hábito de crecimiento columnar en melocotonero; DI, flores dobles en melocotonero; Cs, color de la pulpa alrededor del hueso en melocotonero; Ag, color de las anteras en almendro x melocotonero; Pcp, flor pluricarpelar en melocotonero; Fc, color de la flor en melocotonero; Lb, fecha de floración en almendro; F, adherencia de la pulpa al hueso en melocotonero; D, no acidez en fruto en melocotonero; Sk, amargor de la semilla en almendro; G, pubescencia en la piel del fruto en melocotonero; NI, forma de la hoja en melocotonero; Dw, tamaño enano de la planta en melocotonero; Ps, androesterilidad en melocotonero; Sc, color de la piel del fruto en melocotonero; Gr, color de la hoja en melocotonero; S*, forma del fruto en melocotonero; S, autoincompatibilidad en almendro y albaricoquero; Ma, resistencia a nemátodos en mirabolano; E, forma de las glándulas foliares en melocotonero; Sf, resistencia a mildiu en melocotonero. Los genes DI y Br están localizados en una posición desconocida de G2. Figura procedente del trabajo de Dirlewanger *et al.* (2004).

La variación genética de estos genes mayores ha sido de gran utilidad en la mejora genética del género *Prunus* ya que en su mayoría regulan caracteres de interés que siguen una herencia mendeliana, por lo que han sido excelentes candidatos para el diseño de marcadores para selección asistida por marcadores o MAS (*Marker-assisted selection*). Sin embargo, asociar marcadores a QTL de caracteres poligénicos es mucho más complicado de implementar en la mejora asistida por marcadores en los programas de mejora debido a su naturaleza poligénica, especialmente los QTLs regulados por muchos genes y donde el ambiente tiene un gran efecto. Hasta la fecha se han identificado muchos QTLs en especies de *Prunus*, relacionados con

desarrollo del árbol, resistencia a plagas y enfermedades, floración, maduración y calidad del fruto y la semilla (Salazar *et al.*, 2014). Algunos de estos QTLs se muestran en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Principales QTLs relacionados con caracteres agronómicos identificados en especies del género *Prunus*.

Carácter	Especie	Grupo de ligamiento	Referencia
Fecha de floración			
	Melocotonero	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	Dirlewanger <i>et al.</i> (1999); Yamamoto <i>et al.</i> (2001); Verde <i>et al.</i> (2002); Quilot <i>et al.</i> (2004); Fan <i>et al.</i> (2010); Bielenberg <i>et al.</i> (2015); Rawandoozi <i>et al.</i> (2021)
	Almendro	1, 4, 6, 7	Ballester <i>et al.</i> (2001); Sánchez-Pérez <i>et al.</i> (2007a, 2012)
	Albaricoquero	1, 4, 5, 7	Ruiz <i>et al.</i> (2010b); Campoy <i>et al.</i> (2011); Salazar <i>et al.</i> (2013)
	Cerezo agrio	1, 2	Wang <i>et al.</i> (2000)
	Cerezo dulce	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	Dirlewanger <i>et al.</i> (2012); Castède <i>et al.</i> (2015); Branchereau <i>et al.</i> (2022)
	Ciruelo japonés	1, 6, 7	Salazar <i>et al.</i> (2020)
Necesidades de frío			
	Melocotonero	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	Fan <i>et al.</i> (2010); Romeu <i>et al.</i> (2014); Bielenberg <i>et al.</i> (2015)
	Almendro	1, 3, 4, 7	Sánchez-Pérez <i>et al.</i> (2012)
	Albaricoquero	1, 2, 3, 5, 6, 7	Olukolu <i>et al.</i> (2009)
	Cerezo	1, 2, 4, 6, 7	Quero-García <i>et al.</i> (2009a); Castède <i>et al.</i> (2015)
Fecha de maduración			
	Melocotonero	1, 2, 3, 4, 5, 6,	Dirlewanger <i>et al.</i> (1999, 2012); Yamamoto <i>et al.</i> (2001); Verde <i>et al.</i> (2002); Quilot <i>et al.</i> (2004); Eduardo <i>et al.</i> (2011); Nuñez-Lillo <i>et al.</i> (2019); Rawandoozi <i>et al.</i> (2021)
	Almendro	4, 5	Sánchez-Pérez <i>et al.</i> (2007a)
	Albaricoquero	2, 4, 6, 7	Ruiz <i>et al.</i> (2010b); Salazar <i>et al.</i> (2013)
	Cerezo agrio	4, 6	Wang <i>et al.</i> (2000)
	Cerezo dulce	2, 4, 5, 6	Quero-García <i>et al.</i> (2009b); Zhang <i>et al.</i> (2010); Dirlewanger <i>et al.</i> (2012); Calle & Wünsch (2020)
	Ciruelo japonés	4, 6	Salazar <i>et al.</i> (2017, 2020)
Peso del fruto			
	Melocotonero	1, 2, 3, 4, 5, 6,	Dirlewanger <i>et al.</i> (1999); Yamamoto <i>et al.</i> (2001); Quilot <i>et al.</i> (2004); Cantín <i>et al.</i> (2010); Eduardo <i>et al.</i> (2011); Zeballos <i>et al.</i> (2016)
	Albaricoquero	1, 3, 4, 8	Ruiz <i>et al.</i> (2010b); Salazar <i>et al.</i> (2013)
	Cerezo agrio	2, 4	Wang <i>et al.</i> (2000)
	Cerezo dulce	2, 6	Zhang <i>et al.</i> (2010)
	Ciruelo japonés	2, 7	Salazar <i>et al.</i> (2017, 2020)

Tabla 1.1 Continuación. Principales QTLs relacionados con caracteres agronómicos identificados en especies del género *Prunus*.

Carácter	Especie	Grupo de ligamiento	Referencia
Color de piel			
	Melocotonero	2, 3, 4, 5, 6, 7	Quarta <i>et al.</i> (1998); Verde <i>et al.</i> (2002); Quilot <i>et al.</i> (2004); Donoso <i>et al.</i> (2009); Eduardo <i>et al.</i> (2011)
	Albaricoquero	1, 3, 7	Ruiz <i>et al.</i> (2010b); Socquet-Juglard <i>et al.</i> (2013); García-Gómez <i>et al.</i> (2019)
	Cerezo dulce	3, 6	Sooriyapathirana <i>et al.</i> (2010)
	Ciruelo japonés	3, 4	Salazar <i>et al.</i> (2017); Valderrama-Soto <i>et al.</i> (2021)
Color de pulpa			
	Melocotonero	1, 2, 3, 4,	Yamamoto <i>et al.</i> (2001); Quilot <i>et al.</i> (2004); Illa <i>et al.</i> (2011); Martínez-García <i>et al.</i> (2013a); Donoso <i>et al.</i> (2016)
	Albaricoquero	1, 3 6	Salazar <i>et al.</i> (2013); García-Gómez <i>et al.</i> (2019)
	Cerezo dulce	3, 8	Sooriyapathirana <i>et al.</i> (2010)
	Ciruelo japonés	3, 4	Valderrama-Soto <i>et al.</i> (2021)
Firmeza			
	Melocotonero	1, 4, 5, 7, 8	Quarta <i>et al.</i> (1998); Ogundiwin <i>et al.</i> (2009); Cantín <i>et al.</i> (2010); Eduardo <i>et al.</i> (2011); Zeballos <i>et al.</i> (2016)
	Albaricoquero	1, 2, 3, 4, 5, 6,	Ruiz <i>et al.</i> (2010b); Salazar <i>et al.</i> (2013); Socquet-Juglard <i>et al.</i> (2013); García-Gómez <i>et al.</i> (2019)
	Cerezo dulce	4, 6	Cai <i>et al.</i> (2019); Calle & Wünsch (2020)
	Cerezo agrio	6, 7	Wang <i>et al.</i> (2000)
	Ciruelo japonés	5	Salazar <i>et al.</i> (2020)
Sólidos solubles			
	Melocotonero	1, 2, 3, 4, 5	Quarta <i>et al.</i> (1998); Etienne <i>et al.</i> (2002); Verde <i>et al.</i> (2002); Illa <i>et al.</i> (2009); Eduardo <i>et al.</i> (2011); Zeballos <i>et al.</i> (2016)
	Albaricoquero	2, 3, 4, 5	Ruiz <i>et al.</i> (2010b); Salazar <i>et al.</i> (2013); Socquet-Juglard <i>et al.</i> (2013); García-Gómez <i>et al.</i> (2019)
	Cerezo dulce	3, 4	Calle & Wünsch (2020)
	Ciruelo japonés	4, 5	Salazar <i>et al.</i> (2020)
Acidez			
	Melocotonero	1, 2, 3, 4, 5	Etienne <i>et al.</i> (2002); Quilot <i>et al.</i> (2004); Cantín <i>et al.</i> (2010); Eduardo <i>et al.</i> (2011); Zeballos <i>et al.</i> (2016)
	Albaricoquero	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8,	Ruiz <i>et al.</i> (2010b); Salazar <i>et al.</i> (2013); García-Gómez <i>et al.</i> (2019); Dondini <i>et al.</i> (2022)
	Cerezo dulce	4, 6	Calle & Wünsch (2020)
	Ciruelo japonés	3	Salazar <i>et al.</i> (2020)

Tabla 1.1 Continuación. Principales QTLs relacionados con caracteres agronómicos identificados en especies del género *Prunus*.

Carácter	Especie	Grupo de ligamiento	Referencia
Resistencia a PPV			
	Melocotonero	1, 7	Lalli <i>et al.</i> (2005)
	Albaricoquero	1, 2, 3, 5	Hurtado <i>et al.</i> (2002); Vilanova <i>et al.</i> (2003); Soriano <i>et al.</i> (2005, 2008a, 2008b); Lambert <i>et al.</i> (2007a, 2007b); Lalli <i>et al.</i> (2008); Sicard <i>et al.</i> (2008); Marandel <i>et al.</i> (2009); Pilařová <i>et al.</i> (2010); Dondini <i>et al.</i> (2011); Vera-Ruiz <i>et al.</i> (2011)
	<i>P. davidiana</i>	1, 2, 4, 6, 7	Decroocq <i>et al.</i> (2005); Marandel <i>et al.</i> (2009); Rubio <i>et al.</i> (2010)
Resistencia a mildiu			
	Melocotonero	1, 2, 4, 5, 7, 8	Verde <i>et al.</i> (2002); Lalli <i>et al.</i> (2005)
	Melocotonero x <i>P. davidiana</i>	1, 4, 5, 6, 8	Dirlewanger <i>et al.</i> (1996); Foulongne <i>et al.</i> (2003)

1.2.3.2. Utilización de marcadores moleculares para mejora asistida en *Prunus*

La mejora convencional se ha centrado principalmente en la selección de genotipos basada en el fenotipo, después de un periodo de evaluación y cuantificación de las características de interés. Sin embargo, este enfoque presenta ciertas limitaciones, especialmente en especies con largos periodos juveniles, donde los rasgos de interés pueden manifestarse solo en etapas específicas de desarrollo.

En los últimos años, la selección asistida por marcadores (MAS, *Marker-assisted selection*) ha surgido como una gran herramienta en la mejora genética de plantas. Esta técnica se basa en el uso de marcadores moleculares que están vinculados a rasgos de interés o ubicados en regiones genómicas asociadas a estos rasgos. En este sentido, la MAS puede mejorar la eficiencia de los programas de mejora, especialmente en cultivos frutales con un largo periodo de juvenilidad, mediante la selección precoz en etapas tempranas del desarrollo donde aún no se han manifestado dichos caracteres de interés (Topp *et al.*, 2012; Milošević & Milošević, 2018).

Las principales aplicaciones de los marcadores moleculares en la mejora asistida en programas de mejora son las siguientes (Xu & Crouch, 2008):

- La piramidación de múltiples rasgos, incluso aquellos que son recesivos y/o multialélicos, es decir, la acumulación de varios rasgos deseables en un solo genotipo o variedad.
- La selección de rasgos que se manifiestan únicamente en ciertos ambientes o etapas de desarrollo, como podría ser la selección de plantas resistentes a una enfermedad específica ya que la expresión de esa resistencia únicamente es evidente bajo

condiciones de infección o el color del fruto, que se observa cuando la planta ya se encuentra en periodo de madurez tras varios años de su plantación.

- La selección de caracteres que son complicados de fenotipar, tienen una baja penetrancia o una herencia compleja al estar influenciados por múltiples genes y/o factores ambientales.
- Permitir el mantenimiento de alelos recesivos de interés que confieren características deseables pero que pueden ser enmascarados en el genotipo debido a la presencia de alelos dominantes, lo que también permite agilizar los procesos de retrocruzamiento.

Un marcador molecular representa las diferencias genéticas entre genotipos o especies (Collard *et al.*, 2005). Los primeros marcadores que se emplearon fueron los morfológicos, basados en las variaciones fenotípicas debidas a genes individuales o mayores y su co-segregación debido al enlace genético, sin embargo, su empleo era bastante impreciso y se limitó a cultivos modelo como tomate, maíz o guisante (Arús, 2017). Las isoenzimas (marcador bioquímico) fueron los primeros marcadores que se emplearon ampliamente, ya que no dependían del ambiente, mostraban codominancia, sin embargo, su uso está limitado debido al bajo número de locus que pueden ser analizados mediante métodos convencionales de tinción, así como la baja variabilidad en algunos locus, lo que imposibilitaba contar con suficientes marcadores para cubrir todo el genoma (Martínez-Gómez *et al.*, 2003; Arús, 2017).

Más tarde se desarrollaron los marcadores moleculares basados en el ADN, que han sido una herramienta esencial en la caracterización molecular de plantas. Los primeros marcadores genómicos fueron los RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*), basados en la hibridación, que a pesar de resultar costosos y requerir mucho tiempo permitieron diversos usos para la mejora, como el retrocruzamiento asistido por marcadores y la construcción de mapas genéticos saturados, lo que dio un impulso en el análisis de regiones del genoma asociadas a caracteres cuantitativos (Arús, 2017; Nadeem *et al.*, 2018). Posteriormente, estos marcadores fueron reemplazados en su mayoría por otros basados principalmente en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), como los AFLPs (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*) o RAPDs (*Random Amplified Polymorphic DNA*), hasta llegar a los dos tipos que más se emplean actualmente, los marcadores microsatélites o SSRs (*Simple Sequence Repeat*) y los SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*).

Los microsatélites consisten en secuencias altamente variables compuestas por unidades cortas que se repiten en tándem varias veces, que mediante PCR permiten detectar polimorfismos basados en el número de repeticiones distintas. Son altamente polimórficos, codominantes y reproducibles, sin embargo, en ocasiones es costoso interpretar los resultados debido a que las pequeñas diferencias entre alelos pueden no ser detectadas en geles de agarosa. Por otro lado, los SNPs están asociados a una diferencia de un solo nucleótido entre dos o más secuencias de nucleótidos, son codominantes, generalmente bialélicos, altamente reproducibles y gracias a la secuenciación de nueva generación (*Next Generation Sequencing*, NGS) la cantidad de SNPs que se pueden detectar es inmensamente elevada, lo que permite

saturar mapas de ligamiento e identificar marcadores asociados a genes monogénicos o QTLs (*Quantitative Trait Loci*) (Cubero Salmerón, 2013). Estos marcadores, por tanto, presentan ventajas sobre los primeros marcadores ya que son codominantes, altamente reproducibles, tienen una gran distribución en el genoma y una interpretación de sus resultados más sencilla (Nadeem *et al.*, 2018).

Con los avances en el campo de la secuenciación se pueden identificar un mayor número de marcadores moleculares en el genoma, proporcionando así herramientas para la creación de mapas genéticos más saturados y el estudio de asociación a nivel de genoma (GWAS, *Genome-Wide Association Study*) pudiendo identificar relaciones entre variantes genéticas, como SNPs, y rasgos fenotípicos. Esto ha llevado a la mejora significativa de identificación de QTLs y mapeo detallado de genes de interés (Nadeem *et al.*, 2018).

En la actualidad, algunos de estos marcadores se están empleando de forma activa en la mejora genética asistida como es el caso para el color amarillo y blanco de la pulpa (*Y/y*) (Adami *et al.*, 2013; Falchi *et al.*, 2013), la forma achatada (*S*/s**) (Picañol *et al.*, 2013), pubescencia del fruto (*G/g*) (Vendramin *et al.*, 2014) y la subacidez del fruto (*D/d*) (Eduardo *et al.*, 2014) entre otros, en melocotonero. En cerezo se ha empleado la selección asistida por marcadores en mejora para el color del fruto (Sandefur *et al.*, 2016) e identificación de alelos de incompatibilidad (Wünsch & Hormaza, 2004). Para determinar el carácter de auto/incompatibilidad (*S*) también se emplean de forma rutinaria otros marcadores en la mejora de almendro (Sánchez-Pérez *et al.*, 2004; López *et al.*, 2005), albaricoquero (Marchesano *et al.*, 2022) y ciruelo japonés (Guerra *et al.*, 2012). En albaricoquero, además de la detección de la autocompatibilidad a través de marcadores (Romero *et al.*, 2004; Vilanova *et al.*, 2005, 2006), también se han diseñado marcadores asociados a la resistencia a sharka (Soriano *et al.*, 2012; Zuriaga *et al.*, 2013), lo que permite a los programas de mejora realizar una selección precoz eliminando los genotipos susceptibles antes de llevar a campo (Rubio *et al.*, 2014).

1.2.3.3. Recursos genéticos y genómicos en ciruelo japonés

El ciruelo japonés ha sido objeto de menor estudio en el campo de la genética en comparación con otras especies del género *Prunus*. Esto se debe principalmente a la limitada cantidad de programas de mejora dedicados a esta especie y al rasgo de autoincompatibilidad, que impide la autofecundación y determina los progenitores utilizados en el desarrollo de poblaciones de retrocruzamiento (Okie & Hancock, 2008).

Los mapas genéticos indican la posición y las distancias genéticas relativas entre marcadores a lo largo del cromosoma. El uso más significativo de estos mapas es identificar regiones en el genoma que contengan genes y loci de caracteres cuantitativos (QTLs, *Quantitative Trait Loci*) asociados a caracteres de interés (Collard *et al.*, 2005), que puedan ayudar al desarrollo de marcadores moleculares para llevar a cabo una selección precoz asistida por marcadores (MAS) y así optimizar los programas de mejora. Para ello se necesitan poblaciones segregantes resultado de cruzamientos entre parentales con características de

interés distintas. Hasta la fecha, existen muy pocos mapas genéticos en ciruelo japonés, todos ellos generados a partir de poblaciones F1, es decir, resultantes del cruzamiento controlado entre dos líneas parentales genéticamente distintas (Tabla 1.2), de los cuales únicamente los generados a partir de la población '98-99' × 'Angeleno' se han empleado para identificar QTLs (Salazar *et al.*, 2017, 2020; Valderrama-Soto *et al.*, 2021; Battistoni *et al.*, 2022).

Tabla 1.2. Resumen de los mapas genéticos de ciruelo japonés disponibles hasta la fecha.

Población	Método genotipado	Nº Individuos	Mapa	Marcadores	Tamaño (cM)	Referencia
Chatard × Santa Rosa	AFLP	88	Chatard Santa Rosa	56 AFLPs 84 AFLPs	905,50 1349,60	Vieira <i>et al.</i> (2005)
98-99 × Angeleno	GBS	153	98-99 Angeleno	478 SNPs 502 SNPs	688,80 647,00	Salazar <i>et al.</i> (2017)
Angeleno × Aurora	GBS	137	Angeleno Aurora Consenso	714 SNPs 320 SNPs 732 SNPs	588,00 472,00 617,00	Carrasco <i>et al.</i> (2018)
98-99 × Angeleno	GBS y SSR	151	98-99 Angeleno	554 SNPs 19 SSRs 654 SNPs 21 SSRs	557,32 576,51	Salazar <i>et al.</i> (2020)
09-06 × Fortune	SLAF-seq	114	Consenso	720 SNPs	869,90	Zhang <i>et al.</i> (2020)
98-99 × Angeleno	GBS	151	98-99 Angeleno	517 SNPs 609 SNPs	614,28 595,31	Battistoni <i>et al.</i> (2022)

Los primeros mapas de ligamiento genético en ciruelo japonés fueron generados en 2005 por Vieira *et al.* (2005) usando una población proveniente de los cruzamientos entre los cultivares 'Chatard' y 'Santa Rosa', empleando marcadores tipo AFLP que les permitieron obtener dos mapas genéticos, uno para el parental 'Chatard' con un total de 56 marcadores distribuidos en once grupos de ligamiento y una distancia de 905,5 cM, y otro para el parental masculino 'Santa Rosa' con un total de 84 marcadores en 14 grupos de ligamiento cubriendo una distancia total de 1349,6 cM.

Más tarde, Salazar *et al.* (2017) desarrolló los primeros mapas genéticos de la población '98-99' × 'Angeleno', empleando por primera vez la estrategia de genotipado por secuenciación (GBS, *Genotyping by Sequencing*) en ciruelo japonés obteniendo dos mapas genéticos, uno para el parental masculino '98-99' con un tamaño de 688 cM y compuesto por 478 marcadores de tipo SNP, y otro para el parental femenino 'Angeleno' de 647 cM de tamaño y 502 SNPs. Estos mapas han sido mejorados posteriormente en diversos estudios, Salazar *et al.* (2020) empleó 41 marcadores microsatélite para aumentar la saturación del mapa y

actualizó las posiciones de los SNPs desde la primera versión del genoma de referencia del melocotón (Verde *et al.*, 2013) a la segunda versión del genoma (Verde *et al.*, 2017). Recientemente, Battistoni *et al.* (2022) empleó las secuencias alineándolas y mapeándolas con el genoma de referencia *Prunus salicina* Lindl. cv. 'Sanyueli' v2.0 (Liu *et al.*, 2020).

Por otro lado, Carrasco *et al.* (2018) desarrolló mediante GBS mapas genéticos para los cultivares 'Angelino' (588 cM) y 'Aurora' (472 cM) obteniendo un mapa consenso formado por 732 SNPs con un tamaño final de 617 cM.

Por último, Zhang *et al.* (2020) elaboró un mapa genético de la población '09-16' × 'Fortune' empleando la detección de SNPs basada en la estrategia de secuenciación de fragmentos amplificados de locus específicos (SLAF-seq, *Specific Locus Amplified Fragment Sequencing*) obteniendo un mapa consenso formado por 720 SNPs y un tamaño de 870 cM.

El ciruelo japonés carece de plataformas de genotipado de SNPs de alta densidad (SNP array) a diferencia de otros cultivos de la familia de las Rosaceas como el manzano (Chagné *et al.*, 2012; Bianco *et al.*, 2014), el peral (Li *et al.*, 2019), el melocotonero (Verde *et al.*, 2012) y el almendro (Duval *et al.*, 2023), lo que ha provocado que la caracterización genética de las variedades y el estudio de progenies de esta especie se realice de forma general mediante marcadores SSRs de otras especies de *Prunus* (Qiao *et al.*, 2007; Carrasco *et al.*, 2012; González *et al.*, 2016; Guerrero *et al.*, 2021) debido a la gran transferibilidad que hay entre las especies de este género (Mnejja *et al.*, 2004, 2010; Wünsch, 2009) y mediante técnicas de secuenciación de bibliotecas genómicas con la tecnología Illumina.

La inexistencia de un genoma de referencia específico en el cultivo y la elevada conservación genética entre las especies de *Prunus* (Dirlewanger *et al.*, 2004; Wünsch, 2009; Martínez-Gómez *et al.*, 2012) ha provocado que se recurra al genoma de alta calidad de melocotonero, genoma de referencia en *Prunus*, para llevar a cabo estudios genéticos y genómicos en ciruelo japonés. Excepto en el mapa generado recientemente por Battistoni *et al.* (2022), en el resto de estudios de mapeo en ciruelo japonés, que han empleado técnicas de genotipado como GBS y SLAF-Seq, se ha usado el genoma de referencia del melocotonero, así como otros estudios genómicos referentes al estudio del proceso de maduración (Marti *et al.*, 2018), búsqueda de QTLs relacionadas con la calidad del fruto (Salazar *et al.*, 2017) o análisis de diversidad genética y estudio de la domesticación del cultivo mediante resecuenciación del genoma completo (Wei *et al.*, 2021) entre otros.

Recientemente, se han desarrollado y puesto a disposición de la comunidad científica tres ensamblajes del genoma del ciruelo japonés disponibles en el portal de la base de datos de Rosaceae (GDR, *Genome Data Base for Rosaceae*, <https://www.rosaceae.org>) (Tabla 1.3). El primer genoma disponible, elaborado por Liu *et al.* (2020), fue desarrollado a partir del cultivar chino 'Sanyueli' mediante la combinación de secuenciación PacBio, Illumina y Hi-C. Tiene un tamaño de 284,2 Mb donde el 96,56% de las secuencias ensambladas fueron anotadas en 8 grupos de ligamiento, la primera versión fue actualizada a una segunda versión renombrando

los scaffolds para que coincidiesen con el nombre de los cromosomas en *Prunus*. Un año más tarde, se publicó otro genoma desarrollado a partir del cultivar 'Zhongli No. 6' (Huang *et al.*, 2021) con un tamaño de secuencia de 318,6 megabases (Mb) (contig N50 de 2,3 Mb de longitud) distribuidos en 8 grupos de ligamiento, generado mediante una estrategia integrada que combina Illumina, Nanopore y Hi-C. Por último, Fang *et al.* (2022) desarrollaron a partir del cultivar chino 'Sanyueli' otro ensamblaje de genoma de ciruelo japonés con un tamaño de 282,38 Mb donde más del 99% de las secuencias se anotaron en 8 grupos de ligamiento.

Tabla 1.3. Características generales de los genomas completos disponibles de ciruelo japonés.

Genoma	Tamaño (Mb)	Contig N50 (Mb)	Scaffold N50 (Mb)	Métodos secuenciación	Secuencias ensambladas en 8 LGs	Referencia
<i>Prunus salicina</i> Sanyueli Genome v2.0	284,2	1,80	32,30	PacBio, Illumina y Hi-C	96,56%	Liu <i>et al.</i> (2020)
<i>Prunus salicina</i> Zhongli No. 6 Genome v1.0	318,6	2,30	21,50	Illumina, Nanopore y Hi-C	90,98%	Huang <i>et al.</i> (2021)
<i>Prunus salicina</i> Sanyueli FAAS Genome v1.0	282,4	1,37	46,85	PacBio e Illumina	99%	Fang <i>et al.</i> (2022)

1.2.3.4. Selección asistida por marcadores en ciruelo japonés

Durante los últimos 50 años, los avances en los métodos de mejora genética en *Prunus* han sido limitados debido a la complejidad poligénica de la mayoría de los rasgos de interés en este género. Estos rasgos están influenciados por múltiples genes distribuidos en diferentes regiones del genoma, lo que ha dificultado considerablemente la identificación y desarrollo de marcadores genéticos asociados con dichos caracteres (Dirlewanger *et al.*, 2004; Milošević & Milošević, 2018). En el caso específico del cultivo del ciruelo, la escasez de recursos genéticos y genómicos ha dificultado el desarrollo de marcadores asociados a caracteres de interés en la especie (Okie & Hancock, 2008).

Los únicos marcadores validados y empleados hasta la fecha de forma rutinaria en los programas de mejora de ciruelo japonés son los relacionados con la autoincompatibilidad. El genotipado de los alelos *S* permite planificar los cruzamientos dentro de un programa de mejora en base a los resultados, ya que permite conocer qué cruzamientos son compatibles, descartar parentales debido a su interincompatibilidad y agrupar los genotipos en función de grupos de incompatibilidad. El método más usado para la identificación de los alelos *S* es la amplificación mediante PCR de los intrones de la *S*-RNAsa, empleando distintas combinaciones de cebadores complementarios a zonas conservadas de los exones, y tras la amplificación se determinan los alelos mediante la correlación del tamaño de sus fragmentos, detectados en geles de agarosa mediante electroforesis, con los distintos alelos (Guerra *et al.*, 2009a, 2012; Guerra & Rodrigo, 2015).

Recientemente, se han desarrollado dos marcadores moleculares relacionados con el color de la piel (Fiol *et al.*, 2021) y la pulpa (Fiol *et al.*, 2022) en ciruelo japonés. Estos marcadores permiten distinguir entre diferentes genotipos de ciruelas con color rojo tanto en piel como en pulpa, lo que permite llevar a cabo una selección precoz asistida por marcadores. En el caso del color de la piel, la presencia del alelo a356 del gen *PsMYB10.1a* está asociada con el color rojo de piel, ya que solo se encuentra presente en los genotipos con esta tonalidad, mientras que no está presente en aquellos con piel amarilla o verdosa. Por otro lado, el marcador asociado a color de pulpa está asociado a la presencia o ausencia de un LTR retrotransposón en el promotor del gen *PsMYB10.2*, estando presente en la mayoría de los genotipos con pulpa roja.

1.3. OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis doctoral es el estudio de las bases genéticas y moleculares de los principales caracteres implicados en la fenología y calidad del fruto en ciruelo japonés (*P. salicina* L.), así como la caracterización fenotípica y molecular de híbridos interespecíficos ciruelo japonés × albaricoquero (plumcots), incluyendo la validación de su naturaleza interespecífica, la evaluación de la resistencia al virus de la sharka (PPV) y la determinación de alelos de compatibilidad floral. Los resultados obtenidos permitirán avanzar en el desarrollo de marcadores moleculares específicos ligados a estos caracteres, aplicables en la selección asistida en los programas de mejora de la especie.

Este objetivo general ha sido abordado mediante diferentes objetivos específicos que conforman los distintos capítulos de la tesis:

1. Caracterización fenotípica y estudio del modo de herencia de los principales caracteres fenológicos y de calidad del fruto en tres poblaciones segregantes de ciruelo japonés (Capítulo 3).
2. Caracterización molecular de tres poblaciones de ciruelo japonés implementando una estrategia novedosa de genotipado en frutales mediante la combinación de la secuenciación de alta cobertura *Whole Genome Sequencing* (WGS) y baja cobertura (*Low Coverage Whole Genome Sequencing* (LcWGS) (Capítulo 4).
3. Construcción de mapas de ligamiento genético e identificación de regiones del genoma asociadas a caracteres de interés (QTLs) de fenología y calidad del fruto en las poblaciones segregantes (Capítulo 4).
4. Caracterización fenotípica y molecular de los híbridos interespecíficos resultantes de los cruzamientos entre ciruelo japonés y albaricoquero (plumcots) (Capítulo 5).
5. Estudiar la transmisión de la resistencia a PPV y autocompatibilidad floral en híbridos interespecíficos de ciruelo japonés × albaricoquero (Capítulo 5).



2. MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES EXPERIMENTALES

2. MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES EXPERIMENTALES

El material vegetal analizado en este estudio fue diverso, dependiendo de los objetivos perseguidos en los distintos capítulos en los que la tesis doctoral ha sido estructurada.

2.1. MATERIAL VEGETAL INTRAESPECÍFICO DE CIRUELO JAPONÉS

El material vegetal utilizado en los estudios de transmisión de caracteres fenológicos y de calidad del fruto, y en los estudios genómicos consistió en tres poblaciones F1 obtenidas de los cruzamientos intraespecíficos entre las variedades de ciruelo japonés 'Black Splendor' × 'Pioneer' ('BS×PIO'), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' ('RB×BS') y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' ('RB×SRP'). El propósito era disponer de familias de ciruelo segregantes con amplia variabilidad de características fenológicas y de calidad de fruto (Figura 2.1).

Estas tres poblaciones y sus progenitores se han empleado para la realización de los estudios de caracterización fenotípica y transmisión de caracteres fenológicos y de calidad del fruto (*Capítulo 3*), construcción de mapas de ligamiento genético (*Capítulo 4*) e identificación de QTLs asociados a fenología y calidad del fruto (*Capítulo 4*).

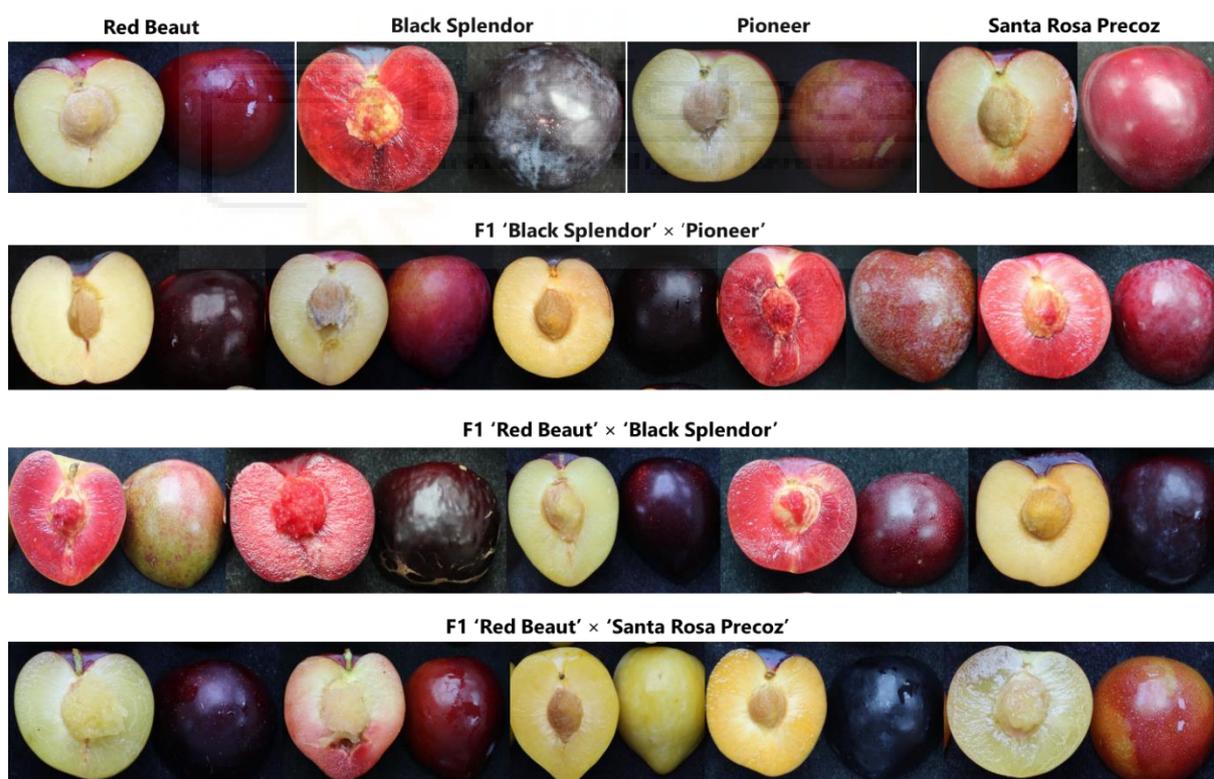


Figura 2.1. Diversidad de tipología de fruto en las tres poblaciones de estudio.

La generación de estas familias se llevó a cabo mediante la metodología clásica propia de un programa de mejora. Esto implica la realización de cruzamientos dirigidos mediante polinización manual entre las variedades seleccionadas. Posteriormente, los frutos resultantes de esos cruzamientos se recolectaron para extraer las semillas. Se procedió al rescate de

embriones mediante la técnica de cultivo *in vitro* de acuerdo al protocolo descrito por Pérez-Jiménez *et al.* (2021). Esta técnica permite aumentar el porcentaje de germinación de las semillas, ya que, al ser la mayoría de las variedades empleadas de maduración bastante precoz, sus descendencias suelen presentar semillas con los cotiledones poco desarrollados, lo que puede conducir a problemas de aborto del embrión. Posteriormente se estratificaron para su germinación, y una vez germinadas, las plántulas pasaron por diferentes fases de aclimatación en invernadero, donde se desarrollan adecuadamente hasta estar listas para ser trasplantadas al campo.

2.1.1. Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

Esta población obtenida en 2014 está compuesta por 121 individuos, procedentes del cruzamiento entre la variedad 'Black Splendor' como parental femenino y 'Pioneer' como donador de polen. Ambas variedades presentan una fecha de floración y maduración temprana.

La variedad 'Black Splendor' es autoincompatible, con alelos de incompatibilidad S_cS_e mientras que 'Pioneer' es autocompatible, presentando los alelos S_bS_e , de ahí que se emplease como parental masculino.

'Black Splendor' fue obtenida en 2002 por el programa genético de USDA en California (Topp *et al.*, 2012; Milošević & Milošević, 2018) mediante polinización abierta de la variedad 'Black Amber'. Presenta una fecha de floración desde mediados de febrero a principios de marzo con unas necesidades de frío de 32 porciones (Ruiz *et al.*, 2018), y una maduración en torno a la segunda semana de junio. Se caracteriza por tener un color de piel oscuro, casi negro, y una pulpa de color rojo intenso con una calidad gustativa aceptable, además de un tamaño medio de fruto (Figura 2.2).

Por otro lado, 'Pioneer' tiene su origen en Sudáfrica, obtenida mediante polinización libre de la variedad 'Laroda' por el programa de mejora genético privado ARC Infruitec-Nietvoorbij (Milošević & Milošević, 2018). Presenta una floración similar a 'Black Splendor', siendo desde mitad de febrero hasta la primera semana de marzo, sin embargo, requiere menos necesidades de frío, en torno a 22 porciones (Ruiz *et al.*, 2018). Esta variedad tiene un color de piel burdeos casi anaranjado, y una pulpa amarilla. Sus frutos son redondos, jugosos y destacan por sus excelentes cualidades organolépticas (Figura 2.2). Su fecha de maduración es anterior a 'Black Splendor' siendo a principios de junio.



Figura 2.2. Detalle de los frutos de las variedades 'Black Splendor' (izquierda) y 'Pioneer' (derecha).

2.1.2. Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

Esta población está compuesta por 103 individuos procedentes del cruzamiento realizado en 2012 entre las variedades 'Red Beaut' y 'Black Splendor'. La variedad 'Red Beaut' presenta los alelos de incompatibilidad S_aS_b y androesterilidad, por lo que al no ser su polen viable se empleó como parental femenino. 'Red Beaut' fue obtenida a mediados del siglo XX, en 1965, por el mejorador Fred Anderson en Estados Unidos, mediante el cruzamiento entre las variedades 'Eldorado' y 'Burmosa' (Okie & Ramming, 1999; Boonprakob *et al.*, 2001). Esta variedad tradicional se caracteriza por tener una floración temprana y ser la que posee una maduración más precoz, dando inicio a la temporada sobre finales de mayo. Tiene unas necesidades de frío de alrededor de 35 porciones (Ruiz *et al.*, 2018). Sus frutos son redondeados, con buen calibre a pesar de la precocidad que la caracteriza, y tienen una piel de color rojo intenso y una pulpa amarilla con un sabor ligeramente agridulce, haciendo que su calidad de fruto se categorice como moderada (Ruiz *et al.*, 2011) (Figura 2.3).



Figura 2.3. Detalle del fruto de la variedad 'Red Beaut'.

2.1.3. Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

Esta población también fue obtenida en 2012 a través del cruzamiento entre 'Red Beaut' como parental femenino y 'Santa Rosa Precoz' como parental masculino, siendo el número total de individuos de 103.

'Santa Rosa Precoz' es una mutación espontánea identificada por el fruticultor y técnico del CSIC Antonio Molina de la variedad tradicional 'Santa Rosa', esta última obtenida por el mejorador Luther Burbank en 1906 en California (Topp *et al.*, 2012; Karp, 2015). 'Santa Rosa Precoz' muestra menores necesidades de frío (30 porciones, 18 porciones menos que 'Santa Rosa') y una fecha de floración y fecha de cosecha significativamente más temprana en comparación con la variedad de la que proviene, presentando un adelanto de casi 20 días en la floración (Ruiz *et al.*, 2019).

La mutación 'Santa Rosa Precoz' es autocompatible y presenta los alelos de incompatibilidad S_cS_e . Mantiene la misma la misma tipología de fruto y cualidades organolépticas que la variedad original 'Santa Rosa', siendo una variedad muy productiva, con frutos de color de piel rojo violáceo, una pulpa muy aromática de color amarillo que pasa a rojizo conforme va madurando y una elevada calidad organoléptica (Figura 2.4).



Figura 2.4. Detalle del fruto de 'Santa Rosa Precoz'.

2.2. MATERIAL VEGETAL INTERESPECÍFICO *Prunus salicina* × *Prunus armeniaca*

El material vegetal utilizado lo han conformado las descendencias generadas a través de cruzamientos interespecíficos entre variedades tradicionales y selecciones de ciruelo japonés del programa de mejora desarrollado conjuntamente por el CEBAS-CSIC y el IMIDA de la Región de Murcia, y variedades y selecciones de albaricoquero autocompatibles y resistentes a plum pox virus (PPV) que provoca la enfermedad de la sharka, desarrolladas por el programa de mejora del albaricoquero del CEBAS-CSIC (Tabla 2.1).

Este material vegetal se ha empleado en el desarrollo del *Capítulo 5* de la presente tesis doctoral, para la realización de los estudios de caracterización fenotípica y de transmisión de caracteres morfológicos, fenológicos y de calidad de fruto, evaluación de la resistencia a PPV y autocompatibilidad floral, así como estudios de caracterización molecular, en híbridos interespecíficos ciruelo × albaricoquero, denominados comúnmente como plumcots.

Los cruzamientos interespecíficos forman parte del programa de mejora genética de ciruelo japonés del CEBAS-CSIC/IMIDA, con el objetivo específico de obtener híbridos interespecíficos (plumcots) autocompatibles y resistentes a plum pox virus, para así poder introducir la autocompatibilidad y la resistencia desde el albaricoquero al ciruelo japonés, dado que la mayoría de las variedades de ciruelo japonés son autoincompatibles y no existe material vegetal resistente al virus.

Las variedades de albaricoquero utilizadas en los cruzamientos interespecíficos proceden del programa de mejora genética del albaricoquero del CEBAS-CSIC. Todas se caracterizan por ser autocompatibles y resistentes a PPV.

La variedad 'Rojo Pasión' fue obtenida en 2004 mediante el cruzamiento de la variedad norteamericana resistente a PPV 'Orange Red' y la variedad española tradicional autocompatible 'Currot'. Es un cultivar con gran productividad e intensidad de floración, con una fecha de floración media, alrededor de principios de marzo, de frutos oblongos, con un peso medio de alrededor de 75 g, color de piel naranja claro con un intenso color rojo de chapa, un color de pulpa anaranjado claro y buena calidad organoléptica. Es una variedad autocompatible, presentando los alelos *ScS₉* y resistente a la enfermedad de la sharka causada por PPV (Egea *et al.*, 2004) (Figura 2.5).



Figura 2.5. Detalle del fruto y porte del cultivar 'Rojo Pasión'.

'Mirlo Anaranjado' es una variedad obtenida en 2010 mediante el cruzamiento de la variedad previamente descrita 'Rojo Pasión' y la mutación 'Búlida Precoz' procedente de la variedad tradicional española 'Búlida' (Ruiz *et al.*, 2019). Es un cultivar con gran productividad y densidad de floración, tiene una fecha de plena floración temprana, a partir de la segunda quincena de febrero, presenta frutos con un peso medio aproximado de 75 g, con un color de piel naranja claro con una chapa de color rojo intenso y una pulpa anaranjada. Es una variedad autocompatible, presentando el alelo Sc en homocigosis y es resistente a PPV (Egea *et al.*, 2010) (Figura 2.6).



Figura 2.6. Detalle del fruto y porte del cultivar 'Mirlo Anaranjado'.

'1001-5-26' es una selección avanzada de albaricoquero originada a partir una polinización libre de 'Orange Red' × 'Currot'. Esta selección presenta una floración y maduración temprana, similar a la de 'Mirlo Anaranjado', con un color de fruto naranja claro sin chapa y una pulpa anaranjada (Figura 2.7). '1001-5-26' se caracteriza por presentar los alelos vinculados a la resistencia a PPV en albaricoquero de los marcadores moleculares PGS1.21, PGS1.24, ZP002 y ParPMC2 en homocigosis (Rubio *et al.*, 2023) lo que le hace ser una muy buena candidata para emplearse en cruzamientos intraespecíficos e interespecíficos con el objetivo de introducir dicha resistencia. Además, también es autocompatible, presentando el alelo Sc en homocigosis.



Figura 2.7. Detalle del fruto y su distribución en el árbol de la selección '1001-5-26'.

En cuanto a las variedades de ciruelo japonés utilizadas en los cruzamientos interespecíficos, se han empleado cultivares comerciales tales como 'Black Splendor', 'Red Beaut' y 'Honey Dawn', así como selecciones de ciruelo procedentes del programa de mejora

del CEBAS-CSIC/IMIDA. Todas ellas son autoincompatibles y susceptibles a PPV. Las variedades 'Black Splendor' y 'Red Beaut' están descritas previamente en el Apartado 2.1.

'Honey Dawn' es una variedad de origen sudafricano obtenida por la empresa mejoradora StarGrow. Presenta una floración temprana, buena productividad, y una maduración sobre principios de julio. Presenta frutos redondos, ligeramente oblongos, con un color de piel y pulpa amarillo y elevadas cualidades organolépticas. Es autoincompatible y presenta los alelos S_bS_c (Figura 2.8).



Figura 2.8. Detalle del fruto del cultivar 'Honey Dawn'. Fotografías de la compañía obtentora StarGrow (izquierda) (<https://stargrow.co.za/>) y de la empresa IPS-PLANT (derecha) (<https://www.ips-plant.com>).

Las preselecciones '0716-5', '0112-11' y '0614-5' son selecciones avanzadas del programa de mejora genética de ciruelo japonés. La preselección '0614-5' es la más precoz, tanto en fecha de floración como maduración, presentando una plena floración aproximadamente durante la segunda semana de febrero y una fecha de cosecha durante la última semana de mayo, considerándose por tanto una selección extratemprana (Tabla 2.1). Por otro lado, '0112-11' presenta una floración entre la segunda y tercera semana de febrero y una fecha de recolección durante la primera semana de junio. Por último, '0715-6' presenta su plena floración durante la última semana de febrero y primera de marzo, siendo su fecha de maduración similar a '0112-11'. Las tres preselecciones presentan frutos con color de piel rojo, siendo casi negro en el caso de '0112-11', y un color rojo de pulpa (Figura 2.9).



Figura 2.9. Detalle del fruto de las preselecciones '0715-6', '0614-5' y '0112-11'.

Las características generales de las variedades de albaricoquero y ciruelo japonés usados en cruzamientos interespecíficos, donde se han confirmado la generación de híbridos interespecíficos, se resumen en la Tabla 2.1.

Tabla 2.4. Resumen de las características agronómicas (fecha de floración y cosecha, color de piel y pulpa, autocompatibilidad y resistencia a PPV) de las variedades y/o selecciones de albaricoquero y ciruelo japonés empleadas en los cruzamientos interespecíficos con híbridos confirmados. En color de piel, el color indicado entre paréntesis corresponde al color de la chapa. SC: Autocompatible; SI: Autoincompatible; R: Resistente a PPV; S: Susceptible a PPV.

	Floración	Cosecha	Color piel	Color pulpa	Compat.	PPV
<i>Albaricoquero</i>						
Mirlo Anaranjado	Temprana	Temprana	Naranja claro (Rojo)	Naranja	SC	R
Rojo Pasión (1001) 5-26	Media Temprana	Temprana-media Temprana	Naranja (Rojo) Naranja claro	Naranja claro Naranja	SC	R
<i>Ciruelo japonés</i>						
Red Beaut	Temprana	Temprana	Rojo	Amarillo	SI	S
Black Splendor	Extra temprana	Temprana	Negro	Rojo oscuro	SI	S
Honey Dawn	Temprana	Temprana	Amarillo	Amarillo	SI	S
0716-5	Temprana	Temprana	Rojo	Rojo claro	SI	S
0112-11	Extra temprana	Temprana	Negro	Rojo	SI	S
0614-5	Extra temprana	Extra temprana	Rojo	Rojo claro	SI	S

Estos cruzamientos interespecíficos, al igual que en el caso del material vegetal intraespecífico (descrito en el Apartado 2.1), se realizaron mediante polinización manual dirigida entre las variedades y/o selecciones de interés. Posteriormente, los frutos resultantes de esos cruzamientos fueron recolectados para extraer las semillas y germinados *in vitro* de acuerdo al protocolo descrito por Pérez-Jiménez *et al.* (2021). Esta técnica se emplea ampliamente para superar barreras o incompatibilidades poscigóticas en hibridaciones interespecíficas entre especies del género *Prunus* (Liu *et al.*, 2007; Morimoto *et al.*, 2019; Sallom

et al., 2021). Además, también ayuda a evitar problemas de aborto de embrión debido a la precocidad de las variedades empleadas. Una vez que las semillas germinan, las plántulas pasan por distintas fases de aclimatación en invernadero, donde se desarrollan adecuadamente hasta estar listas para ser trasplantadas al campo.

Se han evaluado descendencias procedentes de un total de 30 cruzamientos interespecíficos, que generaron un total de 3.029 semillas, obteniendo número variable de genotipos en función del cruzamiento, agrupados en 16 combinaciones utilizando *P. salicina* Lindl. como parental femenino (Tabla 2.2) y otras 14 combinaciones empleando *P. armeniaca* L. como parental femenino (Tabla 2.3). Dichos cruzamientos se han realizado como parte del programa de mejora de ciruelo japonés del CEBAS-CSIC/IMIDA desde 2012 hasta la actualidad.

Tabla 2.5. Listado de cruzamientos interespecíficos empleando *P. armeniaca* como parental femenino y número de semillas obtenidas por cruzamiento.

Cruzamientos	Nº de semillas obtenidas
<i>Albaricoquero</i> × <i>ciruelo japonés</i>	
Rojo Pasión × 0716-5	64
Rojo Pasión × Black Splendor	244
Rojo Pasión × Santa Rosa	251
Rojo Pasión × Pioneer	69
Mirlo Anaranjado × 0716-5	128
Mirlo Anaranjado × Black Splendor	109
Mirlo Anaranjado × Pioneer	146
Mirlo Anaranjado × 0716-6	147
Mirlo Anaranjado × Santa Rosa Precoz	87
Mirlo Anaranjado × Honey Dawn	91
Mirlo Anaranjado × 0716-5	89
CEBAS-57 × Pioneer	15
CEBAS-57 × Santa Rosa Precoz	21
CEBAS-57 × 0716-6	20
CEBAS-57 × Honey Dawn	21
(1001) 5-26 × Black Splendor	2
<i>Total</i>	<i>1504</i>

Tabla 2.6. Listado de cruzamientos interespecíficos empleando *P. salicina* como parental femenino y número de semillas obtenidas por cruzamiento.

Cruzamientos	Nº de semillas obtenidas
<i>Ciruelo japonés</i> × <i>albaricoquero</i>	
Red Beaut × Rojo Pasión	158
Red Beaut × Mirlo Anaranjado	460
Red Beaut × (1001) 5-26	123
Black Splendor × Mirlo Anaranjado	109
Black Splendor × Rojo Pasión	351
Black Splendor × (1001) 5-26	1
Black Splendor × CEBAS-57	34
Honey Dawn × CEBAS-57	131
Honey Dawn × Mirlo Anaranjado	43
0716-5 × Rojo Pasión	1
0413-1 × Mirlo Anaranjado	10
0614-5 × Mirlo Anaranjado	21
0112-11 × Mirlo Anaranjado	48
1112-166 × Mirlo Anaranjado	35
	<i>Total</i>
	1525

2.3. CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.3.1. Localización y descripción de la parcela experimental

El cultivo de las tres poblaciones de ciruelo japonés ('BS×PIO', 'RB×BS' y 'RB×SRP') y sus parentales, así como los genotipos interespecíficos y las variedades y selecciones de ciruelo japonés empleadas como parentales, se llevó a cabo en la finca experimental del programa de mejora de ciruelo japonés desarrollado de forma coordinada por el Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC) y el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA) (Figura 2.10). Esta finca experimental se sitúa en el término municipal de Calasparra, en la Región de Murcia, a una altitud de 310 m, latitud de 38°16'13,3" N y longitud de 1°35'09,7" E, siendo su referencia catastral 30013A006001130000RM. La finca dispone de un embalse, un pequeño invernadero donde se lleva a cabo el desarrollo y aclimatación de las plántulas antes de su plantación en el campo, un cabezal de riego donde se realiza el plan de fertilización convencional propio del cultivo del ciruelo japonés y la estación agrometeorológica CI71-Calasparra (Llano de las Olivericas) del Servicio de Información Agraria de Murcia (SIAM)



Figura 2.10. Detalle de la finca experimental del programa mejora genético del CEBAS-CSIC/IMIDA de ciruelo japonés. Imagen satélite obtenida de Google Earth 2019.

2.3.2. Condiciones agroclimáticas

El área donde se ubica la finca experimental presenta una pluviometría media de alrededor 300 mm de precipitación anual. En términos de condiciones agroclimáticas, es relevante destacar que esta ubicación se caracteriza por una acumulación media de frío invernal en torno a 90 porciones de frío, de acuerdo al Modelo Dinámico (Fishman *et al.*, 1987), lo que es suficiente para satisfacer las necesidades de frío del material vegetal cultivado. Sin embargo, existen variaciones anuales en cuanto a las temperaturas, la cantidad de frío acumulado y las dinámicas de acumulación de frío en función del año, lo que puede afectar a las fechas de floración y por tanto a su posterior maduración.

En la Figura 2.11 se muestra la evolución de las temperaturas medias, máximas y mínimas de los tres años en los que se ha llevado a cabo el fenotipado de las familias de ciruelo japonés y sus parentales mediante los datos recogidos gracias a la estación agroclimática CI71 del SIAM ubicada dentro de la finca experimental. Cabe destacar que, aunque el patrón de temperaturas es similar en los tres años, se puede apreciar que el año 2021 fue ligeramente más cálido durante los meses de enero y febrero, cuando se da la floración de la mayoría de los genotipos de ciruelo, ya que presenta unas temperaturas máximas más elevadas que el resto de años, mientras que el año 2019 fue ligeramente más frío, presentando las temperaturas más bajas durante los meses de enero y febrero de los tres años. Durante los tres años de estudio se dieron pequeñas heladas alrededor del 15 de enero, llegando a temperaturas de hasta casi -5°C en el año 2021.

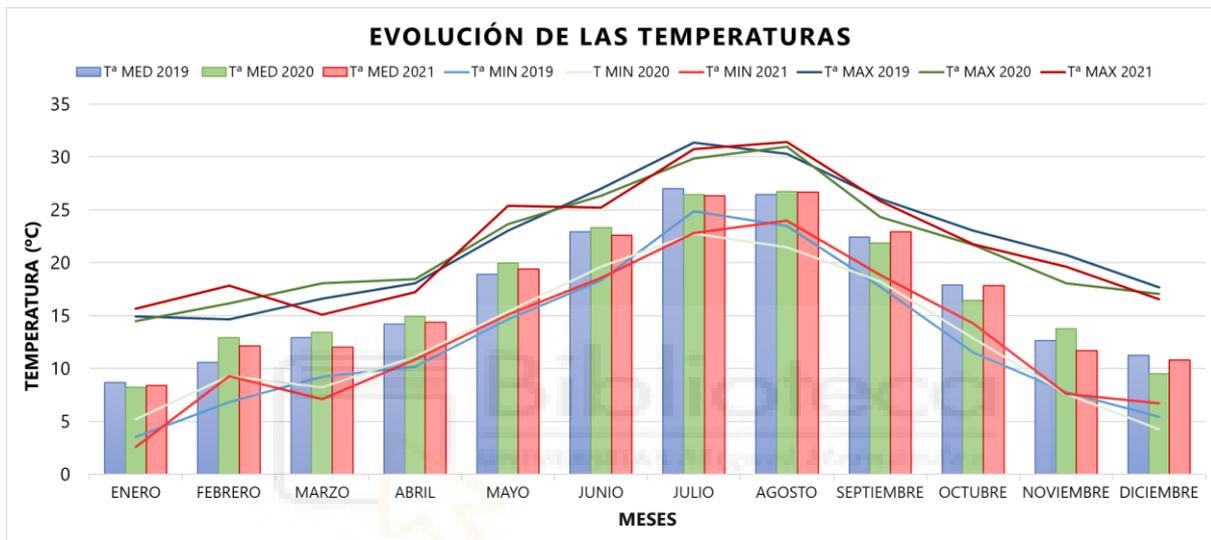


Figura 2.11. Evolución de las temperaturas durante 2019, 2020 y 2021. Las temperaturas medias (T^{a} MED) se representan con barras, mientras que las temperaturas máximas (T^{a} MAX) y mínimas (T^{a} MIN) son representadas mediante líneas. Los colores azules corresponden a las temperaturas de 2019, los colores verdes a las de 2020 y los rojizos a 2021.

Por otro lado, sí que se observaron diferencias entre años en cuanto la acumulación de frío desde el 1 de noviembre al 31 de marzo, como se puede observar en la Figura 2.12. El periodo que más frío acumuló fue el de otoño-invierno 2018-2019, mientras que en el periodo de 2020-2021 se dio la menor acumulación de frío. Estos datos son importantes a tener en cuenta para la interpretación del fenotipado de la fenología en los años de estudio.

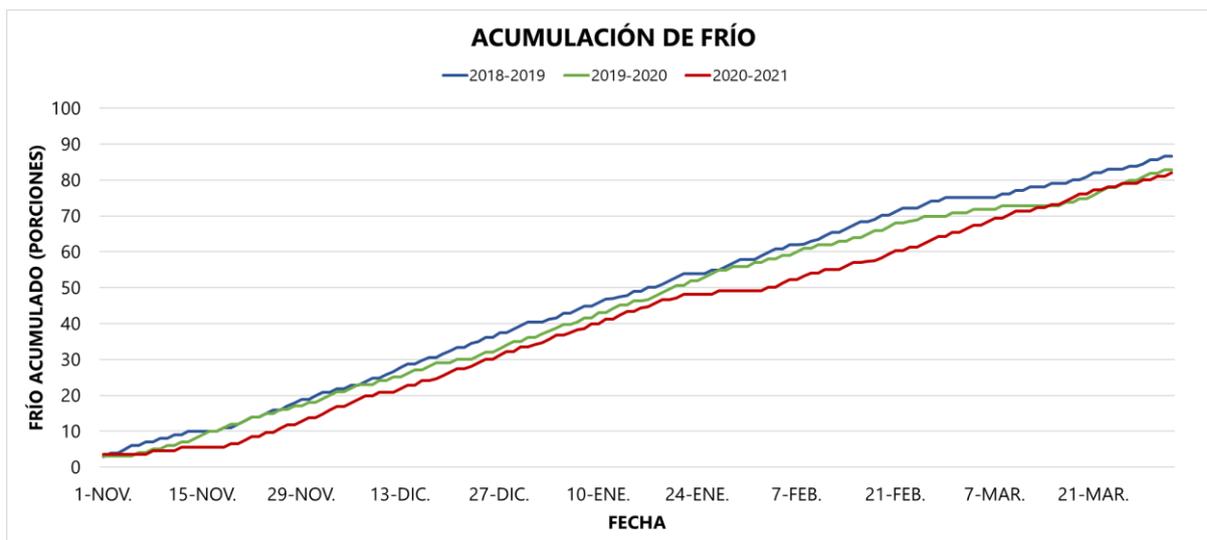


Figura 2.12. Acumulación de frío invernal en porciones para los periodos de 2018-2019 (azul), 2019-2020 (verde) y 2020-2021 (rojo).

2.3.3. Condiciones del cultivo

Las parcelas experimentales donde se encuentran las tres familias utilizadas en este estudio, así como la parcela donde se localizan la mayoría de las variedades de la colección del CEBAS-CSIC utilizadas, se encuentran ubicadas todas ellas en la misma finca experimental, descrita en el apartado anterior. El suelo de la finca es de textura franco-arcillosa tanto en superficie como en profundidad, con niveles muy bajos de materia orgánica. El contenido de los macronutrientes fósforo y potasio asimilable es más bien bajo con altos niveles de sales totales, sobre todo de sulfato. Estos suelos se caracterizan además por su alto contenido en carbonato cálcico total y activo, lo que se traduce en un elevado poder clorosante. Todas estas deficiencias se corrigen con un adecuado abonado y riego, lo que propicia unas condiciones adecuadas para el cultivo de especies del género *Prunus* y concretamente para el ciruelo japonés.

Las descendencias de las tres familias utilizadas en este estudio crecieron sobre sus propias raíces. Por su parte, las variedades utilizadas en el estudio se encuentran injertadas sobre patrones francos de albaricoquero. Los descendientes de las tres poblaciones, así como los genotipos interespecíficos, se encuentran bajo un marco de plantación intensivo debido al gran número de genotipos a evaluar de $5 \times 1,5$ m mientras que las variedades tienen un marco de plantación de 5×3 m. El cultivo se lleva a cabo mediante fertirrigación en riego por goteo, con agua de buena calidad. El manejo agronómico es el habitual para el ciruelo en la zona: formación en vaso, poda invernal ligera, y aclareo de frutos en los casos necesarios. Los tratamientos fitosanitarios son mínimos, limitándose a los estrictamente necesarios, especialmente para pulgones y enfermedades fúngicas.



3. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y ESTUDIO DEL MODO DE HERENCIA DE CARACTERES FENOLÓGICOS Y DE CALIDAD DEL FRUTO

3. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y ESTUDIO DEL MODO DE HERENCIA DE CARACTERES FENOLÓGICOS Y DE CALIDAD DEL FRUTO

3.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La caracterización fenotípica de familias segregantes es un requisito fundamental para abordar el estudio del modo de herencia de caracteres de interés. Asimismo, permite analizar la correlación entre los diferentes caracteres evaluados. Por otra parte, la información fenotípica es imprescindible en estudios genómicos para establecer asociaciones genotipo-fenotipo a fin de identificar regiones del genoma asociadas a la expresión de caracteres de interés (QTLs), tras la construcción previa de mapas de ligamiento genético. En este sentido, una caracterización fenotípica amplia y precisa constituye un pilar esencial para llevar a cabo la identificación de QTLs vinculados a caracteres agronómicos de interés en cualquier especie vegetal. La precisión dentro de la evaluación fenotípica es uno de los factores más importantes para poder llevar a cabo una detección de QTLs consistente. Para alcanzar este objetivo, se requiere una evaluación fenotípica a lo largo de varios años, lo que contribuye a mejorar la precisión en el mapeo de QTLs además de reducir posibles errores experimentales, especialmente en el caso de caracteres con baja heredabilidad (Xu & Crouch, 2008).

En las especies de *Prunus* cercanas al ciruelo japonés, como los albaricoqueros, estudios previos han demostrado que la mayoría de los caracteres fenológicos y pomológicos, incluidos los atributos de calidad del fruto, poseen una naturaleza poligénica y herencia cuantitativa (Ruiz & Egea 2008; Ruiz *et al.*, 2008, 2010b; Salazar *et al.*, 2013, 2014, 2016; García-Gómez *et al.*, 2019). Sin embargo, es importante destacar que en la especie ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) se han llevado a cabo muy pocos trabajos en los que se estudie la transmisión de caracteres fenológicos y de calidad del fruto, en comparación con otras especies del mismo género. En este sentido, destacan los primeros trabajos de Salazar *et al.* (2017) donde fenotiparon 55 descendientes de la progenie '98-99' × 'Angeleno' durante dos años consecutivos, como etapa previa a la búsqueda de QTLs relacionados con la calidad del fruto. En este estudio, se evaluaron nueve caracteres agronómicos, que incluyeron la fecha de maduración, el peso y la forma del fruto, el color visual de la piel y la pulpa, el contenido de clorofila del fruto, la firmeza y el contenido en sólidos solubles. Los resultados indicaron una distribución normal para los caracteres de peso del fruto, firmeza y contenido en sólidos solubles; una distribución bimodal para la fecha de maduración; y una distribución categórica o mendeliana para la forma del fruto, así como para el color visual de la piel y la pulpa. Además, se observaron las correlaciones interanuales más altas en la fecha de maduración (0,74), el peso del fruto (0,64) y el color de piel visual (0,80), todas con un nivel de significancia de $p < 0,005$. Posteriormente, Salazar *et al.* (2020) ampliaron la información disponible sobre la misma progenie mediante un seguimiento fenotípico a lo largo de tres años. En esta ocasión, se incorporaron nuevas variables a la evaluación. El fenotipado incluyó la fecha de floración y maduración, el periodo de desarrollo del fruto, el peso y los diámetros ecuatorial, sutural y polar del fruto, la forma, diversos atributos de textura del fruto, como la fuerza máxima, el

contenido en sólidos solubles y la acidez, entre otros. En este estudio, tanto la fecha de maduración como el periodo de desarrollo del fruto mostraron una heredabilidad muy alta (0,80). La forma del fruto presentó una heredabilidad moderada (0,70-0,80), mientras que el peso, el contenido en sólidos solubles y el contenido en ácido málico mostraron una heredabilidad menor (0,50-0,60). Recientemente, se ha estudiado la segregación de diversos compuestos fenólicos en la misma progenie (Valderrama-Soto *et al.*, 2021; Battistoni *et al.*, 2022).

En la presente tesis doctoral, la caracterización fenotípica está focalizada en caracteres fenológicos (fecha de floración, fecha de maduración, ciclo de desarrollo del fruto, intensidad de floración y productividad) y de calidad del fruto, incluyendo caracteres físicos (peso, diámetro, forma, profundidad de la sutura, la adhesión del hueso a la pulpa, porcentaje de hueso roto, color de piel, color de pulpa, presencia de lenticelas en la piel y firmeza) y caracteres organolépticos (contenido en sólidos solubles, pH y acidez).

Desde el punto de vista fenológico, la *fecha de floración* la podemos considerar el carácter clave en los cultivos frutales de zonas templadas, encontrándose estrechamente correlacionada con las necesidades de frío invernal de cada variedad (Ruiz *et al.*, 2019), lo que la convierte en un factor esencial en la adaptación del ciruelo japonés a distintos climas y zonas geográficas, especialmente en el actual contexto de cambio climático. Además, la necesidad de polinización de la mayoría de las variedades cultivadas requiere de una sincronización adecuada de las fechas de floración para asegurar una polinización exitosa y, por lo tanto, una buena producción. Por tanto, la fecha de floración es un carácter esencial en los programas de mejora genética de ciruelo. En ciruelo japonés, existe un amplio rango de fechas de floración, abarcando desde mediados de febrero hasta finales de marzo (Ruiz *et al.*, 2019), esta elevada variabilidad sugiere una herencia cuantitativa del carácter (Okie & Hancock, 2008).

Por su parte, la *fecha de maduración* es otro de los caracteres fenológicos más importantes, especialmente desde un punto de vista comercial. Disponer de variedades que abarquen un amplio periodo de cosecha es importante para asegurar una producción continua. El rango de fechas de maduración en la especie de ciruelo japonés es muy amplio, mayor que en albaricoquero, abarcando desde la segunda quincena de mayo ('Red Beaut') hasta principios de septiembre ('Angeleno'). En una misma ubicación una variedad suele producir frutos que se cosechan en un periodo de 1 a 2 semanas, lo que implica que, para garantizar una producción continua a lo largo de 6 meses, se requiere el cultivo de entre 12 y 24 variedades con distintos momentos de maduración (Topp *et al.*, 2012). Es relevante destacar que la fecha de cosecha se hereda de manera cuantitativa según multitud de autores (Weinberger & Thompson, 1962; Okie & Hancock, 2008; Salazar *et al.*, 2020).

La *productividad* es otro factor fundamental para el éxito de una nueva variedad, abarcando tanto el rendimiento como la consistencia en la producción, incluyendo la presencia o ausencia de fenómenos como alternancia de cosechas (Goldschmidt, 2013). En el caso del

ciruelo japonés, en la productividad se ven involucrados tanto factores genéticos como ambientales y de manejo en campo (Okie & Hancock, 2008).

En cuanto a los caracteres relacionados con la calidad del fruto en ciruelo japonés, los mejoradores tradicionalmente han seleccionado principalmente por la calidad externa de la fruta (tamaño y apariencia de la fruta), siendo los atributos organolépticos y nutricionales un objetivo secundario (Byrne, 2002; Hilaire, 2003). Sin embargo, hoy en día la calidad gustativa de la fruta es fundamental para la aceptación de las variedades por parte de los consumidores, debido a la alta competencia (Crisosto & Crisosto, 2005; Crisosto *et al.*, 2006; Iglesias & Echeverría, 2009). La calidad del fruto es un concepto complejo desde la perspectiva humana que engloba diversas propiedades sensoriales (apariencia, textura, sabor y aroma), valores nutricionales, compuestos químicos, propiedades mecánicas y funcionales (Infante *et al.*, 2008).

En lo que respecta al *calibre* y la *forma* del fruto, a menudo se prefieren frutos grandes y simétricos, sin suturas muy marcadas. Esta preferencia no solo es valorada positivamente en el mercado, incrementando su valor comercial, sino que también contribuye a minimizar los costes de recolección y reduce la probabilidad de daños durante el proceso de recolección y poscosecha (Topp *et al.*, 2012). Morfológicamente, se suelen preferir frutos con formas redondas, oblongas o acorazonadas, evitando aquellos que presenten un ápice puntiagudo que pueda dañarse fácilmente.

El *color de la piel* y el *color de la pulpa* del fruto son caracteres que presentan una gran importancia ya que se encuentran estrechamente ligados a la percepción de la calidad del fruto y atractivo por parte de los consumidores, así como también suponen uno de los criterios que indican el estado de madurez del fruto (Abbott *et al.*, 1999). Es importante destacar que las preferencias de color varían entre los consumidores de diferentes regiones geográficas. De manera general, en Asia se muestra una inclinación hacia frutos con tonos verdosos, mientras que en el centro de Europa se tiende a preferir frutos con una coloración similar al azul (Hartmann & Neumüller, 2009). Sin embargo, los productores generalmente prefieren piel oscura sobre colores claros, debido a que esta característica tiende a ocultar posibles imperfecciones, lo que repercute positivamente en la aceptación por parte del consumidor (Okie & Hancock, 2008). En general se prefieren frutas de color homogéneo (Lozano *et al.*, 2009), aunque las variedades moteadas también son valoradas en el mercado. La correlación entre el color y la presencia de compuestos beneficiosos para la salud está ampliamente descrita en *Prunus* (Ruiz *et al.*, 2005, 2008). El desarrollo de variedades con frutos que posean propiedades antioxidantes destacadas ha cobrado una gran relevancia entre los consumidores debido a su mayor valor nutracéutico (Netzel *et al.*, 2012; Valderrama-Soto *et al.*, 2021; Battistoni *et al.*, 2022). Estos frutos suelen mostrar un incremento en la concentración de antocianinas, lo cual puede identificarse fácilmente gracias a la presencia de tonalidades rojizas. La intensidad de la coloración, determinada por la cantidad de antocianinas, está regulada por múltiples genes. En particular, el color de la piel amarillo parece estar controlado por un solo gen recesivo sobre el rojo, morado o negro, que se heredan de forma cuantitativa,

mientras que el color de la pulpa roja es dominante sobre el amarillo y se hereda de una forma mendeliana (Fiol *et al.*, 2021, 2022).

La *adherencia* del hueso a la pulpa tiene también un impacto en la calidad del fruto, influyendo en la textura y jugosidad. Cuando el hueso está totalmente adherido puede hacer que la experiencia al comer el fruto sea menos agradable, además de afectar a la jugosidad del mismo, ya que la separación del hueso puede liberar los jugos de la pulpa, mejorando así la experiencia sensorial del consumidor. Por otro lado, también influye en la facilidad con la que se puede extraer el hueso para distintos procesos en la industria alimentaria como la elaboración de conservas o mermeladas, repercutiendo directamente en el coste de procesamiento (Hartmann & Neumüller, 2009). Por tanto, para este carácter se prefieren variedades donde la pulpa no esté adherida al hueso, teniendo este libre. La adherencia del hueso a la pulpa es un carácter cuantitativo, siendo la adhesión de la pulpa al hueso dominante sobre frutos que presentan el hueso libre, existiendo también fenotipos intermedios como semiadherentes (Kwon *et al.*, 2018). Este carácter también se ve afectado por el grado de madurez de la fruta y la firmeza de la pulpa (Okie & Weinberger, 1996).

Por otra parte, la *rotura del hueso* constituye un fenómeno fisiológico que puede provocar pérdidas económicas importantes, ya que la fruta afectada debe comercializarse de segunda clase cuando la incidencia de este fenómeno es superior al 10% (Kritzinger *et al.*, 2017). En casos severos, este defecto hace que la fruta no sea apta para la exportación debido a una deformación del fruto, sin embargo, en la mayoría de los casos no hay indicios externos que indiquen la fractura o división del hueso, y esta se detecta únicamente al abrir el fruto (Ragland, 1934; Woodbridge, 1978; Ogawa *et al.*, 2003). Además, los fragmentos de hueso roto en la fruta se pueden considerar un riesgo para la salud del consumidor. Existe una componente genética que determina una mayor susceptibilidad a presentar hueso roto tal y como indica Kritzinger *et al.* (2017) en ciruelo japonés, y Drogoudi & Pantelidis (2022) en melocotonero. Además, este fenómeno también está influenciado por el ambiente, sobre todo por la temperatura y las precipitaciones. Los cultivares o genotipos que son menos susceptibles a presentar hueso roto desarrollan un hueso completo independientemente de la temperatura. Sin embargo, en estos cultivares las temperaturas primaverales inciden en las enzimas responsables de la lignificación, lo que se traduce en huesos más flexibles y resistentes a la fractura en primaverales cálidas, cuando la lignificación es menos pronunciada. No obstante, estos mismos genotipos pueden generar huesos más rígidos cuando la lignificación se regula al alza, como lo sugieren los resultados obtenidos en otras especies (Hausman *et al.*, 2000; Dangcham *et al.*, 2008; Jincheng *et al.*, 2006). Además, las precipitaciones primaverales también influyen en la incidencia de la fractura del hueso, donde niveles más altos de humedad en el suelo incrementan la turgencia de las células del fruto, lo que aumenta las fuerzas de tracción sobre el hueso y provocan una mayor incidencia de rotura del mismo (Claypool *et al.*, 1972; Kritzinger *et al.*, 2017). Esto hace que sea importante y necesario llevar a cabo un buen manejo del cultivo, conocer las condiciones climáticas de las distintas zonas de producción, así como

que los programas de mejora excluyan cultivares que muestren este defecto durante las fases de evaluación.

La percepción de la *firmeza* y la *textura* de la fruta constituyen un indicador tanto del estado de madurez como del momento óptimo para la recolección. Asimismo, desempeña un papel fundamental en la comercialización y la aceptación del consumidor, siendo uno de los caracteres fenotípicos más trascendentales. Mantener una firmeza adecuada en la fruta es una de las características más cruciales para preservar su calidad durante la cosecha, el manejo, el almacenamiento y la comercialización. Además, resulta esencial en el transporte a larga distancia, ya que las frutas firmes suelen presentar un comportamiento poscosecha más favorable (Byrne, 2012). La firmeza de la fruta es una característica altamente heredable y, en el pasado, ocupó un lugar central en la mejora siendo uno de los principales objetivos en las hibridaciones tempranas realizadas por Burbank a fines del siglo XIX. Esta orientación condujo a la obtención de frutas firmes a partir de los híbridos de *P. salicina* más comunes, dando origen a genotipos que sobresalen en este aspecto (Okie & Hancock, 2008). La firmeza de la fruta está directamente relacionada con su *textura*, la cual puede variar desde una consistencia muy delicada hasta una fibrosa. En el caso del consumo fresco, se prefiere cierto grado de jugosidad, mientras que se evita la *textura* harinosa y seca (Hartmann & Neumüller, 2009).

En cuanto a la calidad organoléptica del fruto, el *sabor* de la fruta es una combinación única entre su gusto y su aroma. Para realizar una comparación objetiva entre diferentes genotipos, se recurre a la medición de la concentración de sólidos solubles y los niveles de acidez (Topp *et al.*, 2012). En el caso de las ciruelas japonesas, al igual que en muchos otros cultivos, estos dos factores son de gran importancia en la aceptación por parte de los consumidores. Se prefiere que los niveles de sólidos solubles sean elevados, independientemente de los niveles de acidez, mientras que cuando los niveles de sólidos solubles son inferiores, un mayor contenido de acidez tiene un efecto negativo en la aceptabilidad para el consumidor (Crisosto *et al.*, 2004). El objetivo en la mejora de variedades es producir aquellas con niveles altos de sólidos, incluso si se cosechan antes de alcanzar su madurez completa (Topp *et al.*, 2012). En algunos casos, se busca que la piel de la fruta tenga una acidez moderada para contrastar con la dulzura de la pulpa. Si bien esta característica es heredable, también está influenciada en gran medida por factores ambientales. En los estudios realizados por Salazar *et al.* (2017, 2020) en ciruelo japonés, tanto el contenido en sólidos solubles como la acidez mostraron una distribución normal, confirmando su naturaleza poligénica y herencia cuantitativa, como ya se había reportado en otras especies de *Prunus* como el albaricoquero (Ruiz *et al.*, 2010b; García-Gómez *et al.*, 2019). Además, indicaron una heredabilidad que osciló entre 0,50 y 0,60. Sin embargo, investigaciones más recientes realizadas por Carrasco *et al.* (2022) reportaron una heredabilidad de 0,85 para el contenido en sólidos solubles en ciruelo japonés. Las condiciones climáticas, la gestión del cultivo y el momento de la cosecha son elementos determinantes que influyen en la concentración de sólidos solubles y en el nivel de acidez. En lo referente al aroma, es importante mencionar que la mayoría de las ciruelas japonesas tienen niveles bajos de compuestos volátiles en

comparación con otras especies relacionadas, lo que hace que puedan mejorarse mediante cruces interespecíficos con albaricoquero para incorporar sus mejores perfiles aromáticos (Gómez & Ledbetter, 1993).

El objetivo de este capítulo es la caracterización fenotípica y el estudio del modo de transmisión de los caracteres fenológicos y de calidad del fruto más destacados en las tres poblaciones segregantes de ciruelo japonés. Además, se busca identificar las correlaciones más importantes entre estos atributos fenológicos y las características de calidad del fruto. Esta información será fundamental para llevar a cabo la identificación de QTLs a través de los mapas de ligamiento generados en el Capítulo 4.

3.2. MATERIAL VEGETAL

El material vegetal empleado en la caracterización fenotípica y estudio del modo de herencia de los principales caracteres relacionados con la fenología y la calidad de fruto consistió en tres familias segregantes de ciruelo japonés: 121 descendientes de la población 'Black Splendor' × 'Pioneer' ('BS×PIO'), 103 descendientes de 'Red Beaut' × 'Black Splendor' ('RB×BS') y 103 descendientes de 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' ('RB×SRP'). Los años en los que se ha realizado el fenotipado fueron 2019, 2020 y 2021 para las tres poblaciones y sus progenitores. Las características de los parentales de cada población están descritas en el Capítulo 2 de esta tesis.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Toma de muestras

La caracterización pomológica se llevó a cabo mediante la recogida de los frutos en el momento óptimo de madurez para cada uno de los genotipos que conforman cada población y sus progenitores, empleando la combinación de color de piel y la firmeza como criterios para determinar el momento óptimo de maduración de la fruta (Sims & Comin, 1963; Varady-Burguetti *et al.*, 1983; Visagie, 1984; Ruiz *et al.*, 2008) y por tanto llevar a cabo la recolección para su posterior análisis.

La toma de muestras se realizó de forma manual en la finca experimental del programa de mejora genética de ciruelo japonés del CEBAS-CSIC/IMIDA en Calasparra (descrita en el Capítulo 2), eligiendo frutos de tamaño uniforme y representativo del genotipo, situados en distintos puntos cardinales y posiciones del árbol. Tras la recolección, los frutos fueron transportados en un vehículo refrigerado hasta el laboratorio del CEBAS-CSIC para su evaluación. Se recolectaron 40 frutos aproximadamente por genotipo, de los cuales se seleccionaron 12 frutos en total para el análisis, eligiendo una muestra representativa, evitando los frutos sobremaduros y/o inmaduros. Tras la medición de los parámetros físicos del fruto, los frutos se trocearon y se dividieron en 3 submuestras compuestas por 4 frutos cada una,

teniendo así tres repeticiones por cada genotipo, que fueron congeladas a -20°C para el posterior análisis del contenido de sólidos solubles y acidez.

3.3.2. Evaluación de caracteres fenológicos

3.3.2.1. Fechas de floración, fecha de maduración y ciclo de desarrollo del fruto

Para la evaluación de la fecha de floración se llevó a cabo un seguimiento periódico, en intervalos de 2-3 días, en la finca experimental durante los meses de enero a marzo, los tres años de estudio. Se estableció el momento inicial de la floración (F_5) cuando el 5% de las flores habían abierto. La etapa de plena floración (F_{50}) se registró cuando los árboles alcanzaron el estadio 65 de acuerdo con la escala BBCH (Meier *et al.*, 1994), con el 50% de las flores abiertas; mientras que el final de la floración (F_{90}) se determinó como la fecha en la que el 90% de las flores estaban abiertas.

En cuanto a la fecha de maduración, se llevó a cabo igualmente un seguimiento periódico en intervalos de 2-3 días en la finca experimental durante los meses de mayo a julio. La fecha de maduración se consideró como el momento fisiológico óptimo en el que el fruto presentaba una firmeza y color adecuados para su consumo en fresco.

Tanto las fechas de floración (F_5 , F_{50} y F_{90}) como la fecha de maduración se expresaron en días julianos, que representan los días naturales transcurridos desde el 1 de enero.

También se determinó la duración del ciclo de desarrollo del fruto como el tiempo transcurrido en días entre la fecha de plena floración y la de maduración.

3.3.2.2. Intensidad de floración y productividad

La intensidad de floración de cada genotipo fue registrada en el momento en el que se encontraba en plena floración (F_{50}). Se evaluó de manera visual en una escala de 0 a 3, siendo 3 el valor máximo.

La productividad se evaluó en una escala de 0 a 5, siendo 0 cuando los genotipos no presentaban fructificación y 5 cuando tenían una producción máxima.

3.3.3. Evaluación de caracteres físicos del fruto

3.3.3.1. Peso del fruto

Para la determinación del peso medio de los frutos se utilizó una balanza digital de precisión Sartorius modelo ENTRIS623, con una precisión de 0,01 g (Figura 3.1). Se pesaron todos los frutos individualmente, y los resultados obtenidos se expresaron como la media de los 12 frutos en gramos (g).



Figura 3.1. Detalle de la balanza digital utilizada para pesar los frutos.

3.3.3.2. Diámetro del fruto

Para la determinación del diámetro del fruto se realizaron tres medidas. Se determinó el diámetro ecuatorial, polar y sutural mediante un calibre electrónico digital modelo Mitutoyo de 150 mm (Figura 3.2). Los resultados obtenidos para cada diámetro se expresaron como la media de las 12 medidas realizadas por genotipo y se expresaron en mm.

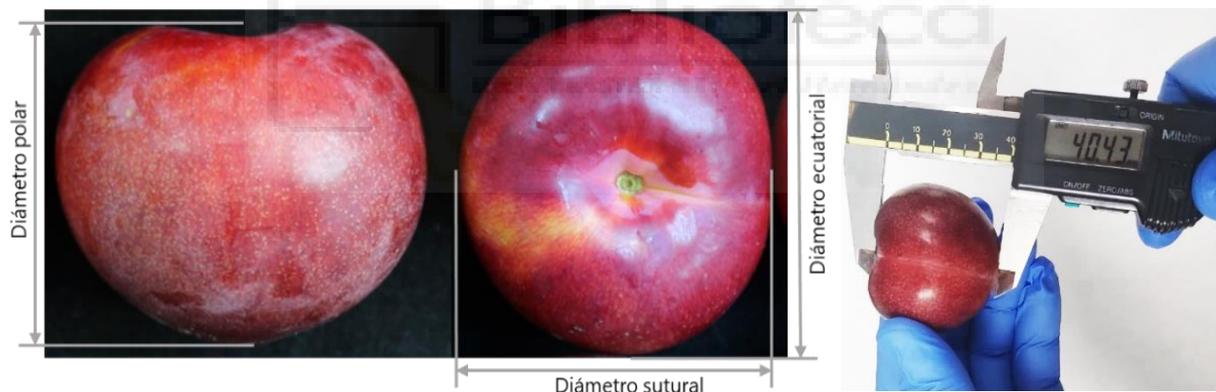


Figura 3.2. Detalle del diámetro polar, ecuatorial y sutural (izquierda). Calibre electrónico empleado para medir los frutos (derecha).

3.3.3.3. Forma del fruto

En la determinación de la forma del fruto se empleó la medición de los tres diámetros previamente descritos y las directrices establecidas por la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) para *P. salicina*, donde se distinguen diversas opciones de caracterización para esta especie (UPOV, 2011).

Los frutos de cada genotipo fueron clasificados según las siete formas definidas por la UPOV: oblongo (1), elíptico (2), circular (3), cordiforme (4), achatado (5), ovoidal (6) y obcordiforme (7) (Figura 3.3).

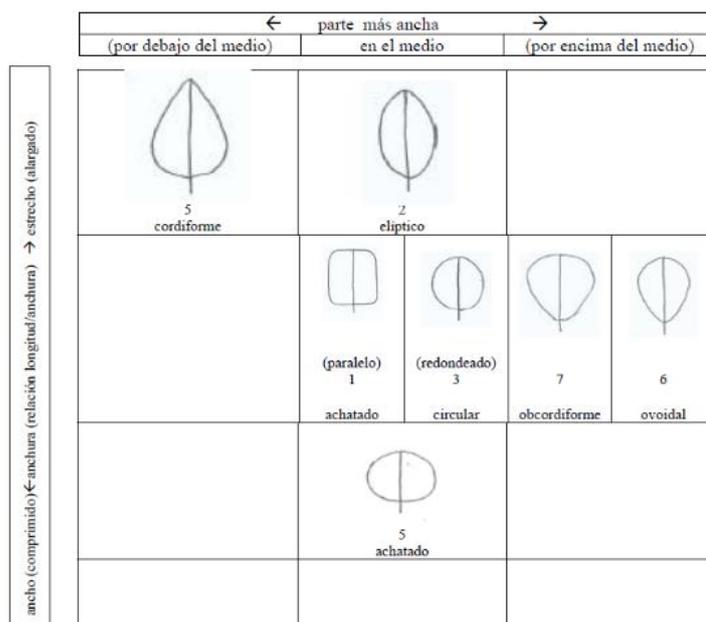


Figura 3.3. Diferentes formas del fruto en vista lateral de ciruelo japonés según la UPOV. Figura extraída de las directrices generales de la UPOV para *P. salicina* (UPOV, 2011).

3.3.3.4. Profundidad de la sutura

La profundidad de la sutura de los frutos de cada genotipo fue evaluada mediante una comparación visual con las directrices generales establecidas por la UPOV para este atributo (UPOV, 2011). Esto permitió clasificar los frutos en tres categorías según la profundidad de la sutura: poco profunda (1), media (2) y profunda (3) (Figura 3.4).

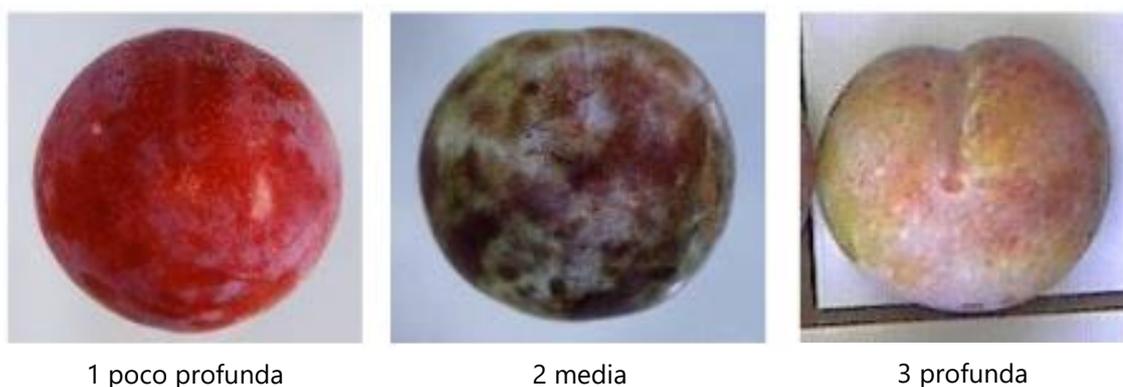


Figura 3.4. Clasificación de los frutos de ciruelo japonés según la UPOV en función de la profundidad de la sutura. Figura extraída de las directrices generales de la UPOV para *P. salicina* (UPOV, 2011).

3.3.3.5. Presencia de lenticelas en la piel

La presencia de lenticelas en la piel del fruto se determinó visualmente diferenciando entre 4 tipos de frutos, frutos con lenticelas no marcadas (1), un poco marcadas (2), marcadas (3) y muy marcadas (4) (Figura 3.5).



Figura 3.5. Clasificación de los frutos en función de la presencia de lenticelas en la piel.

3.3.3.6. Adhesión del hueso a la pulpa

Para la determinación del grado de adherencia del hueso a la pulpa, se realizó una inspección visual individual de los frutos de cada muestra. Los frutos fueron clasificados en tres categorías: aquellos sin adherencia del hueso a la pulpa (0), los que mostraron una adherencia intermedia (1) y los que presentaron una adherencia total del hueso a la pulpa (2). Este análisis se llevó a cabo cortando los frutos por la mitad y evaluando la presencia de restos de pulpa en el hueso, así como la facilidad con la que la pulpa se separaba al separar las dos mitades del fruto.

Los resultados obtenidos se expresaron como un porcentaje de adherencia del hueso a la pulpa, considerando un 100% de adherencia cuando todos los frutos de la muestra presentaban una adherencia total del hueso a la pulpa (2) (Figura 3.6).



Figura 3.6. Ejemplo de clasificación de frutos en función de la adhesión del hueso a la pulpa, siendo 0: no adherente, 1: semiadherente y 2: adherente. En esta muestra el genotipo presenta 10 frutos valorados como adherentes (2) y dos frutos como no adherentes (0), por lo que el porcentaje de adherencia de este genotipo sería del 83%.

3.3.3.7. Hueso roto

La presencia de hueso roto en el fruto tiene un impacto negativo en la calidad del mismo, ya que compromete su integridad en términos de sabor, textura y apariencia, además de afectar a la vida útil del fruto, al facilitar la entrada de microorganismos y acelerar el proceso de pudrición.

Para la determinación del porcentaje de hueso roto de cada genotipo se contabilizó el número de frutos que mostraron rotura en el hueso con respecto al total de cada muestra de 12 frutos por árbol (Figura 3.7).



Figura 3.7. Muestra de 12 frutos en la que se observan 4 frutos con el hueso roto, por lo que el genotipo tendrá un porcentaje de hueso roto del 33%.

3.3.3.8. Color del fruto

Se evaluó el color de fondo de la piel, el color superficial de la piel o sobrecolor, y el color de pulpa de forma visual según las directrices de la UPOV (UPOV, 2011). El color de fondo es el primer color que aparece cronológicamente durante el desarrollo de la epidermis, se clasificó en: no visible (1), verde (2), verde-amarillento (3) y amarillo (4). Para el color de la superficie de la epidermis los frutos se clasificaron en seis niveles según el color: amarillo (1), amarillo-anaranjado (2), rojo (3), rojo oscuro (4), violáceo (5) y negro (6). Por otro lado, para el color de la pulpa se establecieron nueve niveles: blanquecino (1), verde (2), verde-amarillento (3), amarillo (4), naranja (5), rojo (6), rojo oscuro (7), purpúreo (8) y un último nivel para identificar a los genotipos que presentan un color de pulpa bicolor entre amarillo y rojo (9) como 'Santa Rosa Precoz'.

Además de la evaluación visual, el color de la piel y el color de la pulpa también fueron determinados mediante un colorímetro Minolta Chroma Meter (CR-300; Minolta, Ramsey, NJ, EE.UU.) (Figura 3.8), calibrado previamente con una placa de referencia de porcelana blanca. Este aparato está provisto de una lámpara de xenón la cual se coloca sobre el fruto y determina el color de una región de 8 mm por reflexión, ya que proyecta una pulsación de luz sobre la muestra formando un ángulo de 45° y la refleja verticalmente a través de los juegos de filtro y fotocélula para dar valores a los parámetros L^* , a^* y b^* . El sistema utilizado para la determinación del color fue CIELab (Figura 3.8), el cual es ampliamente empleado ya que correlaciona los valores numéricos de color consistentemente con la percepción visual humana (Brown & Walker, 1990; McGuire, 1992; Minolta Corporation, 1994). El sistema de coordenadas de color es L^* , a^* y b^*

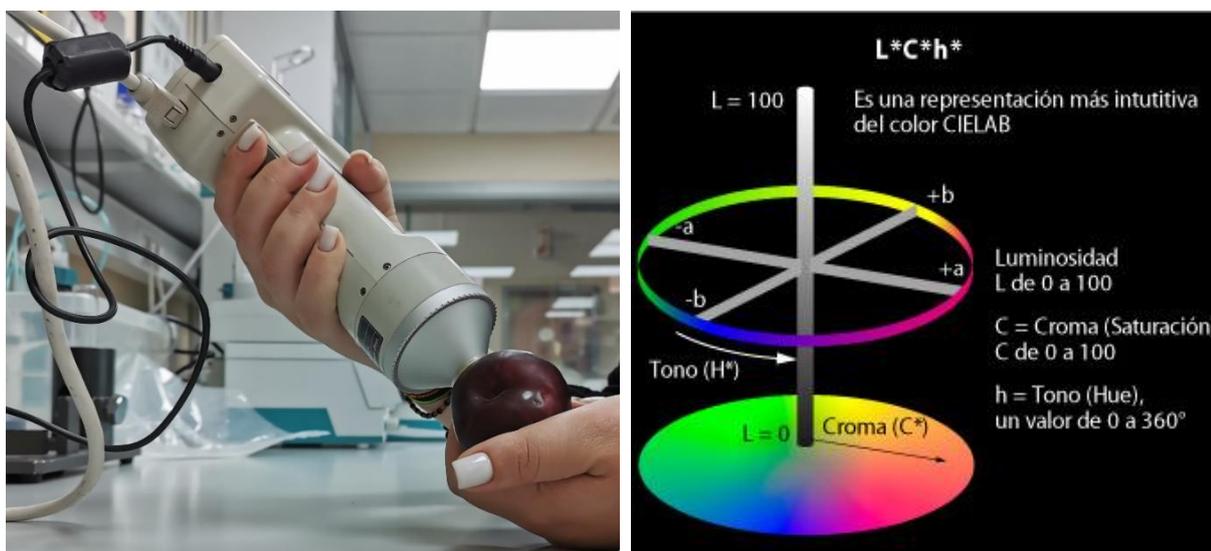


Figura 3.8. Medición del color de piel mediante el colorímetro Minolta Chroma Meter modelo CR-300 (izquierda). Modelo de definición de color CIELab. Figura de Pérez *et al.* (2008) (derecha).

La coordenada L^* (eje Y) indica la luminosidad del fruto, varía de negro ($L=0$) a blanco ($L=100$). Los parámetros a^* y b^* indican conjuntamente la cromaticidad, la coordenada a^* (eje X) va desde valores de -100 a +100, siendo los valores negativos para el color verde y positivos

para el color rojo. El parámetro b^* (-100 a + 100), representado en el eje Z (perpendicular) evoluciona desde el color azul (valores negativos: $-b^*$) hasta el color amarillo (valores positivos: $+b^*$). A partir de estas coordenadas se calcula el ángulo Hue de color (H°) y el croma o intensidad (C^*) (Hunter, 1942; Little, 1975), los cuales son más comprensibles desde un punto de vista objetivo (McGuire, 1992; Minolta, 1994). El ángulo Hue de color es el parámetro que mejor refleja en el sistema espacial de coordenadas el color resultante de los valores de los ejes a^* y b^* , calculándose como $H^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$, sus valores corresponden al matiz o tono del color, se expresa en grados que van de 0° a 360° . El valor de C^* corresponde con el croma o saturación del color, está determinada por su alejamiento del gris, siendo más saturado un color cuanto más alejado del gris se encuentra, varía desde 0 (menor intensidad) a 100 (máxima intensidad), calculándose como $C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ (Figura 3.8) (Pérez *et al.*, 2008).

Se realizaron las mediciones de color en los 12 frutos individualmente, en tres posiciones diferentes de cada fruto en la zona ecuatorial, obteniendo así el promedio de 36 mediciones por muestra para el color de la piel y el color de la pulpa. Finalmente, se obtuvieron valores promedio del ángulo Hue (H°), luminosidad (L^*) y saturación (C^*) tanto para color de la piel como el color de la pulpa.

3.3.3.9. Firmeza

La evaluación de la firmeza se llevó a cabo mediante un sistema de compresión no destructivo mediante una prensa hidráulica provista de un plato de compresión de 100 mm de diámetro de base plana, montada sobre el Texturómetro modelo TA-TXPlus (Texture Analyzer, Stable Microsystems, Godalming, UK) conectado a un ordenador personal para el procesamiento de datos (Figura 3.9). Con este sistema se midió la fuerza máxima requerida para deformar la fruta en una extensión de 5 mm a una velocidad de 25 mm/min.

Se emplearon un total de 12 frutos por genotipo, obteniendo un valor medio para cada uno de ellos expresado en Newton (N).

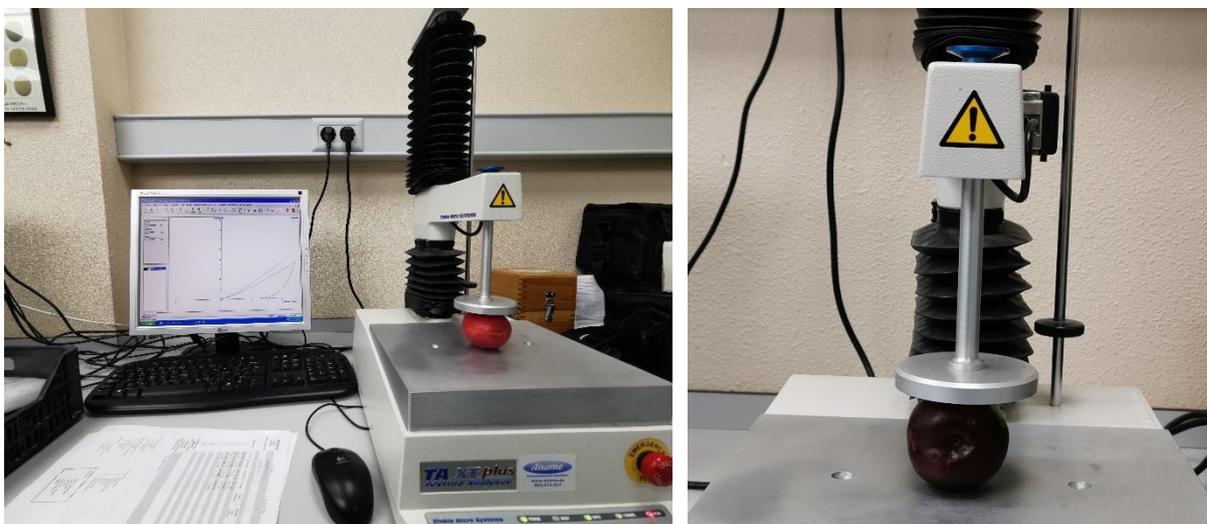


Figura 3.9. Detalle del Texturómetro TA.TXPlus con los accesorios empleados en el ensayo de compresión.

3.3.4. Evaluación de caracteres organolépticos del fruto

3.3.4.1. Contenido en sólidos solubles

Se determinó el contenido en sólidos solubles mediante la medición del índice de refracción, que refleja la velocidad con la que la luz atraviesa una sustancia. Este parámetro está directamente relacionado con la cantidad de azúcar presente en el fruto, ya que el 80% de los sólidos disueltos que causan la refracción son azúcares. De este modo, el contenido en azúcares se expresa en °Brix, una medida calibrada en porcentaje de sacarosa a 20 °C, dado que es el principal componente de los sólidos solubles y el más abundante en el fruto.

Para la determinación del contenido en sólidos solubles, se trocearon 12 frutos divididos en 3 réplicas de 4 frutos cada una, y posteriormente fueron licuados. La cuantificación se realizó empleando un refractómetro digital modelo PAL-1 de ATAGO (Figura 3.10). Se vertieron unas gotas del licuado de cada muestra con la ayuda de una pipeta Pasteur sobre la lente del refractómetro, el cual nos proporcionaba de forma automática el valor de la medición en °Brix. Esto resultó en tres valores por genotipo, uno para cada réplica. El valor promedio de las tres réplicas representó el contenido en sólidos solubles correspondiente a cada genotipo.

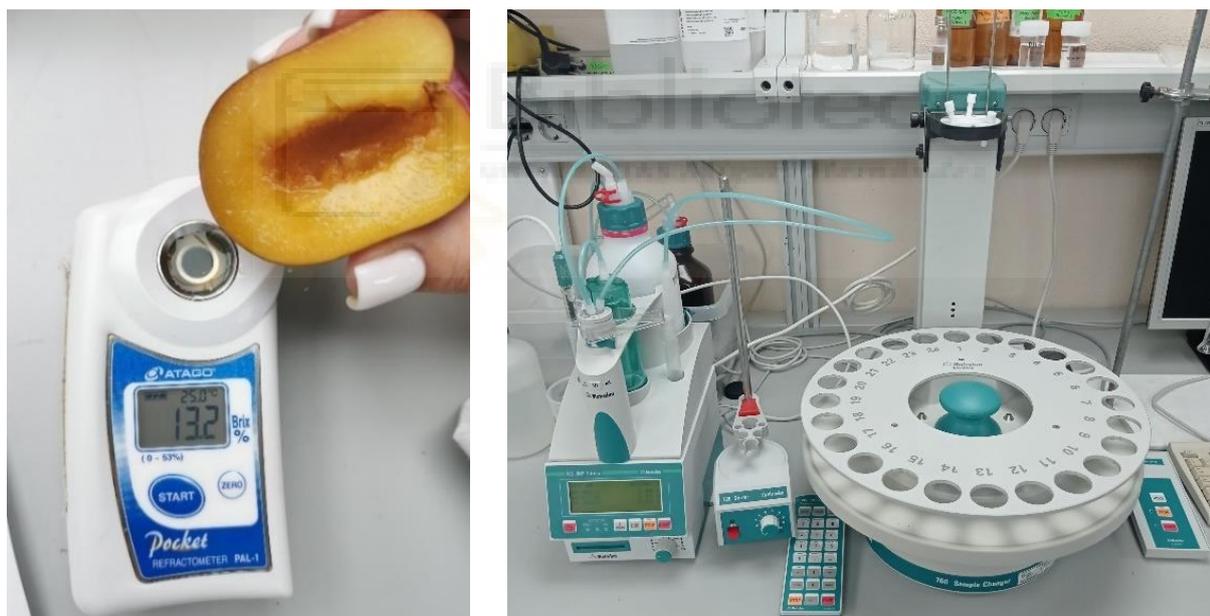


Figura 3.10. Detalle del refractómetro utilizado en la medición de los sólidos solubles (izquierda) y del valorador automático ácido-base empleado para la medición del pH y la acidez del fruto (derecha).

3.3.4.2. Acidez y pH del fruto

La acidez valorable y el pH fueron obtenidos mediante un valorador automático (modelo 785 DMP Titrino Metrohm Ltd CH-9101, Suiza) (Figura 3.10). La acidez se determinó mediante una valoración ácido-base. Para ello, se utilizaron 2 g de muestra del fruto licuado diluidos en 30 ml de agua destilada. El valorador realizó de forma automática la valoración neutralizando la acidez con NaOH 0,1 N hasta a alcanzar un valor de pH de 8,1. Como resultado, se registraron los valores de pH y acidez, este último expresado en gramos de ácido málico

por cada 100 ml de zumo, por ser el ácido predominante en ciruela. Este procedimiento se realizó en las tres réplicas de cada genotipo, formada por cuatro frutos cada una. De esta forma se obtuvieron tres medidas correspondientes a cada réplica, calculándose posteriormente el valor medio.

3.3.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los datos obtenidos para cada población y año, obteniendo los valores medios, máximos y mínimos, el rango y la desviación estándar de cada carácter evaluado, así como la elaboración de histogramas representando la distribución del número de individuos por año y carácter de cada población.

Por otra parte, se procedió a evaluar la normalidad de todos los caracteres fenotípicos analizados empleando la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors para determinar si la distribución de los caracteres se ajustaba a una distribución normal, considerando tanto el genotipo como el año como factores independientes, y poder así aplicar un análisis de la varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias entre genotipos, años y la interacción genotipo/año. Aquellos caracteres que no se ajustaron a los criterios de normalidad fueron sometidos a un análisis utilizando el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. En ambos análisis las diferencias fueron consideradas significativas a partir de un valor $p \leq 0,05$. Para llevar a cabo estos análisis estadísticos se empleó el software IBM SPSS en su versión 27 (IBM Corp, 2020).

Adicionalmente, se realizó un estudio de correlaciones entre los caracteres dentro del mismo año para cada población, con el propósito de revelar posibles asociaciones. También se calcularon las correlaciones interanuales para cada carácter utilizando los datos brutos, aplicando el coeficiente de correlación de Spearman con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$ para las tres poblaciones.

En aras de facilitar una representación visual de los datos completos en un plano de menor dimensión, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA), lo que permitió identificar grupos relacionados, tendencias u observaciones atípicas. Las correlaciones de Spearman, los cálculos y la representación del PCA se realizaron utilizando los paquetes 'corrplot' (Wei & Simko, 2021), 'factoextra' (Kassambara & Mundt, 2020) y 'FactoMineR' (Lê *et al.*, 2008) del programa RStudio version (RStudio Team, 2023).

3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1. Valores descriptivos y análisis estadístico de la caracterización fenotípica en las poblaciones evaluadas

Los datos descriptivos correspondientes a las tres poblaciones evaluadas durante cada uno de los años estudiados se muestran de forma diferenciada para los caracteres fenológicos (Tabla 3.1), y los caracteres de calidad del fruto, estos a su vez divididos entre caracteres físicos (Tabla 3.2) y caracteres organolépticos (Tabla 3.3). Dichos datos descriptivos incluyen los valores medios, mínimos y máximos, así como la desviación estándar y el rango de los valores de cada carácter.

Los valores descriptivos resumidos en estas tablas muestran una gran variabilidad fenotípica en los descendientes de las tres poblaciones evaluadas, corroborando una gran segregación de los individuos que la conforman, objetivo perseguido en la generación de estas poblaciones (Tabla 3.1, Tabla 3.2, Tabla 3.3). Esta elevada segregación de los caracteres fenológicos y de calidad del fruto en las progenies de las poblaciones coincide con estudios previos realizados por Salazar *et al.* (2017, 2020) en la población de ciruelo japonés '98-99' × 'Angeleno', así como con diversos estudios realizados en frutales de hueso como albaricoquero (Dirlewanger *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*, 2012; Salazar *et al.*, 2013; Salazar *et al.*, 2016; García-Gómez *et al.*, 2019), cerezo (Theiler-Hedtrich, 1994; Dirlewanger *et al.*, 2012) y melocotonero (Cantín *et al.*, 2010; Dirlewanger *et al.*, 2012; Martínez-García *et al.*, 2012) entre otros.

La población 'BS×PIO' exhibe un rango más amplio de valores en los caracteres fenológicos en comparación con las demás poblaciones evaluadas (Tabla 3.1), así como en algunos caracteres físicos de calidad del fruto, tales como el peso y la firmeza (Tabla 3.2).

En relación con el color de la piel del fruto, destacan las poblaciones que tienen a 'RB' como parental femenino ('RB×BS' y 'RB×SRP'), las cuales muestran un rango de valores significativamente superior al de la población 'BS×PIO'. El rango máximo de color de piel para estas poblaciones puede llegar a 102,19, dependiendo del año y la población, en comparación con el rango máximo de 55,21 en 2020 para la población 'BS×PIO'. Esta mayor segregación de valores del color del fruto se debe a la presencia de genotipos con frutos de color de piel amarillo en las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP', característica ausente en la población 'BS×PIO' (Tabla 3.2).

En lo que respecta al color de la pulpa, las poblaciones que tienen a 'BS' como parental ('BS×PIO' y 'RB×BS') presentan rangos de valores superiores, situándose alrededor de un rango de 80, con valores que varían entre 17,89 y 106,45 según la población y el año. En contraste, la población 'RB×SRP' muestra un rango máximo de 65,03 en 2021, significativamente inferior al del resto de las poblaciones evaluadas. Esta variabilidad se atribuye a la presencia del parental 'BS', conocido por su pulpa roja, lo que resulta en genotipos con pulpa de color rojo oscuro y rojo. En la población 'RB×SRP', ningún genotipo presenta pulpa roja; sin embargo, es la única que exhibe una coloración bicolor de la pulpa debido al parental 'SRP' (Tabla 3.2).

Los caracteres organolépticos muestran una amplia segregación en las tres poblaciones evaluadas, sin embargo, no se observan diferencias significativas en los resultados entre las poblaciones en cuanto a estos caracteres (Tabla 3.3).

Todos estos resultados evidencian una buena segregación de los caracteres evaluados en las tres poblaciones, cumpliendo así el objetivo planteado al diseñarlas y generarlas, lo que facilita los estudios sobre el modo de herencia y los estudios genómicos.

Tabla 3.1. Resumen de los valores descriptivos para los caracteres fenológicos evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). Las fechas de floración y maduración se expresan en días julianos (DJ), el periodo de desarrollo del fruto en días (D).

Caracteres	Población	Año	Mínimo	Máximo	Rango	Media	DE
Inicio de floración (DJ)							
	BS×PIO	2019	26	60	34	43,49	7,14
		2020	15	56	41	41,67	7,54
		2021	21	58	37	41,84	6,45
	RB×BS	2019	41	61	20	51,82	4,81
		2020	41	57	16	48,99	3,25
		2021	39	55	16	44,57	4,09
	RB×SRP	2019	47	68	21	57,57	3,81
		2020	49	64	15	54,61	3,34
		2021	41	61	20	48,86	4,80
Plena floración (DJ)							
	BS×PIO	2019	35	64	29	47,28	6,00
		2020	36	60	24	49,16	5,36
		2021	20	61	41	46,63	7,56
	RB×BS	2019	45	64	19	55,15	4,18
		2020	44	60	16	51,77	3,04
		2021	41	58	17	47,46	4,34
	RB×SRP	2019	52	71	19	60,78	3,70
		2020	52	67	15	57,43	3,41
		2021	43	67	24	51,83	4,88
Final de floración (DJ)							
	BS×PIO	2019	36	65	29	49,19	6,25
		2020	35	61	26	51,63	5,18
		2021	30	64	34	49,18	7,34
	RB×BS	2019	47	66	19	57,69	4,03
		2020	48	62	14	54,09	2,86
		2021	41	60	19	49,58	4,72
	RB×SRP	2019	55	75	20	63,40	3,87
		2020	54	69	15	59,39	3,50
		2021	46	71	25	54,91	5,34
Intensidad de floración (0-3)							
	BS×PIO	2019	0,0	3,0	3,0	1,98	0,68
		2020	0,5	3,0	2,5	1,97	0,78
		2021	0,5	3,0	2,5	2,15	0,75
	RB×BS	2019	0,0	3,0	3,0	1,10	0,80
		2020	0,0	3,0	3,0	1,06	0,75
		2021	0,0	3,0	3,0	1,19	0,80
	RB×SRP	2019	0,0	3,0	3,0	0,99	0,79
		2020	0,0	2,5	2,5	0,88	0,72
		2021	0,0	3,0	3,0	1,03	0,73

Tabla 3.1 (Continuación). Resumen de los valores descriptivos para los caracteres fenológicos evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). Las fechas de floración y maduración están expresados en días julianos (DJ), el periodo de desarrollo del fruto en días (D).

Caracteres	Población	Año	Mínimo	Máximo	Rango	Media	DE
Fecha de maduración (DJ)							
	BS×PIO	2019	135	207	72	167,38	16,51
		2020	139	207	68	167,49	15,92
		2021	139	186	47	160,93	11,93
	RB×BS	2019	140	189	49	159,36	11,20
		2020	139	189	50	155,01	11,92
		2021	137	194	57	156,28	11,08
	RB×SRP	2019	145	196	51	167,62	13,15
		2020	139	195	56	161,54	14,08
		2021	140	197	57	163,67	15,37
Periodo de desarrollo del fruto (D)							
	BS×PIO	2019	93	156	63	117,95	15,07
		2020	90	153	63	115,20	15,50
		2021	96	154	58	119,43	15,11
	RB×BS	2019	85	133	48	104,79	11,32
		2020	85	134	49	103,12	11,51
		2021	87	141	54	108,96	11,79
	RB×SRP	2019	84	134	50	106,94	11,50
		2020	80	135	55	103,57	12,54
		2021	84	142	58	110,63	13,15
Productividad (0-5)							
	BS×PIO	2019	0,0	5,0	5,0	2,13	1,46
		2020	0,0	5,0	5,0	2,18	1,48
		2021	0,0	4,5	4,5	2,02	1,40
	RB×BS	2019	0,0	4,5	4,5	1,30	1,29
		2020	0,0	4,5	4,5	1,24	1,25
		2021	0,0	4,0	4,0	1,23	1,18
	RB×SRP	2019	0,0	4,0	4,0	0,83	1,13
		2020	0,0	5,0	5,0	0,89	1,19
		2021	0,0	4,0	4,0	0,76	0,98

Tabla 3.2. Resumen de los valores descriptivos para los caracteres físicos del fruto evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). El peso está expresado en gramos (g), el diámetro en milímetros (mm), la adhesión del hueso a la pulpa y la presencia de hueso roto en porcentaje (%), el color de piel y pulpa mediante el ángulo Hue (H°) y la firmeza en Newton (N).

Caracteres	Población	Año	Mínimo	Máximo	Rango	Media	DE
Peso (g)	BS×PIO	2019	23,28	163,74	140,46	77,84	24,63
		2020	21,98	142,55	120,57	71,79	23,37
		2021	19,19	173,85	154,66	72,09	27,64
	RB×BS	2019	19,98	123,00	103,02	64,65	22,20
		2020	19,56	110,45	90,89	58,06	18,13
		2021	21,48	126,07	104,59	62,82	21,28
	RB×SRP	2019	22,06	110,98	88,92	51,65	17,29
		2020	25,56	100,60	75,04	50,85	17,14
		2021	21,51	106,71	85,20	52,91	18,96
Diámetro ecuatorial (mm)	BS×PIO	2019	36,14	61,97	25,83	51,70	5,42
		2020	36,95	60,65	23,70	50,11	4,96
		2021	35,92	63,47	27,55	50,70	6,43
	RB×BS	2019	35,45	61,07	25,62	48,12	5,24
		2020	36,29	57,45	21,16	47,54	5,08
		2021	34,59	59,96	25,37	47,98	5,58
	RB×SRP	2019	33,78	58,63	24,85	44,37	5,01
		2020	35,14	54,80	19,66	43,94	4,67
		2021	32,95	58,82	25,87	44,63	5,60
Adhesión hueso a la pulpa (%)	BS×PIO	2019	0	100	100	22,15	29,63
		2020	0	100	100	20,91	26,06
		2021	0	100	100	22,87	31,11
	RB×BS	2019	0	100	100	39,54	36,86
		2020	0	100	100	41,29	34,99
		2021	0	100	100	43,69	36,74
	RB×SRP	2019	0	100	100	55,64	35,62
		2020	0	100	100	54,81	34,01
		2021	0	100	100	59,05	35,24
Hueso roto (%)	BS×PIO	2019	0	100	100	34,49	31,62
		2020	0	100	100	27,60	29,24
		2021	0	100	100	16,44	27,86
	RB×BS	2019	0	100	100	16,22	23,07
		2020	0	100	100	14,72	21,50
		2021	0	92	92	10,99	19,03
	RB×SRP	2019	0	100	100	15,27	23,13
		2020	0	100	100	14,76	25,24
		2021	0	100	100	11,87	26,04
Color de piel (H°)	BS×PIO	2019	6,70	60,97	54,27	23,61	11,18
		2020	6,29	61,50	55,21	21,14	9,96
		2021	4,07	50,57	46,50	22,57	9,59
	RB×BS	2019	5,29	100,81	95,52	22,38	16,64
		2020	5,55	107,74	102,19	21,47	16,06
		2021	6,77	106,83	100,06	22,43	15,37
	RB×SRP	2019	7,42	106,64	99,22	40,15	34,15
		2020	8,43	109,81	101,38	37,69	32,45
		2021	6,41	108,29	101,88	38,58	32,58

Tabla 3.2 (Continuación). Resumen de los valores descriptivos para los caracteres físicos del fruto evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). El peso está expresado en gramos (g), el diámetro en milímetros (mm), la adhesión del hueso a la pulpa y la presencia de hueso roto en porcentaje (%), el color de piel y pulpa mediante el ángulo Hue (H°) y la firmeza en Newton (N).

Caracteres	Población	Año	Mínimo	Máximo	Rango	Media	DE
Color de pulpa (H°)							
	BS×PIO	2019	22,96	106,45	83,49	62,02	31,33
		2020	22,84	105,85	83,01	61,21	32,48
		2021	22,02	105,69	83,67	60,52	32,46
	RB×BS	2019	24,86	106,05	81,19	72,37	28,80
		2020	21,09	102,90	81,81	71,84	29,49
		2021	17,89	100,44	82,55	71,28	30,59
	RB×SRP	2019	44,18	102,55	58,37	90,86	11,51
		2020	42,89	102,61	59,72	91,43	10,63
		2021	39,59	104,62	65,03	91,28	13,07
Firmeza (N)							
	BS×PIO	2019	13,96	67,55	53,59	36,36	10,50
		2020	19,25	67,14	47,89	41,69	10,49
		2021	19,99	82,03	62,04	35,62	9,17
	RB×BS	2019	14,67	76,14	61,47	34,14	12,67
		2020	15,96	60,99	45,03	34,38	11,62
		2021	18,38	62,12	43,74	34,40	10,91
	RB×SRP	2019	10,38	61,11	50,73	29,50	11,46
		2020	7,91	65,09	57,18	30,31	12,45
		2021	9,14	54,48	45,34	29,62	10,35

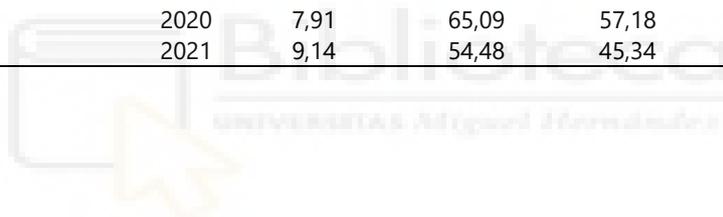


Tabla 3.3. Resumen de los valores descriptivos para los caracteres organolépticos del fruto evaluados en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante 2019, 2020 y 2021. Se representan los valores mínimos, máximos, el rango, la media aritmética y la desviación estándar (DE). El contenido en sólidos solubles está expresado en °Brix, el pH es adimensional y la acidez está expresada como g. ácido málico/100 ml.

Caracteres	Población	Año	Mínimo	Máximo	Rango	Media	DE
Contenido en sólidos solubles (°Brix)							
	BS×PIO	2019	6,70	21,60	14,90	14,94	2,55
		2020	7,70	23,50	15,80	14,14	2,46
		2021	7,70	21,40	13,70	13,97	2,54
	RB×BS	2019	5,70	21,60	15,90	13,35	2,30
		2020	7,90	18,70	10,80	13,21	1,83
		2021	7,00	20,50	13,50	12,31	2,01
	RB×SRP	2019	7,90	22,40	14,50	14,79	2,77
		2020	7,00	22,00	15,00	14,28	2,82
		2021	6,20	23,50	17,30	14,15	2,71
pH							
	BS×PIO	2019	2,88	3,51	0,63	3,19	0,12
		2020	3,09	3,56	0,47	3,26	0,09
		2021	3,05	3,59	0,54	3,23	0,11
	RB×BS	2019	3,09	3,46	0,37	3,26	0,08
		2020	3,13	3,46	0,33	3,26	0,08
		2021	3,10	3,53	0,43	3,25	0,09
	RB×SRP	2019	3,10	3,64	0,54	3,30	0,12
		2020	3,11	3,51	0,40	3,30	0,11
		2021	3,14	3,54	0,40	3,29	0,12
Acidez (g ac. málico/100 ml)							
	BS×PIO	2019	1,29	2,52	1,23	1,84	0,30
		2020	1,01	2,91	1,90	1,87	0,36
		2021	0,82	2,71	1,89	1,80	0,36
	RB×BS	2019	1,34	2,49	1,14	1,67	0,27
		2020	1,01	2,64	1,63	1,66	0,32
		2021	1,00	2,30	1,30	1,56	0,31
	RB×SRP	2019	1,20	2,40	1,20	1,67	0,29
		2020	1,01	2,64	1,63	1,61	0,37
		2021	1,00	2,30	1,30	1,54	0,27

Para determinar si los caracteres se ajustaban a una distribución normal se evaluó la normalidad de estos mediante la aplicación del test de Kolmogorov-Smirnov, empleando la corrección de Lilliefors. Los resultados obtenidos muestran que todos los caracteres fenológicos presentan una distribución no paramétrica en las tres familias (Tabla 3.4), así como en la mayoría de los caracteres físicos que componen la calidad del fruto, a excepción de los caracteres de peso del fruto y diámetros ecuatorial, sutural y polar (Tabla 3.5). En el caso del peso y diámetros del fruto, y de los caracteres organolépticos (contenido en sólidos solubles, pH y acidez) los resultados fenotípicos muestran una distribución normal en las tres poblaciones durante los tres años de estudio (Tabla 3.5 y Tabla 3.6).

Es relevante destacar que estos resultados coinciden con estudios previos realizados en ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2017, 2020), donde los caracteres fenológicos evaluados (fecha de floración, fecha de cosecha, periodo de desarrollo del fruto) no mostraron una distribución normal, y algunos de los caracteres de calidad del fruto evaluados (peso, diámetro ecuatorial,

sutural y polar, forma, color visual de piel y pulpa, firmeza, contenido en sólidos solubles y acidez) no cumplieron con los criterios de normalidad excepto el peso, los diámetros, la acidez y el contenido en sólidos solubles, lo cual está en consonancia con los resultados del presente trabajo.

Tabla 3.4. Prueba de normalidad de los caracteres fenológicos inicio de floración (F5), plena floración (F50), final de floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF) y productividad (P) para las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante los tres años de estudio. Estadístico: valor estadístico de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov; gl: grados de libertad; Sig.: significancia.

Carácter	Año	BS×PIO			RB×BS			RB×SRP		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
F5	2019	0,137	732	0,000	0,124	888	0,000	0,132	756	0,000
	2020	0,120	732	0,000	0,170	900	0,000	0,108	768	0,000
	2021	0,167	744	0,000	0,164	864	0,000	0,144	768	0,000
F50	2019	0,072	1128	0,000	0,121	816	0,000	0,115	864	0,000
	2020	0,081	1140	0,000	0,178	852	0,000	0,123	888	0,000
	2021	0,094	1056	0,000	0,134	804	0,000	0,123	852	0,000
F90	2019	0,112	1008	0,000	0,167	816	0,000	0,110	840	0,000
	2020	0,098	1188	0,000	0,145	840	0,000	0,163	852	0,000
	2021	0,070	1104	0,000	0,190	792	0,000	0,127	816	0,000
IF	2019	0,186	1368	0,000	0,179	1128	0,000	0,256	1104	0,000
	2020	0,154	1404	0,000	0,167	1104	0,000	0,298	1128	0,000
	2021	0,206	1296	0,000	0,216	1104	0,000	0,226	1128	0,000
FM	2019	0,121	1332	0,000	0,084	912	0,000	0,092	563	0,000
	2020	0,094	1344	0,000	0,131	912	0,000	0,071	648	0,000
	2021	0,123	840	0,000	0,110	924	0,000	0,127	648	0,000
PDF	2019	0,114	1152	0,000	0,074	912	0,000	0,081	587	0,000
	2020	0,118	1176	0,000	0,109	912	0,000	0,057	648	0,000
	2021	0,155	1104	0,000	0,077	888	0,000	0,101	648	0,000
P	2019	0,156	1200	0,000	0,174	1176	0,000	0,295	1164	0,000
	2020	0,136	1188	0,000	0,213	1152	0,000	0,275	1188	0,000
	2021	0,144	1164	0,000	0,229	1188	0,000	0,331	1188	0,000

Tabla 3.5. Prueba de normalidad de los caracteres físicos de calidad del fruto: peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (DIAM.EC), forma, color visual (CV) de fondo, piel y pulpa, parámetro H de color de piel (PIEL_H) y pulpa (PULPA_H), presencia de lenticelas, incidencia de hueso roto, profundidad de la sutura (PROF.SUTURA), adhesión del hueso a la pulpa y firmeza) para las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante los tres años de estudio. Estadístico: valor estadístico de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov; gl: grados de libertad; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican que satisfacen el criterio de normalidad.

Carácter	Año	BS×PIO			RB×BS			RB×SRP		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
PF	2019	0,083	1066	0,108	0,049	762	0,200	0,084	481	0,200
	2020	0,073	1122	0,200	0,067	749	0,200	0,119	626	0,086
	2021	0,077	992	0,200	0,075	762	0,200	0,092	567	0,200
DIAM. EC	2019	0,066	1087	0,200	0,049	793	0,200	0,058	482	0,200
	2020	0,060	1196	0,200	0,070	773	0,200	0,093	622	0,200
	2021	0,068	1054	0,200	0,053	769	0,200	0,078	567	0,200
FORMA	2019	0,403	1224	0,000	0,326	899	0,000	0,384	540	0,000
	2020	0,408	1260	0,000	0,330	892	0,000	0,394	696	0,000
	2021	0,402	1184	0,000	0,363	895	0,000	0,388	740	0,000
CV. FONDO	2019	0,256	1222	0,000	0,349	900	0,000	0,243	540	0,000
	2020	0,248	1253	0,000	0,361	892	0,000	0,256	696	0,000
	2021	0,287	1191	0,000	0,386	895	0,000	0,339	740	0,000
CV. PIEL	2019	0,269	1222	0,000	0,188	900	0,000	0,217	540	0,000
	2020	0,257	1253	0,000	0,184	892	0,000	0,221	696	0,000
	2021	0,228	1190	0,000	0,264	895	0,000	0,229	740	0,000
CV. PULPA	2019	0,301	1222	0,000	0,364	900	0,000	0,501	540	0,000
	2020	0,300	1253	0,000	0,348	892	0,000	0,482	696	0,000
	2021	0,291	1190	0,000	0,195	895	0,000	0,358	740	0,000
PIEL_H	2019	0,067	1080	0,000	0,177	732	0,000	0,259	446	0,000
	2020	0,052	1179	0,000	0,219	741	0,000	0,268	620	0,000
	2021	0,056	1074	0,000	0,179	781	0,000	0,252	556	0,000
PULPA_H	2019	0,246	1137	0,000	0,250	802	0,000	0,223	490	0,000
	2020	0,240	1198	0,000	0,241	764	0,000	0,205	621	0,000
	2021	0,262	1065	0,000	0,288	795	0,000	0,169	508	0,000
LENTICELAS	2019	0,197	1222	0,000	0,263	900	0,000	0,206	540	0,000
	2020	0,200	1252	0,000	0,248	892	0,000	0,283	696	0,000
	2021	0,220	1190	0,000	0,226	895	0,000	0,244	718	0,000
HUESO ROTO	2019	0,138	1008	0,000	0,208	900	0,000	0,228	540	0,000
	2020	0,173	1152	0,000	0,236	892	0,000	0,289	696	0,000
	2021	0,329	1090	0,000	0,343	895	0,000	0,392	718	0,000
PROF. SUTURA	2019	0,262	1095	0,000	0,210	817	0,000	0,432	531	0,000
	2020	0,262	1218	0,000	0,252	863	0,000	0,457	695	0,000
	2021	0,266	1154	0,000	0,309	841	0,000	0,458	642	0,000
ADHESIÓN	2019	0,538	925	0,000	0,497	817	0,000	0,489	531	0,000
	2020	0,538	1056	0,000	0,531	863	0,000	0,523	695	0,000
	2021	0,539	1007	0,000	0,504	841	0,000	0,457	642	0,000
FIRMEZA	2019	0,064	1122	0,000	0,056	747	0,000	0,051	467	0,006
	2020	0,053	1175	0,000	0,067	720	0,000	0,061	582	0,000
	2021	0,057	1065	0,000	0,081	744	0,000	0,059	532	0,000

Tabla 3.6. Prueba de normalidad de los caracteres organolépticos de calidad del fruto contenido en sólidos solubles (CSS), pH y acidez para las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) durante los tres años de estudio. Estadístico: valor estadístico de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov; gl: grados de libertad; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican que satisfacen el criterio de normalidad.

Carácter	Año	BS×PIO			RB×BS			RB×SRP		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
CSS	2019	0,058	305	0,200	0,068	228	0,200	0,044	138	0,156
	2020	0,084	302	0,073	0,091	216	0,200	0,098	174	0,200
	2021	0,083	279	0,105	0,077	229	0,200	0,099	184	0,200
pH	2019	0,067	305	0,200	0,099	228	0,170	0,061	138	0,200
	2020	0,087	302	0,071	0,087	216	0,070	0,066	174	0,200
	2021	0,089	279	0,061	0,098	229	0,184	0,063	184	0,200
ACIDEZ	2019	0,086	306	0,200	0,087	228	0,200	0,077	138	0,200
	2020	0,053	306	0,200	0,092	216	0,200	0,070	174	0,200
	2021	0,057	276	0,200	0,073	222	0,200	0,075	177	0,200

Por otra parte, se procedió a examinar la existencia o no de diferencias significativas entre los tres años de estudio en cada una de las poblaciones, en todos los caracteres considerados. Además, se realizaron comparaciones múltiples año a año en los caracteres que mostraron diferencias significativas entre años.

El análisis multivariante de la varianza (ANOVA) de los caracteres que siguen una distribución normal (peso, diámetro, contenido en sólidos solubles, pH y acidez) revela que no existen diferencias significativas entre años, con la única excepción del contenido en sólidos solubles y el pH en la población 'BS×PIO', que sí que presentan diferencias significativas interanuales (Tabla 3.7). En este caso, el contenido en sólidos solubles muestra diferencias significativas únicamente entre los años 2019 y 2021 (Tabla 3.8) presentando valores medios de 14,94 °Brix en 2019 superiores a los obtenidos en 2021 de 13,97 °Brix (Tabla 3.3). Por otro lado, el pH muestra diferencias significativas entre 2019 y 2020 (Tabla 3.8), presentando unos valores de pH más altos en 2020 (3,26) en comparación con 2019 (3,19) (Tabla 3.3). En ninguno de estos dos caracteres se presentan diferencias significativas entre los años 2020 y 2021 (Tabla 3.8).

La no existencia de diferencias significativas interanuales revela la estabilidad de estos caracteres a lo largo de los años, lo que sugiere que la componente genética influye mucho más que la ambiental en la expresión de estos caracteres de calidad del fruto. Solo en el caso del contenido de azúcares y acidez, los resultados han mostrado en una de las poblaciones el efecto interanual motivado por las diferentes condiciones ambientales. En relación con los resultados obtenidos en estudios previos en ciruelo japonés, destacamos que Salazar *et al.* (2017; 2020) sí que encontraron diferencias significativas entre años en el peso del fruto en la población '98-99' × 'Angeleno' evaluada, lo cual contrasta con nuestros resultados. Por otro lado, el pH y el contenido en sólidos solubles muestran un comportamiento parecido al observado en este estudio, evidenciando diferencias significativas entre años. Estas diferencias

también han sido encontradas en otros frutales de hueso tales como albaricoquero (Ruiz *et al.*, 2012; Salazar *et al.*, 2013; Dondini *et al.*, 2022), melocotonero (Cantín *et al.*, 2010; Zeballos *et al.*, 2016) y cerezo (Calle & Wünsch, 2020).

Tabla 3.7. Análisis de la varianza multivariante (ANOVA) para el factor año en los caracteres evaluados con distribución normal en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). SC: Suma de cuadrados tipo III; gl: grados de libertad; MC: media cuadrática; F: valor estadístico F multivariante; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas.

Población	Carácter	SC	gl	MC	F	Sig.
BS×PIO	Peso del fruto	2012,915	2	1006,458	1,887	0,154
	Diámetro ecuatorial	137,728	2	68,864	2,172	0,116
	Diámetro polar	96,156	2	48,078	1,478	0,230
	Diámetro sutural	136,821	2	68,410	2,215	0,111
	Sólidos solubles	39,839	2	19,920	4,325	0,014
	pH	0,141	2	0,071	6,499	0,002
	Acidez	0,369	2	0,185	1,824	0,163
RB×BS	Peso del fruto	143,012	2	71,506	0,219	0,804
	Diámetro ecuatorial	5,477	2	2,739	0,099	0,906
	Diámetro polar	6,827	2	3,413	0,112	0,894
	Diámetro sutural	0,197	2	0,098	0,004	0,996
	Sólidos solubles	1,034	2	0,517	0,144	0,867
	pH	0,002	2	0,001	0,175	0,840
	Acidez	0,013	2	0,006	0,100	0,905
RB×SRP	Peso del fruto	45,827	2	22,913	0,065	0,937
	Diámetro ecuatorial	2,694	2	1,347	0,049	0,952
	Diámetro polar	2,556	2	1,278	0,041	0,960
	Diámetro sutural	7,044	2	3,522	0,111	0,895
	Sólidos solubles	2,458	2	1,229	0,203	0,818
	pH	0,001	2	0,000	0,014	0,986
	Acidez	0,003	2	0,001	0,014	0,986

Tabla 3.8. Prueba de comparaciones múltiples empleando el método de Tukey para identificar diferencias significativas entre años en el contenido en sólidos solubles (CSS) y pH de la población 'Black Splendor' × 'Pioneer'. Sig.: significancia; L.I.: límite inferior del intervalo; L.S.: límite superior del intervalo. El asterisco (*) indica que la diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05. Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas.

Carácter	Año	Diferencia de medias	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					L.I.	L.S.
CSS	2019 vs 2020	0,686	0,323	0,087	-0,075	1,447
	2019 vs 2021	0,936*	0,331	0,014	0,155	1,717
	2020 vs 2021	0,250	0,327	0,725	-0,520	1,020
pH	2019 vs 2020	-0,056*	0,016	0,001	-0,093	-0,019
	2019 vs 2021	-0,026	0,016	0,239	-0,064	0,012
	2020 vs 2021	0,030	0,016	0,137	-0,007	0,068

Para todos aquellos caracteres que presentaron una distribución no paramétrica, se aplicó el análisis Kruskal-Wallis para analizar la existencia de diferencias interanuales (Tabla 3.9). Podemos destacar que los caracteres fenológicos han sido los que han mostrado mayores

diferencias significativas entre años en las tres familias, a excepción de la intensidad de floración y la productividad, que no muestran diferencias significativas en ninguna de las poblaciones (Tabla 3.9). Las fechas de floración muestran diferencias significativas entre años en las tres poblaciones, excepto el inicio de la floración en la población 'BS×PIO' (Tabla 3.9). De acuerdo con el análisis de comparaciones múltiples para el efecto año (Tabla 3.10), para los caracteres de fecha de floración se encontraron diferencias significativas, excepto en la comparación entre los años 2019 y 2021 para plena floración y final de floración en la población 'BS×PIO'.

Esta variabilidad interanual en los caracteres fenológicos está influenciada por las diferentes condiciones climáticas que se dan cada año, especialmente en lo relativo a la temperatura, que determina la acumulación de frío invernal. Las diferencias de acumulación de frío entre años, así como las diferentes dinámicas de acumulación interanuales, tienen como consecuencia estas diferencias entre años en lo referente a la fenología, tal y como indican otros autores (Sánchez-Pérez *et al.*, 2007b; Mounzer *et al.*, 2008; Ruiz & Egea, 2008; Minas *et al.*, 2018).

Tabla 3.9. Análisis Kruskal-Wallis para muestras independientes para el factor año en los caracteres evaluados que muestran una distribución no paramétrica en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas en la distribución de los caracteres.

Carácter	Significancia		
	BS×PIO	RB×BS	RB×SRP
Inicio de floración	0,158	0,000	0,000
Plena floración	0,036	0,000	0,000
Final de floración	0,005	0,000	0,000
Intensidad de floración	0,102	0,654	0,254
Fecha de maduración	0,018	0,028	0,099
Periodo de desarrollo del fruto	0,137	0,008	0,031
Productividad	0,716	0,974	0,663
Forma del fruto	0,984	1,000	1,000
Color visual de fondo	0,722	1,000	0,992
Color visual de piel	0,440	1,000	1,000
Color visual de pulpa	0,942	0,871	1,000
Lenticelas	0,466	1,000	1,000
Hueso roto	0,000	0,147	0,100
Profundidad de sutura	0,964	0,989	1,000
Adhesión hueso pulpa	0,836	0,667	0,698
Firmeza	0,000	0,948	0,961
Color de piel (L)	0,582	0,360	0,939
Color de piel (C)	0,329	0,948	0,982
Color de piel (H)	0,275	0,735	0,836
Color de pulpa (L)	0,842	0,981	0,913
Color de pulpa (C)	0,607	0,431	0,973
Color de pulpa (H)	0,781	0,948	0,766

Por otro lado, la distribución de la fecha de maduración y el periodo de desarrollo del fruto también presenta diferencias significativas entre años en dos de las tres poblaciones evaluadas (Tabla 3.9). La fecha de maduración presenta diferencias significativas interanuales

en la población 'BS×PIO', excepto entre los años 2019-2020, y en 'RB×BS' únicamente muestra diferencias significativas entre 2019-2020, mientras que el periodo de desarrollo del fruto únicamente muestra diferencias significativas en su distribución entre los años 2020-2021 en 'RB×BS' y 'RB×SRP' (Tabla 3.10). Así pues, los resultados revelan que el carácter 'periodo de desarrollo del fruto' es más estable entre años que las fechas de floración y maduración. Este comportamiento podría explicarse por el hecho de que el periodo de desarrollo del fruto depende en gran medida del cultivar o genotipo, tal y como han indicado otros autores (Jackson & Sherman, 1980; Muñoz *et al.*, 1986; Cunha Junior *et al.*, 2007; Cheng, 2008; Mounzer *et al.*, 2008). A pesar de que las condiciones climáticas, fundamentalmente la temperatura, ejercen una influencia directa sobre las fechas de floración y de cosecha, las cuales determinan el periodo de desarrollo del fruto, este carácter muestra una importante componente genética.

Por último, en la población 'BS×PIO' también se encontraron diferencias significativas entre años para el porcentaje de hueso roto y la firmeza del fruto (Tabla 3.9). Respecto al carácter 'hueso roto' se encontraron diferencias significativas en los años comparados con 2021 (Tabla 3.10), ya que en este año 2021 el porcentaje de hueso roto fue del 16,44% en comparación con el 34,49% y 27,60% en 2019 y 2020, respectivamente (Tabla 3.2). En cuanto a la firmeza del fruto, se muestran diferencias significativas entre los años comparados con 2020 (Tabla 3.10), ya que en este año la media de la firmeza en la población fue significativamente superior (41,69 N) a 2019 (36,36 N) y 2021 (35,62 N) (Tabla 3.2).

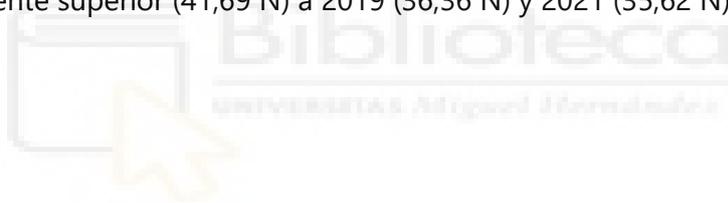


Tabla 3.10. Prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples del factor año en los caracteres y poblaciones con diferencias significativas entre años, en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). EC: Estadístico de contraste del análisis; DES. EC: Desviación del estadístico de contraste; Sig.: significancia. Los valores resaltados en negrita indican que hay diferencias significativas en esa comparación.

Carácter	Población	Año	E.C.	Error	DES. E.C.	Sig.	
Inicio de floración	RB×BS	2021-2020	57,249	10,526	5,438	0,000	
		2021-2019	90,493	10,563	8,567	0,000	
		2020-2019	33,244	10,455	3,180	0,004	
	RB×SRP	2021-2020	53,805	9,753	5,517	0,000	
		2021-2019	88,852	9,792	9,074	0,000	
		2020-2019	35,047	9,792	3,579	0,001	
	Plena floración	BS×PIO	2019-2021	2,050	11,858	0,173	0,863
			2019-2020	27,091	11,828	2,290	0,022
			2021-2020	-25,042	11,596	-2,160	0,031
RB×BS		2021-2020	48,141	10,130	4,752	0,000	
		2021-2019	90,241	10,238	8,814	0,000	
		2020-2019	42,100	10,092	4,172	0,000	
RB×SRP		2021-2020	61,872	10,410	5,943	0,000	
		2021-2019	105,739	10,481	10,089	0,000	
		2020-2019	43,866	10,373	4,229	0,000	
Final de floración	BS×PIO	2019-2021	-7,610	11,961	-0,636	0,525	
		2019-2020	-35,545	11,695	-3,039	0,002	
		2021-2020	27,935	11,482	2,433	0,015	
	RB×BS	2021-2020	46,693	10,113	4,617	0,000	
		2021-2019	92,657	10,186	9,097	0,000	
		2020-2019	45,964	10,075	4,562	0,000	
	RB×SRP	2021-2020	50,295	10,239	4,912	0,000	
		2021-2019	97,702	10,274	9,509	0,000	
		2020-2019	47,407	10,164	4,664	0,000	
Fecha de maduración	BS×PIO	2019-2021	31,912	12,951	2,464	0,041	
		2021-2020	33,825	12,929	2,616	0,027	
	RB×BS	2019-2020	-1,913	11,264	-0,170	1,000	
		2020-2021	-8,861	10,718	-0,827	1,000	
		2020-2019	28,217	10,787	2,616	0,027	
		2021-2019	19,356	10,718	1,806	0,213	
Periodo de desarrollo del fruto	RB×BS	2020-2019	11,000	10,648	1,033	0,905	
		2020-2021	-32,740	10,683	-3,065	0,007	
		2019-2021	-21,740	10,683	-2,035	0,126	
	RB×SRP	2020-2019	13,253	8,966	1,478	0,418	
		2020-2021	-22,917	8,746	-2,620	0,026	
		2019-2021	-9,663	8,966	-1,078	0,843	
Hueso roto	BS×PIO	2021-2020	36,818	11,059	3,329	0,030	
		2021-2019	52,644	11,433	4,605	0,000	
		2020-2019	15,826	11,228	1,409	0,476	
Firmeza	BS×PIO	2021-2019	5,620	12,243	0,459	1,000	
		2021-2020	51,192	12,184	4,202	0,000	
		2019-2020	-45,571	12,023	-3,790	0,000	

3.4.2. Transmisión de caracteres fenológicos y de calidad del fruto

La amplia caracterización fenotípica llevada a cabo en las tres poblaciones durante los tres años de estudio ha proporcionado información de gran valor, que contribuirá a comprender el modo de transmisión de los caracteres fenológicos y de calidad del fruto evaluados. Para los caracteres que se presentan como variables numéricas continuas, se han generado histogramas de frecuencias correspondientes a cada población y año. Por otro lado, en el caso de los rasgos que adoptan la forma de variables categóricas, se han empleado diagramas de barras con frecuencias para representar su distribución en cada población y año. En todas las gráficas, se ha incorporado el valor promedio de los progenitores correspondientes a cada familia en cada año objeto de estudio.

3.4.2.1. Caracteres fenológicos

La evaluación de los caracteres fenológicos en las progenies de las tres poblaciones estudiadas durante los tres años de estudio revela una variabilidad y segregación sustanciales, donde una proporción considerable de los individuos de cada población presenta valores transgresivos a los parentales, tanto superiores como inferiores a los de sus progenitores (Figuras 3.11, 3.12 y 3.13). Este patrón de distribución de las poblaciones revela la influencia de la ascendencia genética de los parentales, que resulta en fenotipos transgresivos en la descendencia. Resultados similares han sido obtenidos en trabajos previos en especies del género *Prunus* como el albaricoquero, ciruelo japonés y cerezo (Salazar *et al.*, 2016; Calle *et al.*, 2020; Salazar *et al.*, 2020; Altan *et al.*, 2022).

La población 'BS×PIO' mostró las fechas de floración más tempranas, con un número significativo de descendientes floreciendo antes que sus progenitores 'BS' y 'PIO' (Figura 3.11). Dependiendo del año, algunos genotipos iniciaron su floración entre el 20 de enero y el 5 de febrero (20 a 36 días julianos) (Figura 3.11). En contraste, las otras dos poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' presentaron un inicio de floración a mediados de febrero (41 a 47 días julianos), y la mayoría de los individuos de ambas poblaciones presentaron una floración retrasada en comparación con sus progenitores (Figuras 3.12 y 3.13). Es destacable que la población 'RB×SRP' exhibió el periodo de floración más tardío entre las poblaciones objeto de estudio, presentando la mayoría de sus genotipos plena floración a partir del 25 de febrero (55 días julianos) hasta la primera o segunda semana de marzo según el año (Figura 3.13).

La segregación de las tres poblaciones evaluadas muestra fechas de inicio de maduración similares, a partir del 15 al 25 de mayo (135 a 145 días julianos) dependiendo del año (Figuras 3.11, 3.12 y 3.13). La población 'BS×PIO' es la que presenta el rango de fechas maduración más amplio en comparación con las otras dos de las poblaciones, con una duración de 72 y 68 días en 2019 y 2020, respectivamente, mientras que en el 2021 se da un agrupamiento en la maduración, adelantando considerablemente la fecha de maduración a nivel general en la población con respecto a los años anteriores, observándose un rango de tan solo 47 días (Figura 3.11 y Tabla 3.4).

En cuanto al periodo de desarrollo del fruto, la población 'BS×PIO' es la que muestra a nivel general una mayor duración en el periodo de desarrollo del fruto, motivada por la floración más temprana de esta progenie en comparación con el resto de poblaciones. Esta población presenta genotipos que tienen un periodo de desarrollo del fruto de hasta 156 días, aproximadamente cinco meses, mientras que en las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' el periodo más largo de desarrollo del fruto de sus genotipos es aproximadamente 15 días menor (Figuras 3.11, 3.12 y 3.13).

En términos de intensidad de floración y productividad (Figuras 3.11, 3.12 y 3.13), la mayoría de los individuos de las tres poblaciones mostraron valores inferiores a los de sus parentales, lo que indica la presencia de debilidad híbrida para estos caracteres, ya que los parentales de todas las poblaciones tienen una alta intensidad de floración y productividad. No obstante, la población 'BS×PIO' presentó una mayor intensidad de floración y productividad en comparación con las demás poblaciones, siendo 'RB×SRP' la que menores valores obtuvo a nivel general.

La amplia variabilidad y segregación en la descendencia de las tres poblaciones estudiadas, así como la presencia de fenotipos transgresivos en comparación con los progenitores en todos los caracteres fenológicos estudiados, puede atribuirse a la influencia del fondo genético de los parentales, especialmente considerando que en el caso de la especie ciruelo japonés es especialmente acusado el efecto de las hibridaciones derivadas de su domesticación y la mejora genética de esta especie (Okie, 2006, 2008; Topp *et al.*, 2012; Karp, 2015). Además, la naturaleza autoincompatible de la especie contribuye a generar una mayor variabilidad y heterocigosis en la misma en comparación con otras especies del género *Prunus*, como se ha reportado en varios estudios (Byrne, 1990; Carrasco *et al.*, 2012, 2013; Guerrero *et al.*, 2021).

La influencia del fondo genético también podría explicar la heterosis negativa observada en rasgos como la intensidad de floración y la productividad, donde la mayoría de las descendencias muestran valores más bajos que sus progenitores. Theiler-Hedtrich (1994), también observó que la producción de la descendencia de numerosas poblaciones de cerezo era significativamente inferior a la de los parentales, concluyendo que podía deberse a un carácter recesivo. De manera similar, Sánchez-Pérez *et al.* (2007b) observaron que tanto la producción como la intensidad de floración de la descendencia de poblaciones de almendro era significativamente inferior en comparación con la de los progenitores.

El análisis de componentes principales (PCA) de los caracteres fenológicos tras una transformación logarítmica de los datos (Figura 3.14), nos permite realizar una comparación más visual de las relaciones entre las poblaciones y de las correlaciones entre los caracteres del conjunto de las poblaciones de ciruelo estudiadas. Las diferencias fenológicas entre las poblaciones evaluadas se evidencian claramente en el PCA. En particular, se observa que la población 'BS×PIO' es la más temprana en términos de floración y muestra una intensidad de floración y productividad superiores en comparación con las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP'.

En contraste, la población 'RB×SRP' es la más tardía, registrando las fechas de floración más elevadas y presentando la menor productividad e intensidad de floración. La población 'RB×BS' exhibe un comportamiento general intermedio en cuanto a floración, intensidad y productividad, con la excepción de la fecha de maduración, la que ocurre de una manera más temprana en comparación con las otras dos poblaciones.

Los dos primeros componentes principales, PC1 y PC2, explican el 37,8% y el 22,4% de la varianza total presente en los datos, respectivamente. El gráfico de escalamiento del análisis de PCA (Figura 3.14) indica que los cuatro primeros componentes principales explican más del 80% de la varianza observada en los datos. Los caracteres de inicio de la floración, plena floración y final de floración se posicionan como los principales contribuyentes para PC1, mientras que la fecha de cosecha y el periodo de desarrollo del fruto asume un papel más destacado en el PC2. Mientras que PC3 está influenciado principalmente por la intensidad de floración y la productividad. Estos resultados muestran la gran influencia en la variación observada en las características fenológicas de las poblaciones y son claves para comprender por qué las poblaciones tienen diferencias en su comportamiento fenológico.



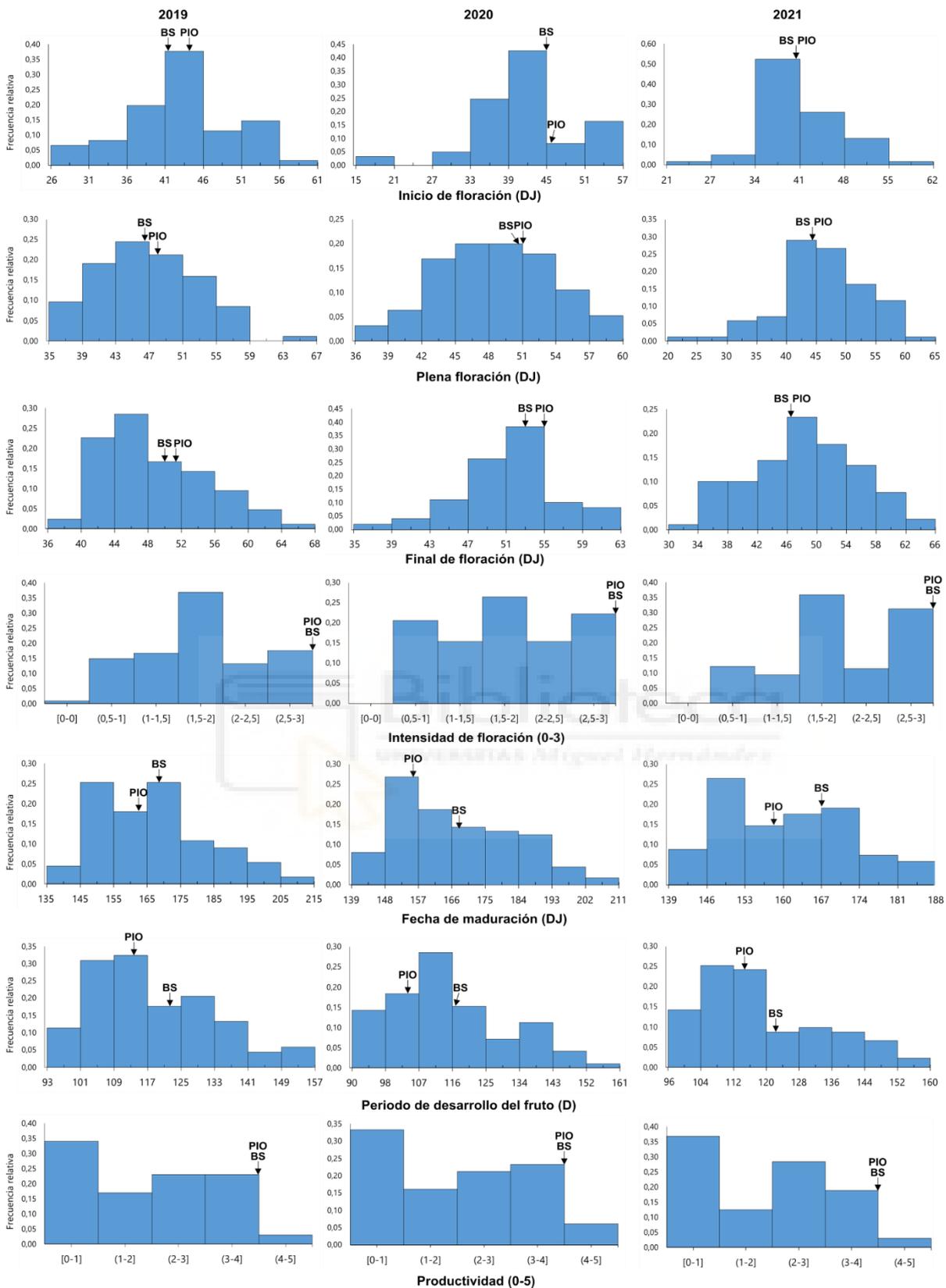


Figura 3.11. Distribución de frecuencias de la población 'Black Splendor' × 'Pioneer' evaluada con relación a los distintos caracteres fenológicos, que abarcan el inicio de la floración, plena floración, final de la floración y fecha de maduración, todos expresados en días julianos (DJ), así como el periodo de desarrollo del fruto en días (D), intensidad de floración (0-3) y productividad (0-5) en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor' y PIO 'Pioneer'.

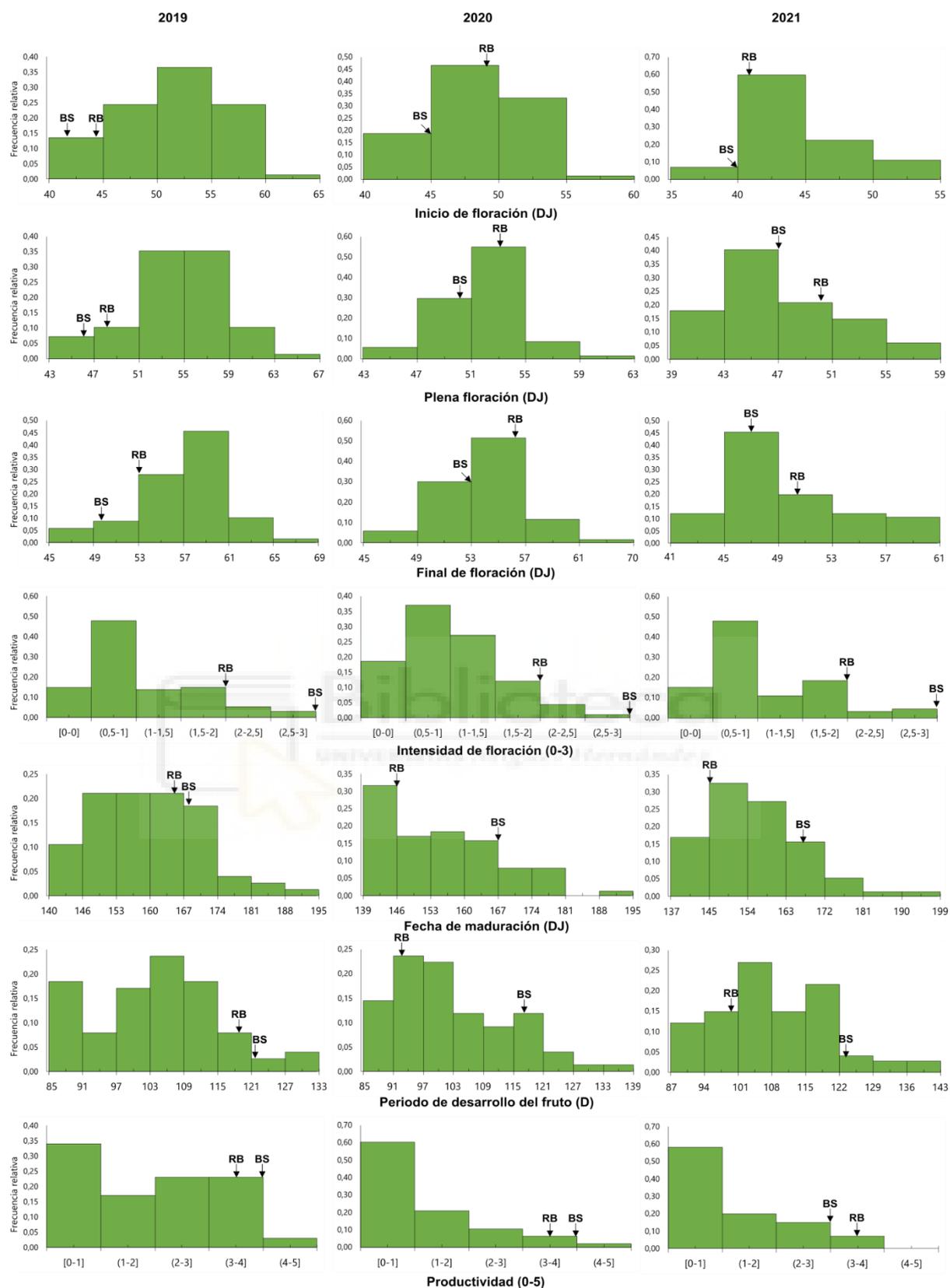


Figura 3.12. Distribución de frecuencias de la población 'Red Beaut' × 'Black Splendor' evaluada con relación a los distintos caracteres fenológicos, que abarcan el inicio de la floración, plena floración, final de la floración y fecha de maduración, todos expresados en días julianos (DJ), así como el periodo de desarrollo del fruto en días (D), intensidad de floración (0-3) y productividad (0-5) en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor' y RB 'Red Beaut'.

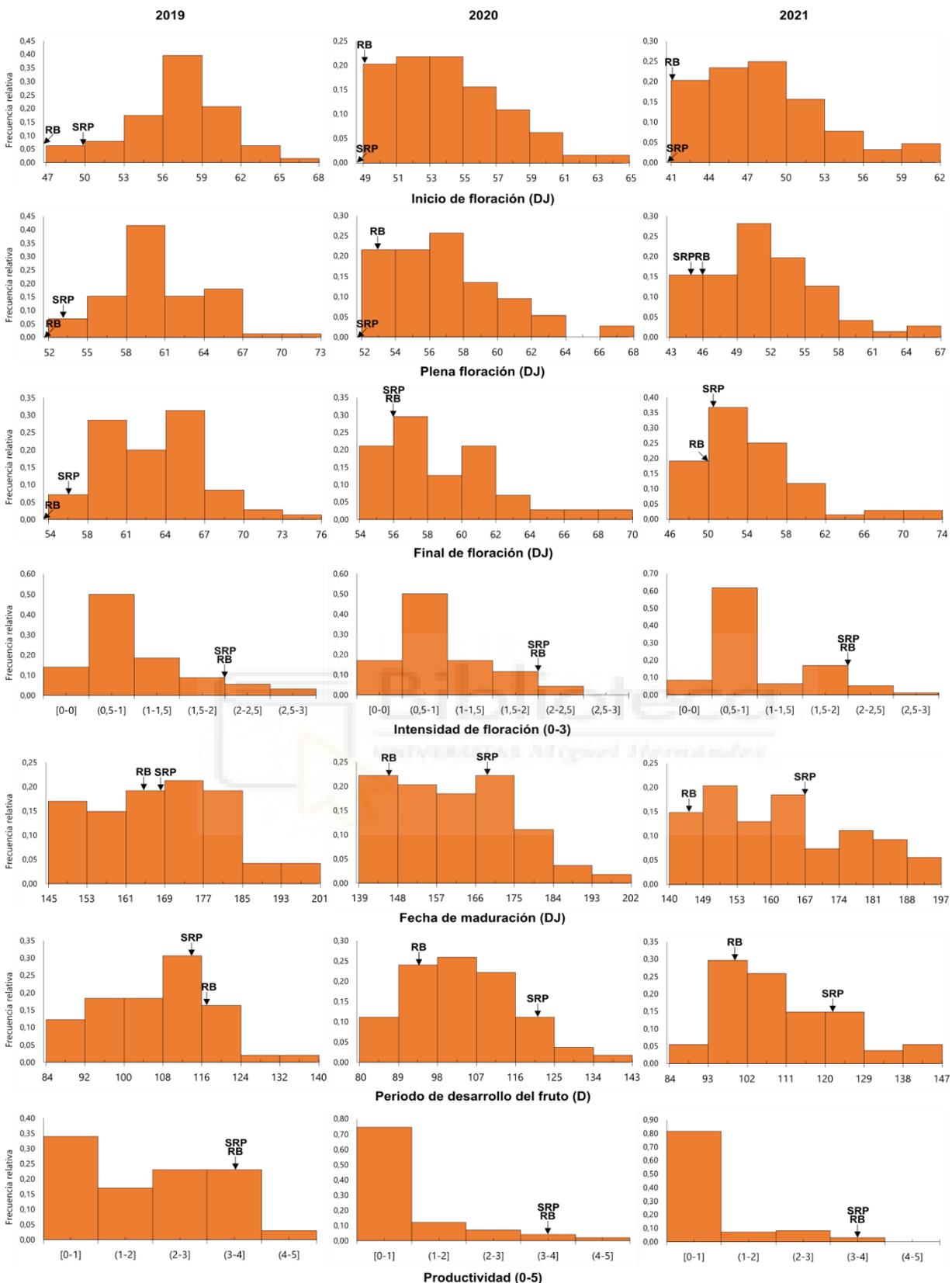


Figura 3.13. Distribución de frecuencias de la población 'Red Beauty' x 'Santa Rosa Precoz' evaluada con relación a los distintos caracteres fenológicos, que abarcan el inicio de la floración, plena floración, final de la floración y fecha de maduración, todos expresados en días julianos (DJ), así como el periodo de desarrollo del fruto en días (D), intensidad de floración (0-3) y productividad (0-5) en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo RB 'Red Beauty' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

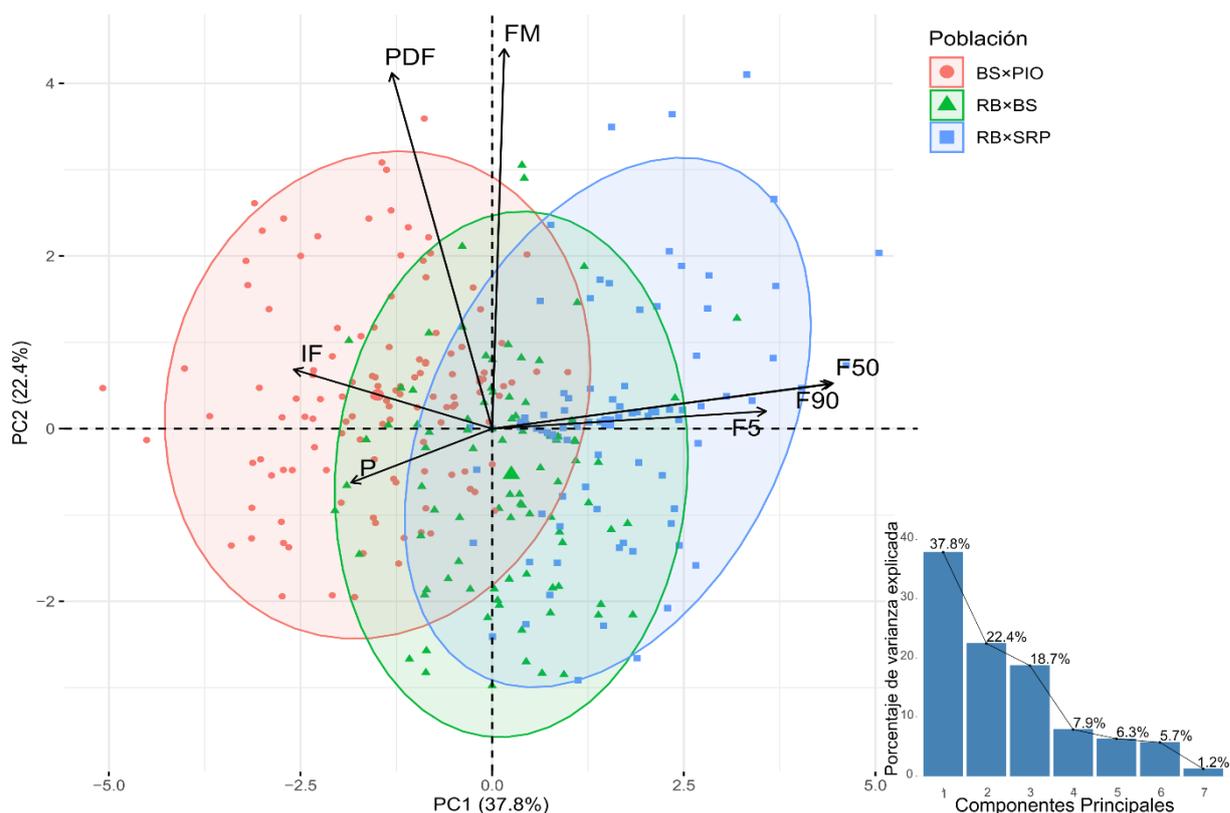


Figura 3.14. Biplot del análisis de componentes principales (PCA) mostrando los siete caracteres fenológicos y los genotipos de cada población estudiada (izquierda), junto con el gráfico de sedimentación (derecha) que muestra el porcentaje de varianza explicada para los siete componentes principales obtenidos del PCA. La población 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO) está representada por círculos rojos, 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) por triángulos verdes, y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP) por cuadrados azules. Los caracteres fenológicos representados son el inicio de la floración (F5), plena floración (F50), final de la floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF) y productividad (P).

3.4.2.2. Transmisión de caracteres físicos de la calidad del fruto

3.4.2.3. Peso del fruto

Dada la elevada correlación significativa observada tanto entre el peso y el diámetro del fruto, así como entre los distintos diámetros evaluados (ver Apartado 3.4.3), y, por tanto, la similitud de las distribuciones de las descendencias entre estos caracteres, se han presentado únicamente los histogramas del peso como indicador del tamaño del fruto en las tres poblaciones, con el objetivo de simplificar la exposición de los resultados y evitar redundancias (Figura 3.15).

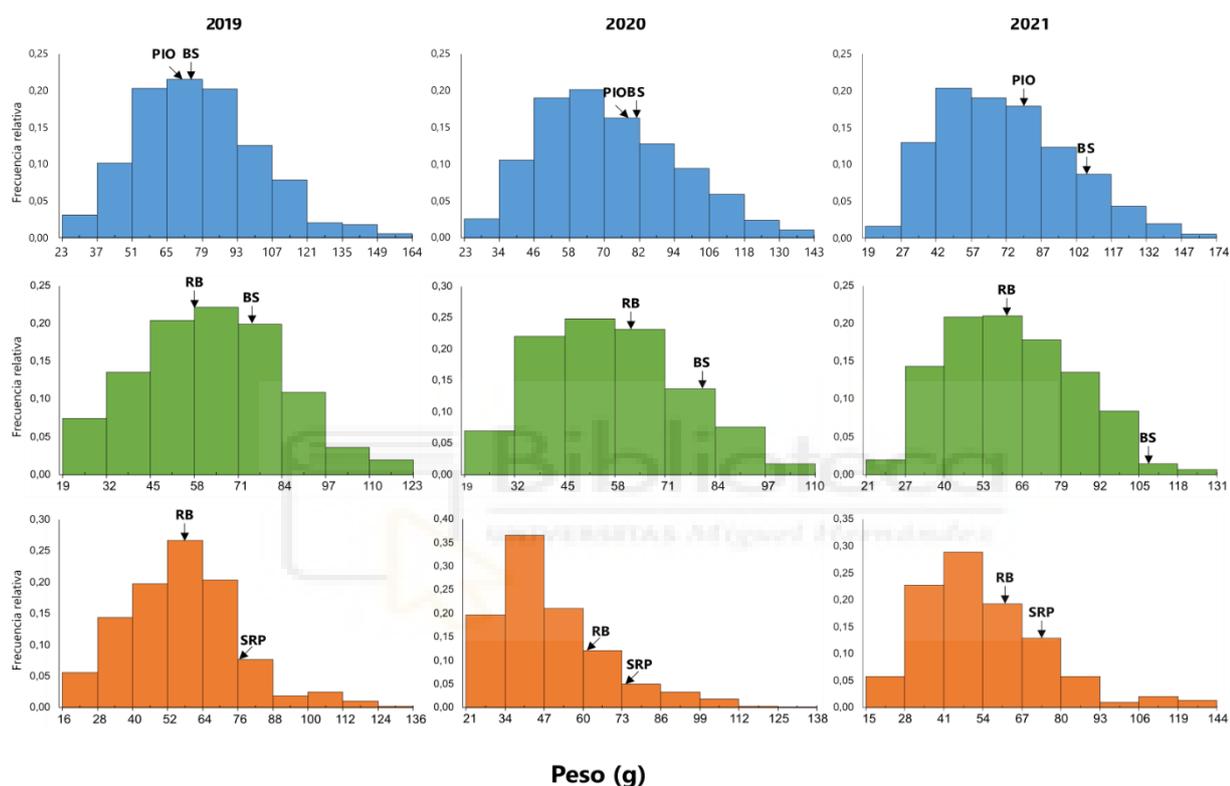


Figura 3.15. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el peso del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

Los resultados obtenidos en las tres poblaciones muestran que la transmisión del peso del fruto sigue una distribución cercana a la normalidad, como se aprecia en los histogramas de este carácter (Figura 3.15). Esta distribución normal se ha verificado estadísticamente en las tres progenies (Tabla 3.5). Estos resultados confirman su carácter poligénico y tipo de herencia cuantitativa, tal y como se ha reportado en estudios previos (Ruiz *et al.*, 2010b; Salazar *et al.*, 2013, 2017, 2020; García-Gómez *et al.*, 2019). Además, no se observan diferencias significativas entre años en las distribuciones mostradas en los histogramas de cada población, lo que corrobora los resultados del análisis ANOVA realizado (Tabla 3.7).

La población 'BS×PIO', además de mostrar el mayor promedio de peso del fruto, con valores medios superiores a 71 g durante los tres años de estudio (Tabla 3.2), fue la población que mostró una mayor segregación en la descendencia (Figura 3.15). En contraste, las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP', presentaron valores inferiores y una menor segregación (Figura 3.15). Esta diferencia podría atribuirse a la influencia de la variedad 'Red Beaut' como parental en estas dos últimas poblaciones, variedad caracterizada por un peso del fruto significativamente inferior a los otros parentales, y probablemente con un fondo genético que hace más pronunciado este efecto de menor peso.

En las tres poblaciones se observa un elevado porcentaje de descendientes con valores transgresivos respecto a sus parentales, con una predominancia de descendientes que muestran un menor peso de fruto en comparación con sus parentales. Esta situación es más evidente en la población 'RB×SRP', donde más del 60% de la población presenta valores de peso por debajo a ambos parentales, llegando a un 77% en 2020. Este fenómeno podría sugerir una posible dominancia de un peso de fruto más bajo, característico en el parental 'Red Beaut', con un peso medio de alrededor de 60 g durante los tres años, en contraposición a un peso más elevado, característico tanto en la variedad 'Black Splendor' (87,6 g) como en 'Santa Rosa Precoz' (74,8 g). La dominancia de un peso de fruto menor en la descendencia en comparación con sus progenitores también ha sido observada previamente en ciruelo japonés por Salazar *et al.* (2020), donde aproximadamente el 60% de la población presentaba un tamaño del fruto menor. Este hecho también se ha observado en albaricoquero (Salazar *et al.*, 2013; Salazar Martínez, 2014; García-Gómez, *et al.*, 2019) y cerezo (Theiler-Hedtrich, 1994). Todos estos resultados evidencian la influencia del fondo genético de los parentales en la generación de sus descendencias.

3.4.2.4. Forma del fruto

De todas las formas del fruto contempladas por la UPOV (ver Apartado 3.3.3.3) las poblaciones evaluadas han demostrado segregación únicamente para las categorías de forma circular, cordiforme y achatada (Figura 3.16), a pesar de que todos los parentales empleados en la generación de las tres poblaciones presentan frutos con forma redondeada o circular.

La forma del fruto predominante en todas las poblaciones es la circular, siendo 'BS×PIO' y 'RB×SRP' las poblaciones que exhiben un mayor porcentaje de individuos con esta forma, en torno al 66%, mientras que la población 'RB×BS' presenta alrededor del 53% de individuos con esta forma. Por otro lado, en relación a la forma cordiforme/acorazonada, la población que presenta un mayor porcentaje de individuos con esta característica es 'RB×BS' con un 36% de la población, seguida de 'RB×SRP' y 'BS×PIO' con un 35% y 25%, respectivamente. Por último, las únicas poblaciones que han presentado formas de fruto achatadas en su descendencia son 'BS×PIO' y 'RB×BS' con un 9% y 11% de la población respectivamente (Figura 3.16). Estos resultados ponen de manifiesto la notable influencia del fondo genético en las descendencias con la presencia de genotipos con forma de fruto cordiforme o achatada, a pesar de que todos los parentales muestran una forma circular.

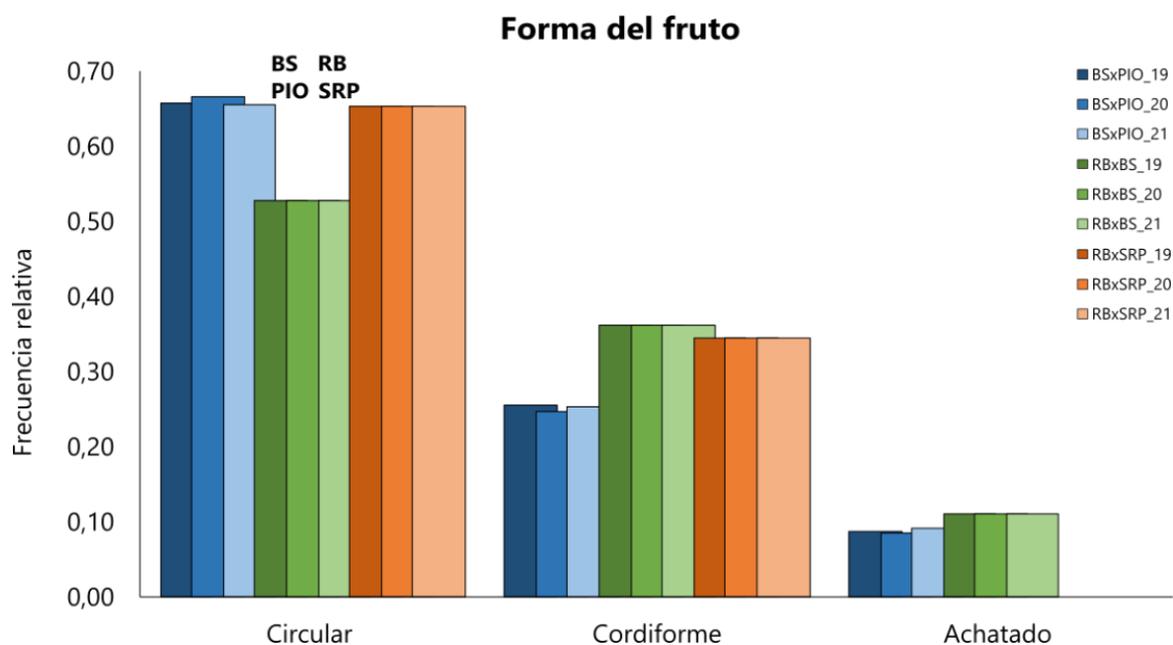


Figura 3.16. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la forma del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. En cada población los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

Trabajos previos realizados por Salazar *et al.* (2017, 2020) en ciruelo japonés, también mostraron que la forma circular del fruto predomina en la descendencia evaluada, constituyendo alrededor del 60% de la población. Además, también se obtuvo segregación en frutos acorazonados y achatados en esa población. Estos patrones indican la predominancia de la forma circular en comparación con otras formas de fruto en ciruelo japonés, lo que contrasta con lo observado en melocotonero por diversos autores (Lesley, 1940; Dirlewanger *et al.*, 2006; Cantín *et al.*, 2010; Picañol *et al.*, 2013), donde se reporta la dominancia de la forma achatada debido a la presencia de un gen dominante (S-, achatado) que controla la forma del fruto en oposición a la forma redonda (ss, redondo).

3.4.2.5. Profundidad de la sutura

La presencia de una sutura muy marcada puede provocar la formación de frutos con formas menos simétricas y una disminución del atractivo de la fruta para el consumidor.

En la Figura 3.17 podemos observar la distribución de las categorías de profundidad de la sutura evaluada en las tres poblaciones durante los tres años de estudio. Todos los parentales de las poblaciones presentan una profundidad de sutura baja, sin ser marcada. Sin embargo, de forma similar a lo observado para el carácter 'forma del fruto', las descendencias sí mostraron segregación para las categorías de sutura media y sutura alta.

La población 'RB×SRP' mostró el mayor porcentaje de descendientes caracterizados por una profundidad de sutura baja, en torno al 80% de la población, mientras que el resto presenta una profundidad de sutura media, y no se observa ningún genotipo que presente una

sutura profundamente marcada. En cuanto a la población 'BS×PIO', se observa que la mayoría de los individuos presentan una profundidad de sutura media, abarcando entre el 44-48% de la población. Además, un porcentaje significativo, comprendido entre el 37-41%, exhibe una profundidad de sutura baja, y solo un reducido grupo, en torno al 15% de la población (equivalente de 12 a 16 genotipos), presenta una sutura profundamente marcada. Por último, 'RB×BS' es la población que presenta un mayor porcentaje de individuos con una profundidad de sutura alta, suponiendo un 20% de la población en los tres años de estudio (Figura 3.17).

Los resultados de la transmisión de este carácter muestran por tanto una significativa influencia del fondo genético de los parentales, observándose segregación en las descendencias en las categorías de 'sutura media' y 'sutura alta', no presentes en los parentales.

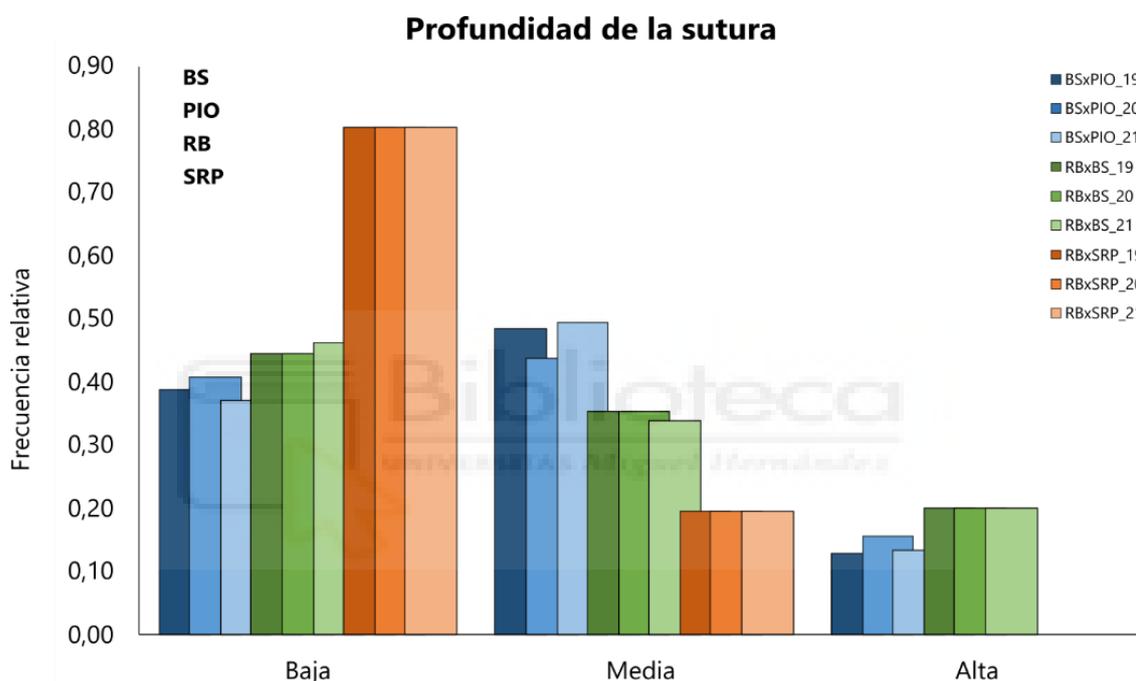


Figura 3.17. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la profundidad de la sutura en los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

3.4.2.6. Presencia de lenticelas

La distribución del carácter 'presencia de lenticelas' en las descendencias mostró una importante segregación en las tres poblaciones estudiadas (Figura 3.18). En este carácter, no se han detectado diferencias significativas entre años en ninguna de las tres poblaciones (Tabla 3.9).

La población 'BS×PIO' muestra el mayor número de individuos con lenticelas más pronunciadas en la piel, representando aproximadamente el 55% de su población total con lenticelas marcadas o muy marcadas, a pesar de que el parental 'BS' se caracteriza por presentar lenticelas poco marcadas.

Por otro lado, en la población 'RB×BS', la mayoría de los individuos exhiben lenticelas poco pronunciadas, con un 64% de la población con lenticelas no marcadas o muy poco marcadas. 'RB×SRP' es la población que muestra un mayor porcentaje de individuos con lenticelas un poco marcadas, representando un 43% de su población total.

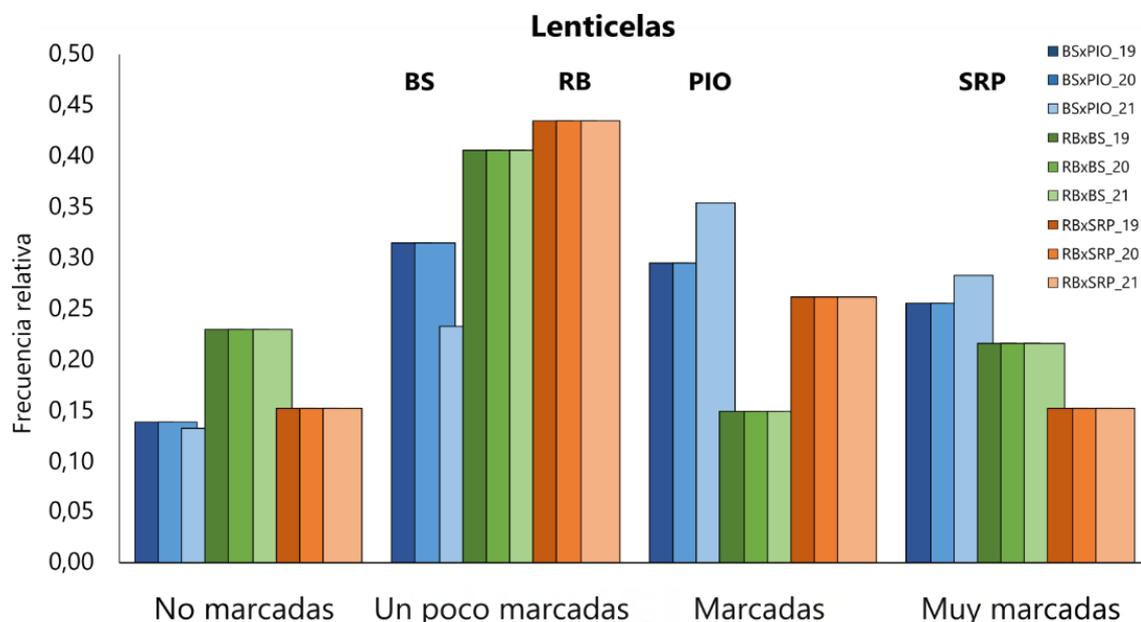


Figura 3.18. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para presencia de lenticelas en la piel durante los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

3.4.2.7. Adhesión del hueso a la pulpa

La evaluación del carácter de adhesión del hueso a la pulpa ha mostrado una gran segregación en las tres poblaciones de estudio (Figura 3.19) sin presentar diferencias significativas entre años (Tabla 3.9). La población 'BS×PIO' es la que presenta una mayor frecuencia de individuos con bajos porcentajes de adhesión (0 al 25%), lo que implica que casi el 70% de la descendencia se clasifica como genotipos no adherentes. Tanto 'Black Splendor' como 'Pioneer' son los parentales que presentan una menor adhesión del hueso a la pulpa, lo que podría justificar los resultados obtenidos en esta población. En el caso de 'RB×BS', una parte significativa de la población muestra un hueso no adherido a la pulpa, con aproximadamente el 50% de la población registrando valores de adhesión muy bajos. Sin embargo, también se observa un alto porcentaje, alrededor del 30%, con una adhesión del hueso a la pulpa elevada, exhibiendo la mayoría de los individuos de esta población valores transgresivos respecto a los parentales. Finalmente, la población 'RB×SRP' destaca por presentar el mayor porcentaje de descendientes con elevada adhesión del hueso a la pulpa de las tres poblaciones evaluadas. Alrededor del 40% de su población exhibe un hueso adherente, con valores de adhesión entre el 75 al 100%. Además, un 20% de la población tiene un hueso con una semiadherencia alta, con valores de adhesión entre el 50 al 75%. Estos resultados

pueden atribuirse a la combinación genética de los parentales en esta población, ya que tanto 'Red Beaut' como 'Santa Rosa Precoz' presentan una mayor adherencia del hueso a la pulpa en comparación con el resto de parentales, pudiéndose catalogar como genotipos que presentan huesos con una semiadherencia alta, como ya han indicado otros autores (Guerra *et al.*, 2009b; Karp, 2015).

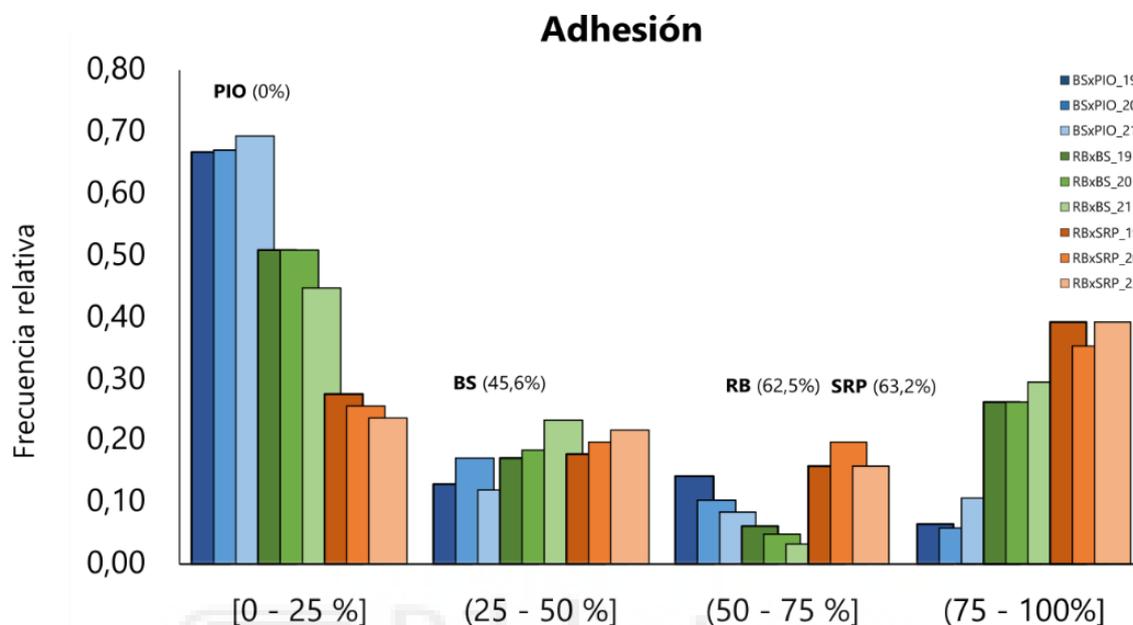


Figura 3.19. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el porcentaje de adhesión del hueso a la pulpa durante los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran los valores medios de los tres años de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

3.4.2.8. Hueso roto

En las tres poblaciones, la mayoría de los individuos exhiben un bajo porcentaje de hueso roto, situándose entre el 0% y 25% (Figura 3.20). En el caso de las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' en torno al 90% de la descendencia no presentó hueso roto durante los tres años de estudio. La población 'BS×PIO' es la que mostró un mayor porcentaje de hueso roto en sus individuos en comparación con el resto de las poblaciones, si bien la expresión de este carácter mostró diferencias significativas entre años (Tabla 3.10), siendo el porcentaje de hueso roto significativamente más elevado en el año 2019. Las condiciones climáticas de cada año pueden tener una incidencia notable en la expresión de este carácter (Claypool *et al.*, 1972; Hausman *et al.*, 2000; Jincheng *et al.*, 2006; Dangcham *et al.*, 2008; Kritzinger *et al.*, 2017).

Hueso roto

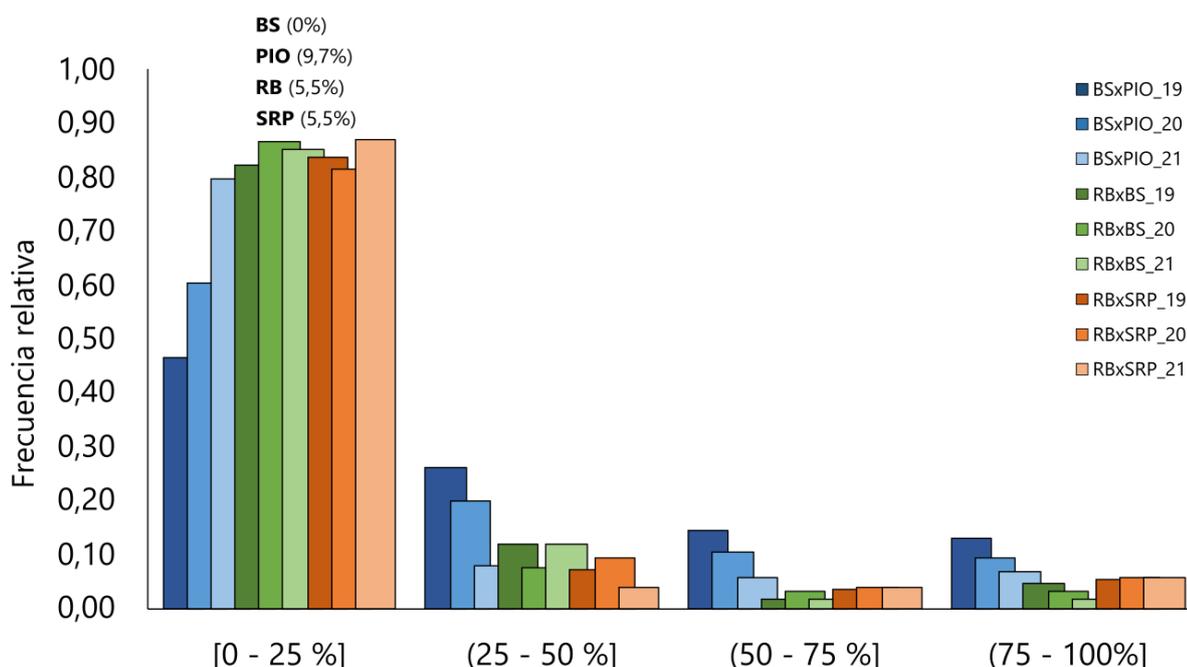


Figura 3.20. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el porcentaje de hueso roto durante los años 2019, 2020 y 2021. En todas las poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran los valores medios de los tres años de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

3.4.2.9. Firmeza

La firmeza es uno de los atributos de calidad del fruto de mayor importancia, ya que junto con el color es uno de los indicadores de la madurez del fruto y del momento óptimo para llevar a cabo la recolección, además de determinar en gran medida la aptitud que presenta durante el periodo poscosecha, lo que también repercute notablemente en la aceptación por parte del consumidor.

Los resultados de la distribución de las descendencias en las tres poblaciones muestran una gran segregación, tal y como se puede observar en los histogramas de frecuencias (Figura 3.21), presentando un rango de valores muy amplio en las tres poblaciones, especialmente en la población 'BS×PIO'. Estos resultados evidencian la naturaleza poligénica del carácter y su tipo de herencia cuantitativa. Los resultados de firmeza se muestran estables durante los tres años de estudio, excepto en 2020 en la población 'BS×PIO', donde los genotipos muestran una firmeza mayor en comparación con los años 2019 y 2021, existiendo diferencias significativas para ese año (Tabla 3.10).

En las poblaciones 'BS×PIO' y 'RB×BS' la mayoría de los genotipos mostraron una firmeza entre 20 y 40 N en 2019 y 2021, mientras que en 2020 los valores oscilaron entre 30 y 50 N. Los valores obtenidos para los parentales fueron muy similares entre años, oscilando

entre 37,8 N y 46, 2 N en el caso de 'Black Splendor', entre 26,9 N y 32,4 N en 'Pioneer', y entre 24,9 N y 32,9 N en 'Red Beaut'. Resultados similares a los obtenidos en los progenitores han sido descritos por Guardiola-Martínez (2019), donde 'Black Splendor' presentó la mayor firmeza con 49,53 N y 'Red Beaut' presentó la menor con 36,14 N. La población 'RB×SRP' presentó unos valores de firmeza menores en comparación con 'BS×PIO' y 'RB×BS'. Esta diferencia podría atribuirse a la interacción y combinación entre sus parentales, ya que 'Red Beaut' presenta la firmeza más baja entre los parentales utilizados, con un promedio de 27,20 N, mientras que en 'Santa Rosa Precoz' los valores de firmeza oscilan entre 31,2 N y 40 N, similares a los obtenidos por Guardiola-Martínez (2019).

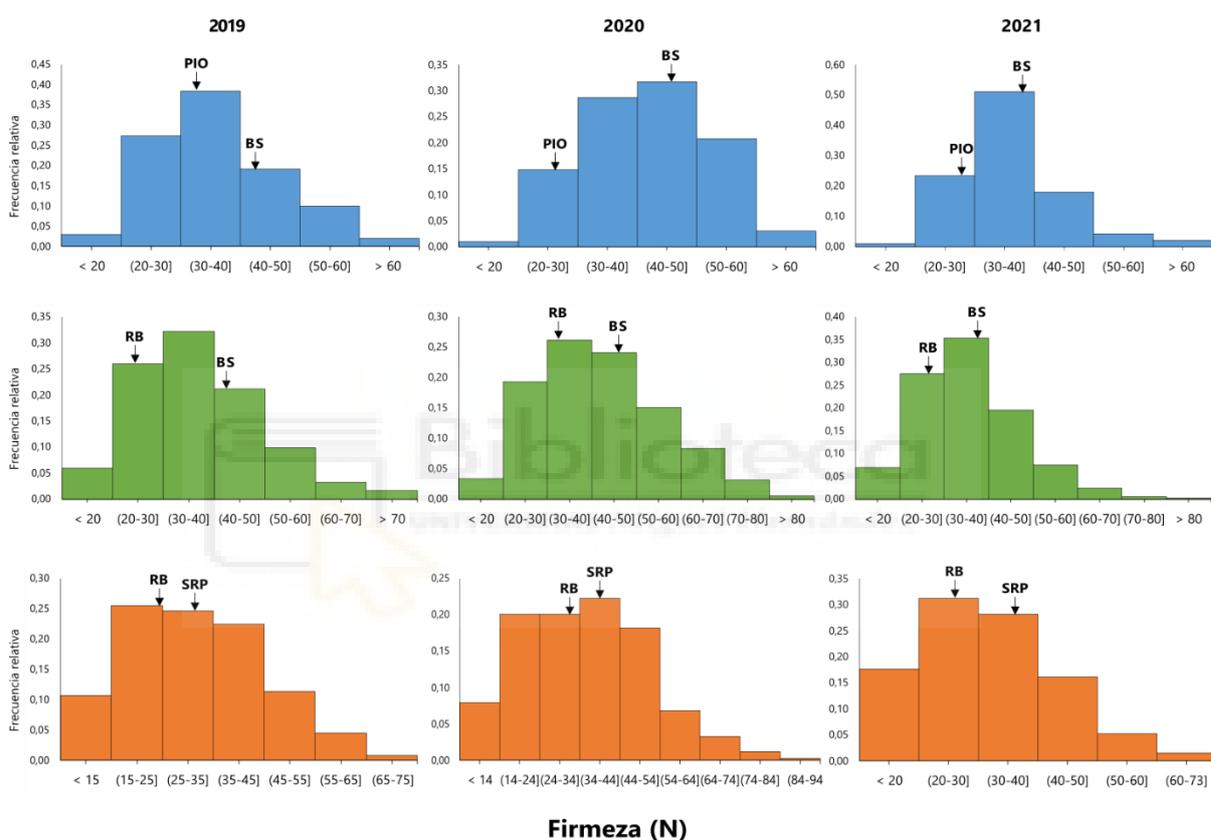


Figura 3.21. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la firmeza del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

Por otra parte, en las tres poblaciones se obtuvieron descendientes con valores transgresivos respecto a los parentales, siendo especialmente acentuado en la población 'RB×SRP', donde se observó una considerable proporción de la población que presentó valores transgresivos inferiores a sus parentales en comparación con el resto de las poblaciones, llegando a presentar en 2021 casi el 49% de la población una firmeza inferior a la de sus parentales (Figura 3.21).

3.4.2.10. Color de piel

Debido a las significativas y elevadas correlaciones observadas entre los parámetros de color L, C y H (ver Apartado 3.4.3), se representa únicamente el ángulo de tonalidad del color ($^{\circ}$ H) como medición analítica del color de la piel en los histogramas (Figura 3.22), ya que es el que mejor refleja el color resultante del sistema de coordenadas empleado. Además, también se ha representado la evaluación visual del color de fondo (Figura 3.23) y del color de piel del fruto (Figura 3.24).

La distribución en las descendencias del color de piel (Figuras 3.22 y 3.24) muestra una gran variabilidad en las tres poblaciones evaluadas. Además, los patrones de distribución fueron muy similares durante los tres años de estudio en las tres poblaciones, sin observarse diferencias interanuales, tal y como mostraron los análisis estadísticos, donde no se encontraron diferencias significativas entre años (Tabla 3.9).

En la población 'BS×PIO' el color de piel de la mayoría de la población durante los tres años de estudio osciló entre valores de $^{\circ}$ H de 10 a 30 (Figura 3.22), lo que se traduce en diversas tonalidades de color rojizo, incluyendo tonos violáceos, rojos oscuros y rojos, tal como se muestra también en la Figura 3.24. Es importante destacar que en esta población no se encontró ningún genotipo con un color de piel amarillo (Figura 3.24). Aquellos genotipos que presentaron valores de $^{\circ}$ H superiores a 40 correspondieron a individuos con un color de piel rojizo y un fondo amarillento significativamente notable (Figura 3.23), lo que explica la obtención de valores de $^{\circ}$ H más altos. 'Black Splendor' es una variedad que presenta un color de piel muy oscuro, prácticamente negro (Figura 3.24), lo que se refleja en valores de $^{\circ}$ H inferiores a 10 durante los tres años de estudio, con un rango de 7 a 9 $^{\circ}$ H (Figura 3.22). Por otro lado, 'Pioneer', tiene un color de piel rojo (Figura 3.24), con un color de fondo amarillento (Figura 2.26), lo que resulta en valores de $^{\circ}$ H que oscilaron de 32 a 36 (Figura 3.22)

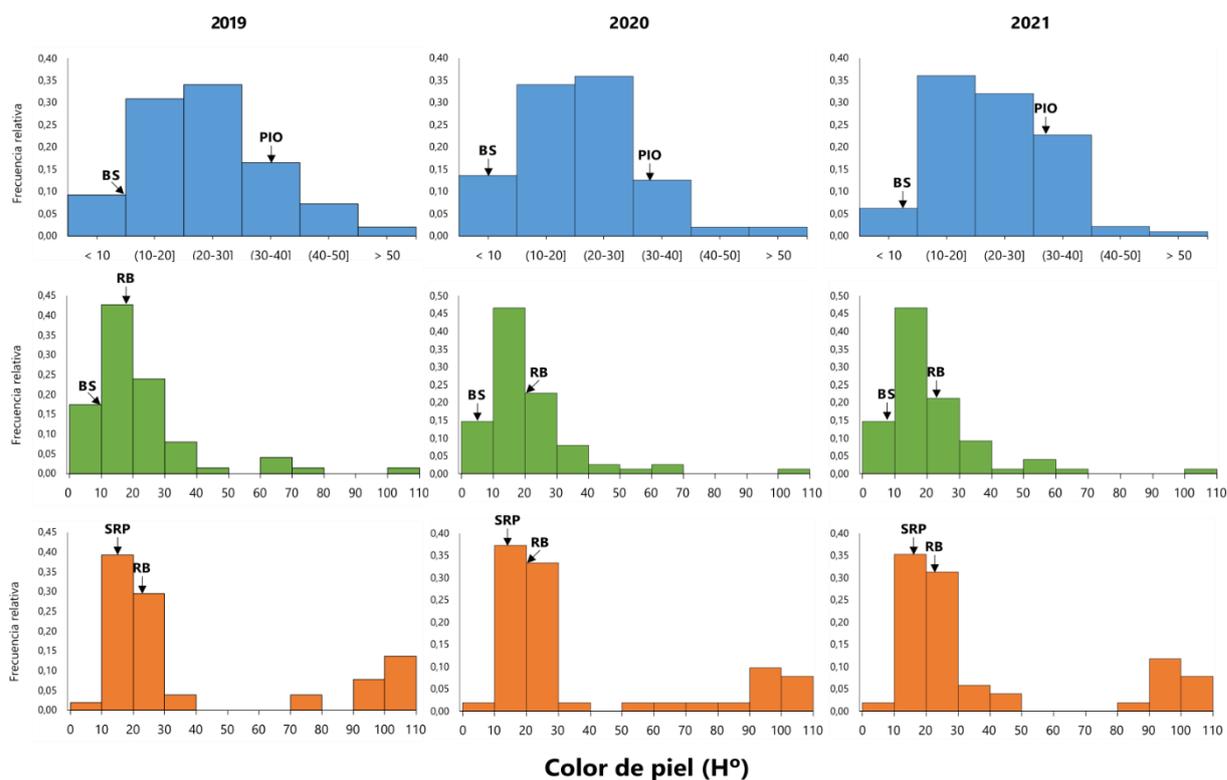


Figura 3.22. Distribución de frecuencias de las poblaciones ‘Black Splendor’ × ‘Pioneer’ (azul), ‘Red Beaut’ × ‘Black Splendor’ (verde) y ‘Red Beaut’ × ‘Santa Rosa Precoz’ (naranja) para el color de piel del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS ‘Black Splendor’, PIO ‘Pioneer’, RB ‘Red Beaut’ y SRP ‘Santa Rosa Precoz’.

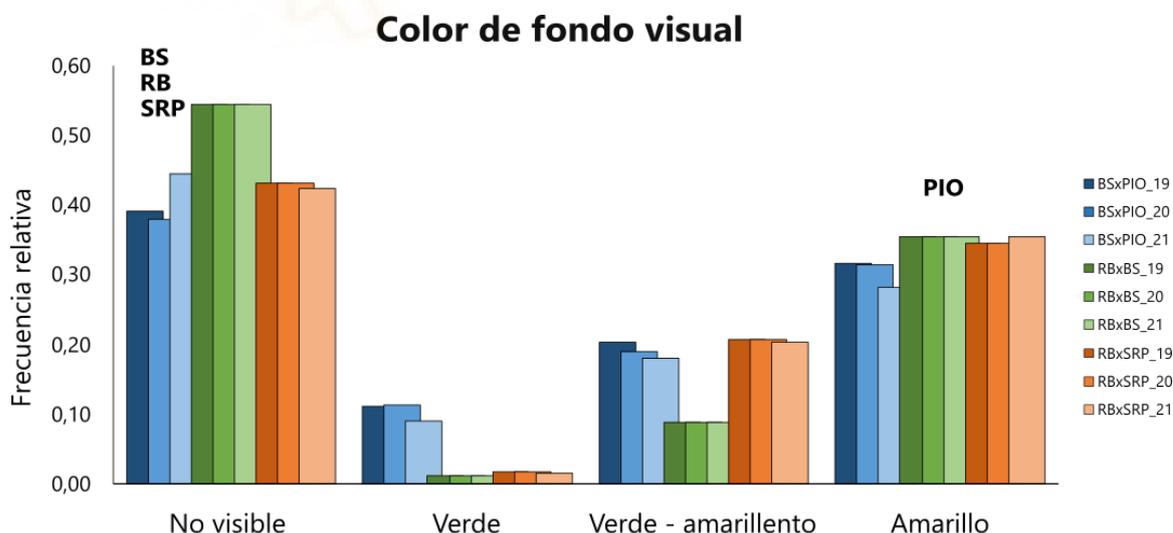


Figura 3.23. Distribución de frecuencias de las poblaciones ‘Black Splendor’ × ‘Pioneer’ (azul), ‘Red Beaut’ × ‘Black Splendor’ (verde) y ‘Red Beaut’ × ‘Santa Rosa Precoz’ (naranja) para el color de fondo visual durante los años 2019, 2020 y 2021. En las tres poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS ‘Black Splendor’, PIO ‘Pioneer’, RB ‘Red Beaut’ y SRP ‘Santa Rosa Precoz’.

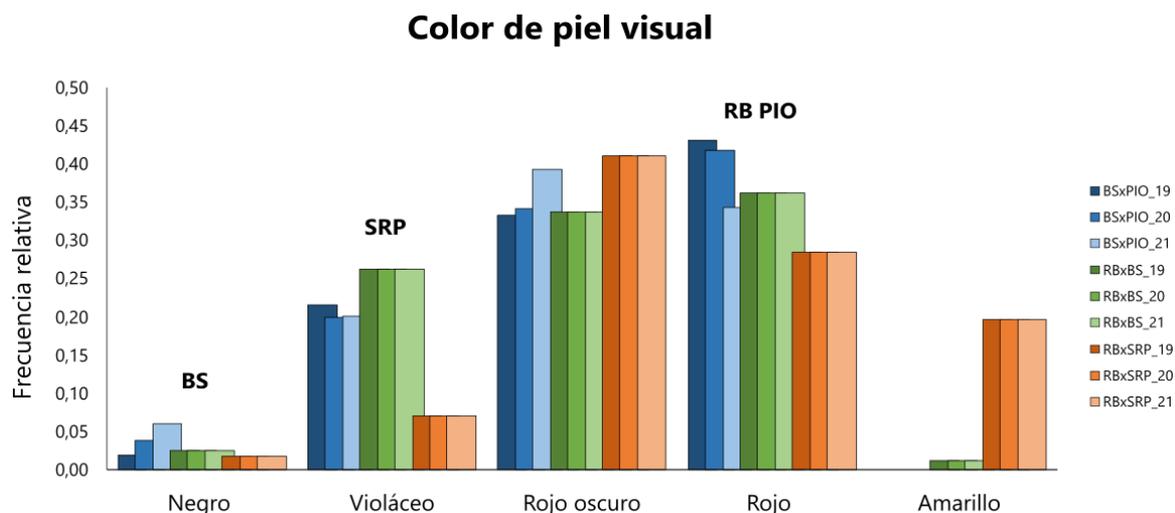


Figura 3.24. Distribución de frecuencias de las poblaciones ‘Black Splendor’ × ‘Pioneer’ (azul), ‘Red Beaut’ × ‘Black Splendor’ (verde) y ‘Red Beaut’ × ‘Santa Rosa Precoz’ (naranja) para el color de piel visual durante los años 2019, 2020 y 2021. En las tres poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS ‘Black Splendor’, PIO ‘Pioneer’, RB ‘Red Beaut’ y SRP ‘Santa Rosa Precoz’.

El parental ‘Red Beaut’ tiene un color de piel rojo intenso (Figura 3.24), exhibiendo unos valores de °H que oscilan entre 16,6 y 22,3, durante los tres años de estudio (Figura 3.22). En la población ‘RB×BS’, la mayoría de la descendencia muestra un color de piel con valores de °H de 10 a 20 durante los tres años (Figura 3.22), presentando una proporción significativa de genotipos que presentan una piel de tonalidad violácea (Figura 3.24) y un fondo que no es visible (Figura 3.23). Asimismo, se observa una marcada tendencia hacia valores de °H más elevados, debido a la presencia de colores rojos menos oscuros que los parentales (Figura 3.24) e incluso una alta proporción de genotipos con un color de fondo amarillo (Figura 3.23), a pesar de que ninguno de los parentales presenta un color de fondo visible (Figura 3.23). Cabe destacar la presencia de un genotipo con piel amarilla (Figura 3.24), lo que corresponde a valores de °H superior a 100 °H (Figura 3.22). Estos valores transgresivos de color sugieren una influencia del fondo genético del parental ‘Red Beaut’, ya que proviene de cruzamientos con otras especies de *Prunus* (Faust & Surányi, 1998; Karp, 2015).

Finalmente, en la población ‘RB×SRP’, la mayoría de sus genotipos presentan colores de piel en tonos rojizos (Figura 3.24) con valores de °H entre 10 y 30 durante los tres años de estudio (Figura 3.22). Al igual que en la población ‘RB×BS’, se observa una tendencia hacia valores de °H más elevados, con un importante número de descendientes con valores transgresivos a los parentales. Debemos destacar que aproximadamente el 20% de la población mostró valores de °H superiores a 80 (Figura 3.22), correspondientes a un color de piel amarillo (Figura 3.24), cuando ninguno de los parentales muestra esta coloración. Estos resultados muestran la influencia del trasfondo genético de ambos parentales, ya que tanto ‘Red Beaut’ como ‘Santa Rosa Precoz’ cuentan con pedigrís complejos que involucran cruzamientos con distintas especies de *Prunus* (Faust & Surányi, 1998; Karp, 2015).

3.4.2.11. Color de pulpa

Al igual que en el carácter de color de piel, se han observado unas altas correlaciones significativas entre los parámetros de color L, C y °H para el color de la pulpa (ver Apartado 3.4.3). Por tanto, se ha optado por representar exclusivamente el ángulo Hue de tonalidad del color (°H) como medición analítica del color de pulpa en los histogramas (Figura 3.25), dado que este parámetro refleja de manera óptima la tonalidad resultante del sistema de coordenadas empleado. Además, con el fin de facilitar la comprensión de los resultados, también se ha representado la evaluación visual del color de pulpa del fruto (Figura 3.26).

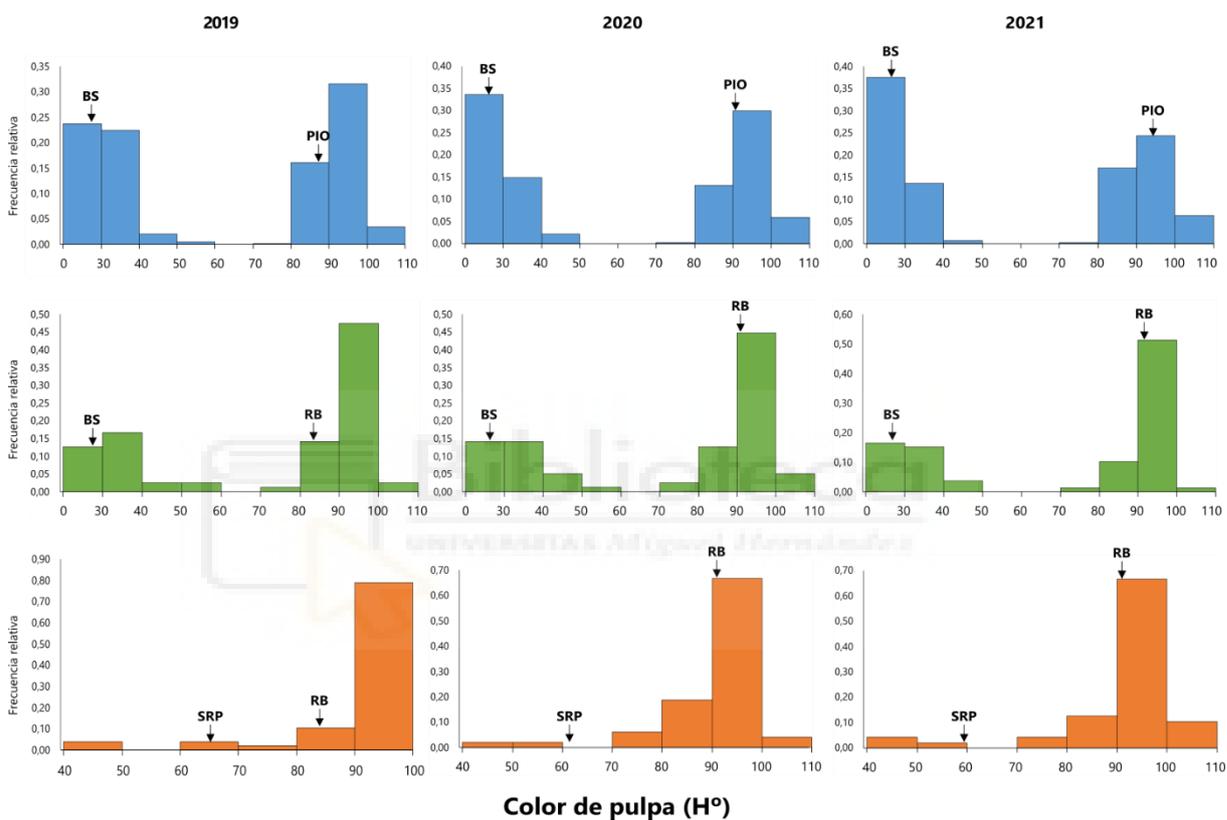


Figura 3.25. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el color de pulpa del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

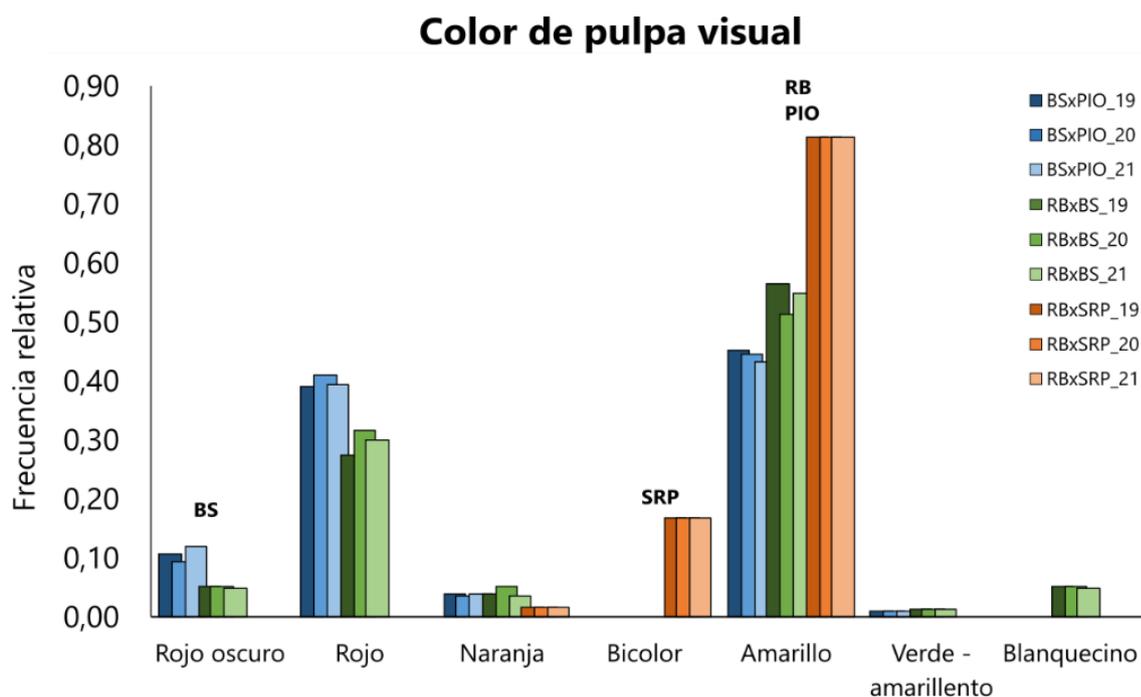


Figura 3.26. Distribución de frecuencias de las poblaciones ‘Black Splendor’ × ‘Pioneer’ (azul), ‘Red Beaut’ × ‘Black Splendor’ (verde) y ‘Red Beaut’ × ‘Santa Rosa Precoz’ (naranja) para el color de pulpa visual durante los años 2019, 2020 y 2021. En las tres poblaciones los colores oscuros representan el año 2019, los colores medios a 2020 y los colores claros a 2021. Se muestran la categorización de los progenitores, siendo BS ‘Black Splendor’, PIO ‘Pioneer’, RB ‘Red Beaut’ y SRP ‘Santa Rosa Precoz’.

Como se puede observar en la Figura 3.25, el color de pulpa muestra una notable segregación en las tres poblaciones, si bien las distribuciones de las descendencias son distintas entre ellas. Las poblaciones ‘BS×PIO’ y ‘RB×BS’ muestran una distribución bimodal, en la que es evidente la distinción entre los genotipos que presentan un color de pulpa rojo y aquellos que presentan una coloración amarilla en la pulpa. Sin embargo, la población ‘RB×SRP’ muestra una distribución asimétrica negativa, que abarca desde una coloración de pulpa anaranjada y bicolor hasta un color amarillo (Figuras 3.25 y 3.26). Cabe destacar que las distribuciones de las descendencias no presentan diferencias significativas entre años, como lo demuestran los resultados obtenidos de los análisis estadísticos (Tabla 3.9). Esto sugiere que este carácter está condicionado genéticamente, con una mínima influencia de los factores ambientales (Salazar *et al.*, 2017; Fiol *et al.*, 2021, 2022).

En la población ‘BS×PIO’, la distribución de los descendientes con pulpa amarilla y roja se aproximó al 50%. Entre el 45% y 51% de la población presentó valores de °H comprendidos entre 17 y 38 (Figura 3.25), lo que corresponde a tonalidades rojizas de pulpa similares a su parental ‘Black Splendor’ (Figura 3.26), mientras que entre el 48% y el 51% de la población tiene valores de °H superiores a 77, lo que se relaciona con tonalidades de color amarillentas, como las de ‘Pioneer’. Existe una pequeña proporción de genotipos que exhiben una coloración de pulpa anaranjada (Figura 3.26).

En el caso de la población 'RB×BS', la proporción de descendientes con tonalidades rojizas es menor en comparación con 'BS×PIO', ya que la mayoría de la población presenta tonalidades amarillentas en la pulpa (Figuras 3.25 y 3.26), con alrededor del 65% de los valores de °H superiores a 70, evidenciándose en esta progenie la influencia predominante del parental 'Red Beaut'.

Finalmente, en la población 'RB×SRP' la mayoría de la descendencia presenta un color de pulpa amarillo, constituyendo el 80% de la población, similar a la coloración de 'Red Beaut' o incluso con valores transgresivos de °H superiores al parental (Figura 3.25). Destaca la segregación de un color de pulpa similar al del parental 'Santa Rosa Precoz', que es bicolor, con tonalidades que van desde el amarillo al rojo oscuro cerca de la piel conforme va madurando, presente en 10 genotipos de la población (Figuras 3.25 y 3.26). En esta población es más evidente la influencia predominante de la variedad 'Red Beaut' respecto al otro parental, en este caso 'Santa Rosa Precoz'.

Los resultados de la transmisión de este carácter, con una segregación bimodal, evidencian que el color de pulpa es un carácter cualitativo, controlado por uno o pocos genes. El mayor porcentaje de genotipos con tonos de piel rojizos con respecto al color de piel amarillo concuerda con la suposición de que el color amarillo parece estar controlado por un único gen recesivo con respecto al color rojo, negro o violáceo, que se heredan cuantitativamente (Okie & Weinberger, 1996).

3.4.2.12. Caracteres organolépticos de la calidad del fruto

3.4.2.13. Contenido en sólidos solubles

El contenido en sólidos solubles, junto con la acidez, se encuentran entre los parámetros de mayor relevancia en la calidad organoléptica del fruto, ejerciendo un impacto considerable en el nivel de aceptación por parte del consumidor.

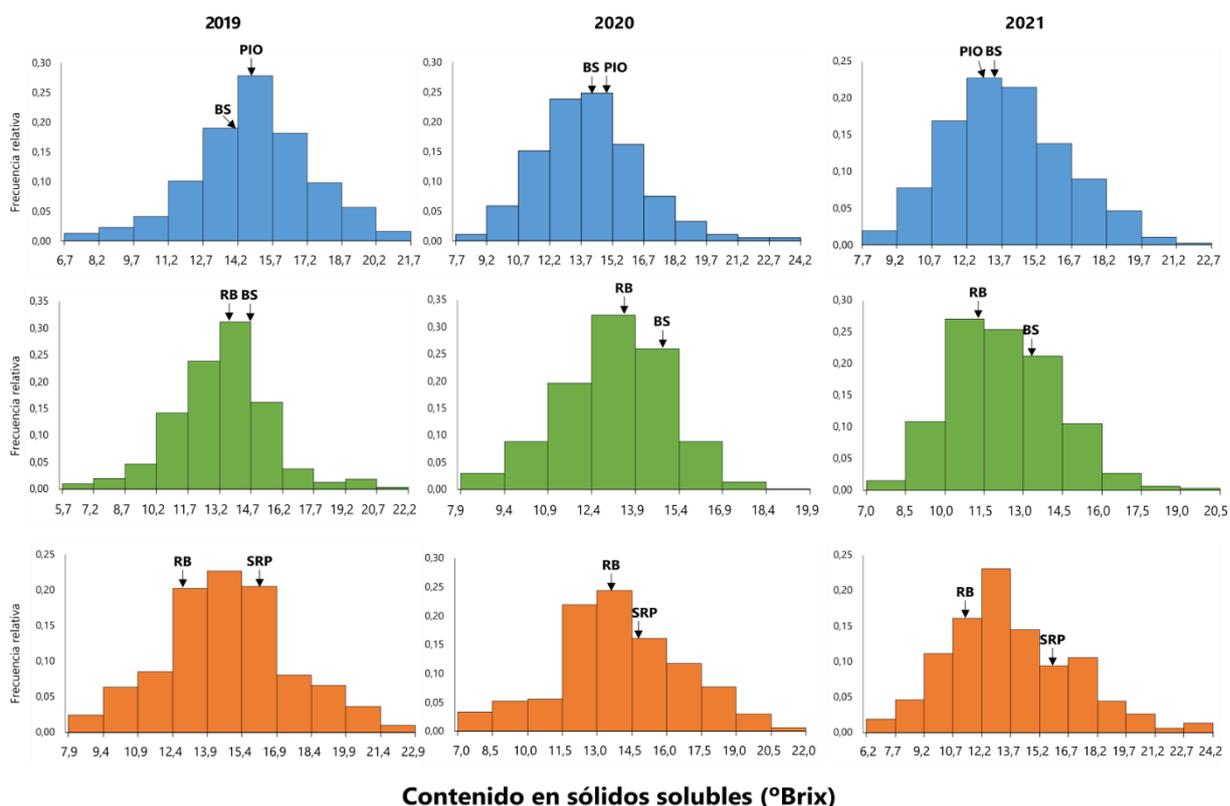
En las tres poblaciones evaluadas, se observa una elevada segregación en lo que respecta al contenido en sólidos solubles, evidenciando una distribución normal en los tres años de estudio (Figura 3.27), como corroboran los resultados de los análisis estadísticos (Tabla 3.6). Estos resultados destacan la compleja herencia de este carácter, indudablemente de naturaleza poligénica y de carácter cuantitativo, influenciada por el fondo genético de los progenitores.

En las tres poblaciones evaluadas los resultados mostraron un rango muy amplio de valores, con un elevado número de descendientes con valores transgresivos a los parentales, lo que evidencia la gran influencia del fondo genético de los parentales en la herencia de este carácter (Ruiz *et al.*, 2010b; Salazar *et al.*, 2016, 2017, 2020; García-Gómez *et al.*, 2019). En la población 'BS×PIO' los valores de sólidos solubles oscilaron entre 6,7 y 23,5 °Brix en función del año, presentando la mayoría de los individuos valores de 12,2 a 15,7 °Brix. En los años 2019

y 2020, el parental 'Pioneer' presentó un contenido en sólidos solubles por encima de 14,7 °Brix, mostrando un contenido ligeramente superior a 'Black Splendor', que varió entre 14,1 y 14,2 °Brix (Figura 3.27). En esta población se observan diferencias significativas en la distribución de la descendencia entre los años 2019 y 2021, tal como reveló el análisis estadístico de comparaciones múltiples (Tabla 3.8).

En cuanto a la población 'RB×BS', los valores de sólidos solubles oscilaron entre 5,7 y 21,6 °Brix en función del año, por lo que se evidencia una amplia variabilidad en cuanto a la concentración de azúcares. En 2019 y 2020, la mayoría de los descendientes mostraron un contenido de sólidos solubles en un rango entre 12 y 15 °Brix, mientras que en 2021 se observó una tendencia a valores inferiores, con la mayoría de individuos en el rango de 10 a 13 °Brix (Figura 3.27). No obstante, el análisis estadístico no reveló diferencias significativas entre años (Tabla 3.7). Se observaron valores transgresivos, sobre todo en niveles de azúcares inferiores a los de los parentales, y en menor medida hacia valores por encima de los parentales (Figura 3.27), lo cual puede atribuirse a la influencia del fondo genético. Este fenómeno también ha sido observado en estudios previos realizados en ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2017,2020). El parental 'Red Beaut', exhibió un contenido de azúcares inferior al de 'Black Splendor', con valores que variaron entre 11,31 y 13,61 °Brix. Ruiz *et al.* (2021) observaron valores similares para 'Red Beaut', con un promedio de 13,4 °Brix.

Por último, la población 'RB×SRP' mostró la mayor segregación en el contenido de azúcares a lo largo de los tres años, con valores oscilaron entre 6,2 y 23,5 °Brix en 2021, lo que muestra una amplia variabilidad. La mayoría de la población presentó un contenido en sólidos solubles que varió entre 10,7 y 16,9 °Brix en función del año, siendo el año 2019 aquel en el que se observaron valores más elevados, en el rango de 12,4 a 16,9 °Brix (Figura 3.27). El parental 'Santa Rosa Precoz' se distingue por presentar un mayor contenido en sólidos solubles en comparación con el resto de parentales, con valores que oscilaron entre 15 y 16,1 °Brix en función del año (Figura 3.27). Estos resultados contrastan con los obtenidos por Ruiz *et al.* (2021) donde obtuvieron valores promedios de azúcares inferiores, siendo de 14,20 °Brix. En las tres poblaciones evaluadas no se observaron diferencias significativas entre años en la distribución de las descendencias ni en los valores obtenidos de sólidos solubles (excepto entre 2019 y 2021 en 'BS × PIO), lo que indica que este carácter tiene un componente genético elevado, con una relativa escasa influencia de las condiciones climáticas, menor que en el caso de otros caracteres.



Contenido en sólidos solubles (°Brix)

Figura 3.27. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' x 'Pioneer' (azul), 'Red Beut' x 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beut' x 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para el contenido en sólidos solubles del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

3.4.2.14. Acidez y pH del fruto

La acidez es uno de los atributos de mayor relevancia dentro de los parámetros organolépticos, ya que, junto al contenido en sólidos solubles, conforma sustancialmente el sabor del fruto y, por consiguiente, tiene una influencia directa en el grado de aceptación por parte del consumidor. Un balance adecuado entre la acidez y el contenido en azúcares es indicativo de un sabor de alta calidad gustativa, mientras que niveles de acidez excesivamente elevados pueden resultar en una baja aceptación por parte del consumidor.

Debido a la elevada correlación inversa observada entre el pH y la acidez del fruto, debido (ver Apartado 3.4.3), se presenta únicamente la acidez del fruto, expresada en gramos de ácido málico/100 ml en los histogramas, para las tres poblaciones, ya que este ácido es el predominante en ciruelo, con el objetivo de simplificar la representación gráfica y evitar redundancias (Figura 3.28).

De forma similar a lo observado en el contenido en sólidos solubles, en las tres poblaciones evaluadas se obtuvo una elevada segregación en lo que respecta al contenido de ácido málico, evidenciando además una distribución normal de las descendencias, especialmente en los años 2020 y 2021, mientras que en el año 2019 los valores mostraron una tendencia a una menor acidez (Figura 3.28). No obstante, el análisis estadístico no reveló diferencias significativas entre años (Tabla 3.7).

En la población 'BS×PIO' la acidez osciló de 1,0 a 3,0 g de ácido málico/100 ml, dependiendo del año. Se observó una marcada variabilidad y segregación en la progenie, con un amplio rango de valores que abarcan desde niveles de acidez muy bajos hasta valores relativamente altos. La mayoría de los individuos, entorno al 40-44% de la población, presentaron niveles de acidez entre 1,5 y 2,0 g de ácido málico/100 ml. 'Black Splendor' exhibió una acidez superior a 'Pioneer' a lo largo de los tres años de estudio, con niveles de acidez que oscilaron entre 1,86 y 2,12 g de ácido málico/100 ml, en contraste con 'Pioneer', cuyos niveles de acidez variaron entre 1,63 y 1,90 g de ácido málico/100 ml (Figura 3.28).

En lo que respecta a la población 'RB×BS', también se evidenció una amplia segregación, presentando la mayoría de la descendencia niveles de acidez de 1,4 a 1,8 g de ácido málico/100 ml, durante los tres años. 'Red Beaut' presentó una acidez inferior a 'Black Splendor' en los tres años de fenotipado, con valores que fluctuaron entre 1,37 y 1,74 g de ácido málico/100 ml en función del año (Figura 3.28). Ruiz *et al.* (2021) observaron valores similares en 'Red Beaut' con un promedio de 1,61 g de ácido málico/100 ml.

Por último, en la población 'RB×SRP', se observó una tendencia a mostrar valores transgresivos inferiores a ambos parentales en gran parte de la población (Figura 3.28). 'Santa Rosa Precoz' mantuvo unos niveles de acidez estables a lo largo de los tres años, oscilando de 1,96 a 2,11 g de ácido málico/100 ml, que concuerdan con los obtenidos por Ruiz *et al.* (2021). Los resultados obtenidos, con un amplio rango de valores y un elevado número de descendientes con valores transgresivos respecto a los parentales, revelan la naturaleza de este carácter y su modo de herencia cuantitativo, así como la influencia del fondo genético de los parentales en la herencia de este carácter. De forma similar al contenido en sólidos solubles, la no existencia de diferencias significativas entre años revela el elevado determinismo genético de este carácter con una escasa influencia de las condiciones climáticas.

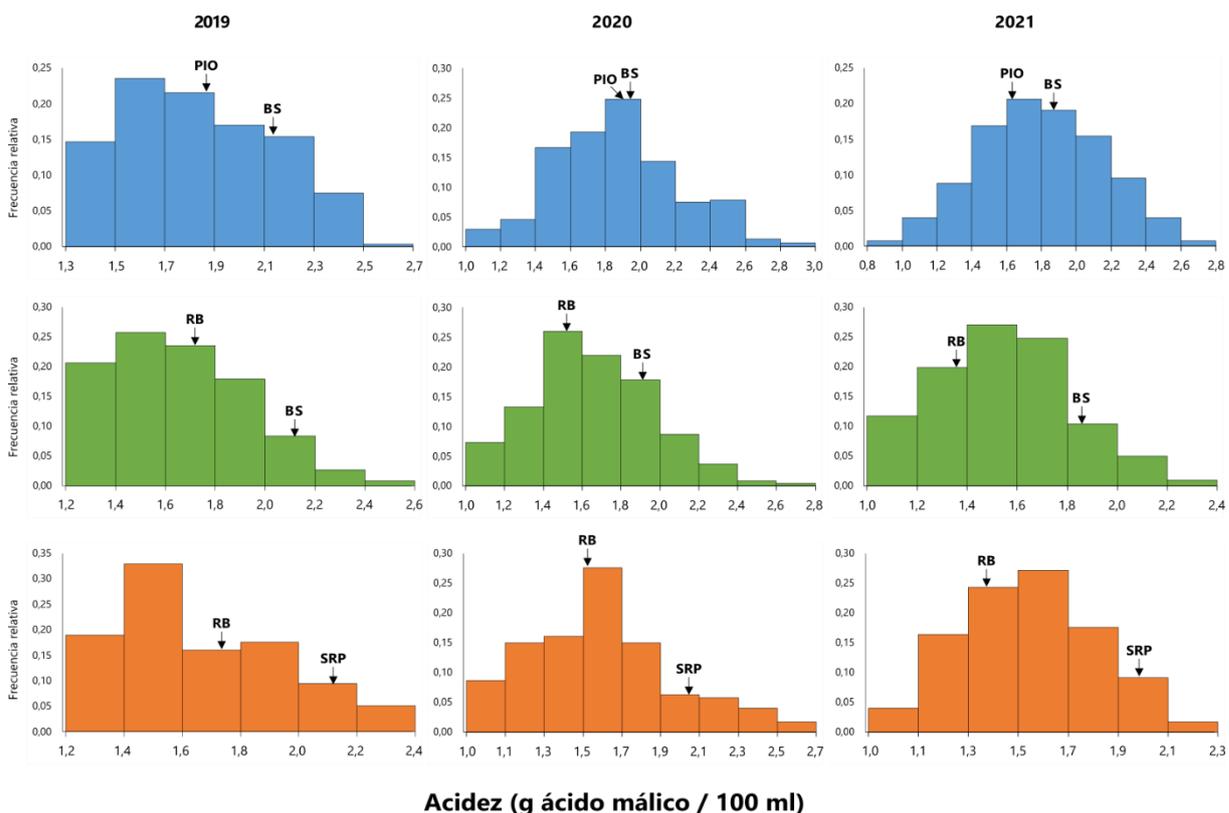


Figura 3.28. Distribución de frecuencias de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (azul), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (verde) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (naranja) para la acidez del fruto en los años 2019, 2020 y 2021. Las flechas señalan los valores medios de los progenitores, siendo BS 'Black Splendor', PIO 'Pioneer', RB 'Red Beaut' y SRP 'Santa Rosa Precoz'.

3.4.3. Correlaciones entre los diferentes caracteres fenológicos y de calidad del fruto evaluados

Las correlaciones anuales entre los caracteres evaluados fueron analizadas para los tres años de estudio en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (Figura 3.29), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (Figura 3.30) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (Figura 3.31), así como las correlaciones interanuales para cada carácter en las tres poblaciones (Tablas 3.11, 3.12 y 3.13).

3.4.3.1. Correlaciones entre caracteres fenológicos

En lo que respecta a las correlaciones entre los diferentes caracteres de fenología evaluados, podemos destacar que las diversas fechas de floración (F5, F50 y F90) se encuentran significativamente correlacionadas entre sí en las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' a lo largo de los tres años de estudio, presentando coeficientes de correlación superiores a 0,74*** (Figuras 3.30 y 3.31). Sin embargo, en la población 'BS×PIO' solo se observa una correlación significativa entre plena floración (F50) y el final de la floración (F90), durante los tres años de estudio, con coeficientes de correlación que superan el valor de 0,93*** (Figura 3.29).

A diferencia de la población 'BS×PIO', en la cual solo se encontraron correlaciones significativas entre plena floración (F50) y el final de la floración (F90), las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' presentaron correlaciones significativas entre la intensidad de floración (IF) y productividad (P), con valores superiores a 0,62*** en 'RB×BS', y 0,59*** en 'RB×SRP'. Asimismo, se observaron elevados coeficientes de correlación entre la fecha de maduración (FM) y el periodo de desarrollo del fruto (PDF), con coeficientes superiores a 0,90*** en ambas poblaciones a lo largo de los tres años de estudio (Figura 3.30 y 3.31). Correlaciones similares fueron encontradas en ciruelo japonés por Salazar *et al.* (2020) entre la FM y PDF, exhibiendo coeficientes de correlación entre dichas variables superiores a 0,75.

En la población 'RB×BS', se ha observado que existe una correlación inversa significativa entre la fecha de maduración (FM) y el periodo de desarrollo del fruto (PDF) con la productividad (P) a lo largo de los tres años de estudio, si bien los coeficientes son relativamente bajos (-0,12* y -0,27**, respectivamente para FM/P y PDF/P). Estos resultados sugieren que los individuos con fechas de maduración más tardías y un periodo de desarrollo del fruto más prolongado tienden a tener una productividad menor (Figura 3.30).

Además, se ha encontrado una correlación inversa entre la floración y PDF en la población 'RB×BS'. En 2021, esta correlación fue más elevada que en los otros años, siendo con F50 la que exhibe el coeficiente de correlación más alto de -0,47***, sugiriendo que los genotipos con floraciones más tardías presentan ciclos de desarrollo del fruto más cortos (Figura 3.30).

Por otro lado, en la población 'RB×SRP', la fecha de floración se encuentra correlacionada significativamente con FM durante los tres años. En concreto, los años 2019 y 2020 presentan correlaciones más elevadas, con valores superiores a 0,44*** en 2019 y 0,47***

en 2020, lo que sugiere que una floración más tardía en los genotipos se traduce en una maduración más retrasada (Figura 3.31). Dicha correlación también ha sido reportada en ciruelo japonés por Salazar *et al.* (2020) en la población '98-99' × 'Angeleno'.

Los caracteres fenológicos evaluados muestran correlaciones significativas elevadas entre los distintos años en las tres poblaciones (Tabla 3.11). La población 'BS×PIO' es la que presenta las correlaciones interanuales más altas para las fechas de floración, con coeficientes de correlación que superan el valor de 0,77^{***}. La población 'RB×BS' muestra valores de correlación por encima de 0,65^{***}, mientras que la progenie 'RB×SRP' presentó coeficientes de correlación ligeramente más bajos, aunque superiores a 0,51^{***}.

En cuanto a la intensidad de floración, la población 'RB×BS' exhibió correlaciones estables de 0,99^{***} durante los tres años, lo que muestra una gran estabilidad a lo largo del tiempo para este carácter. 'RB×SRP' presenta una correlación superior a 0,86^{***} entre años, mientras que la población 'BS×PIO' muestra una correlación más baja con valores superiores a 0,41^{***}. Por último, las correlaciones interanuales para fecha de maduración, periodo de desarrollo del fruto y productividad superaron los coeficientes de correlación de 0,81^{***} en las tres familias (Tabla 3.11).

A pesar de que la mayoría de caracteres fenológicos mostraron diferencias significativas entre años (ver Apartado 3.4.1.2), los coeficientes de correlación entre años han sido elevados. Esto sugiere que, aunque las condiciones ambientales afectan a la fenología, como se ha reportado también en otros estudios previos en ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2020), melocotonero (Minas *et al.*, 2018) y albaricoquero (Salazar *et al.*, 2013), las altas correlaciones interanuales revelan un fuerte efecto genético que determina la expresión de estos caracteres fenológicos, aunque existe también una notable influencia ambiental.

Salazar *et al.* (2020) obtuvieron correlaciones interanuales para fecha de floración en ciruelo japonés no tan elevadas como las obtenidas en el presente estudio, con coeficientes de correlación de Pearson altamente significativos ($p < 0,0001$) entre 0,49 y 0,59. Además, en el caso de la fecha de maduración, encontraron la correlación interanual más alta, con coeficientes de correlación que variaron entre 0,69 y 0,78, valores inferiores a los obtenidos en nuestras tres poblaciones.

Tabla 3.11. Coeficientes de correlación de Spearman entre los años 2019, 2020 y 2021 para los caracteres fenológicos en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). El nivel de significancia del valor p de la correlación se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *, $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***.

Carácter	Año	Población		
		BS×PIO	RB×BS	RB×SRP
Inicio de floración	2019 vs 2020	0,880***	0,898***	0,813***
	2020 vs 2021	0,792***	0,862***	0,553***
	2019 vs 2021	0,805***	0,850***	0,507**
Plena floración	2019 vs 2020	0,876***	0,659***	0,771***
	2020 vs 2021	0,774***	0,648***	0,565**
	2019 vs 2021	0,835***	0,873***	0,522***
Final de floración	2019 vs 2020	0,869***	0,706***	0,765***
	2020 vs 2021	0,788***	0,746***	0,638***
	2019 vs 2021	0,829***	0,977***	0,543**
Intensidad de floración	2019 vs 2020	0,649***	0,999***	0,889***
	2020 vs 2021	0,468***	0,990***	0,864***
	2019 vs 2021	0,407***	0,991***	0,875***
Fecha de maduración	2019 vs 2020	0,898***	0,978***	0,932***
	2020 vs 2021	0,903***	0,975***	0,948***
	2019 vs 2021	0,877***	0,975***	0,959***
Periodo de desarrollo del fruto	2019 vs 2020	0,944***	0,969***	0,858***
	2020 vs 2021	0,966***	0,838***	0,890***
	2019 vs 2021	0,953***	0,813***	0,891***
Productividad	2019 vs 2020	0,949***	0,935***	0,871***
	2020 vs 2021	0,962***	0,953***	0,877***
	2019 vs 2021	0,966***	0,935***	0,812***

3.4.3.2. Correlaciones entre caracteres fenológicos y de calidad del fruto

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado numerosas correlaciones significativas entre distintos caracteres de calidad del fruto y el periodo de desarrollo del fruto (PDF) (Figura 3.29). En concreto, se han observado correlaciones significativas entre el peso del fruto (PF) y los diámetro ecuatorial, sutural y polar durante los tres años. En 2019, 2020 y 2021, los coeficientes de correlación para PF fueron de 0,48***, 0,30*** y 0,50***, respectivamente, mientras que los coeficientes de correlación para el diámetro fueron superiores a 0,42***, 0,25** y 0,48*** en 2019, 2020 y 2021, respectivamente. Estos resultados indican que genotipos con un ciclo de desarrollo más prolongado presentan un tamaño del fruto y peso mayor, coincidiendo con los resultados obtenidos por Salazar *et al.* (2020) en ciruelo japonés.

Además, se han detectado correlaciones significativas, aunque con coeficientes de correlación relativamente bajos, entre el PDF y el porcentaje de hueso roto durante los tres años (0,30*** en 2019, 0,22** en 2020 y 0,20** en 2021), lo que sugiere la posibilidad de que

los genotipos con ciclos de desarrollo del fruto más prolongados presenten un mayor porcentaje de hueso roto. Estos resultados contrastan con los obtenidos previamente en melocotonero y nectarina donde se asocia una mayor incidencia de hueso roto en genotipos que presentan un ciclo de desarrollo del fruto más corto (Malik *et al.*, 2021; Drogoudi & Pantelidis, 2022). El carácter de adhesión del hueso a la pulpa también muestra correlaciones significativas, aunque inversas, con el PDF en los tres años, indicando así que existe una mayor adherencia cuando el ciclo de desarrollo del fruto es más corto. Los coeficientes de correlación son superiores a $-0,40^{***}$ a lo largo de los tres años (Figura 3.29).

La firmeza y el contenido en sólidos solubles (CSS) están estrechamente correlacionados con el PDF durante los tres años en la población 'BS×PIO'. Las correlaciones entre firmeza y PDF presentan unos coeficientes de $0,55^{***}$, $0,54^{***}$ y $0,32^{**}$ en 2019, 2020 y 2021, respectivamente, y entre CSS se observan valores de correlación superiores a $0,56^{***}$ durante los tres años. Estas correlaciones indican la presencia de un mayor contenido en sólidos solubles y mayor firmeza en los genotipos que presentan un periodo de desarrollo del fruto más extenso (Figura 3.29), tal y como indican estudios previos en *Prunus* (Etienne *et al.*, 2002; Quilot *et al.*, 2004; Ruiz & Egea, 2008; Eduardo *et al.*, 2011; Salazar Martínez, 2014; Salazar *et al.*, 2017; 2020).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS' se han identificado igualmente múltiples correlaciones significativas entre caracteres de fenología y de calidad del fruto, como se puede observar en la Figura 3.30. La firmeza del fruto está correlacionada significativamente con FM y PDF, exhibiendo coeficientes de correlación consistentes que superan el valor de $0,50^{***}$ en ambos casos durante los tres años de estudio (Figura 3.30). Estos resultados avalan la hipótesis de que los genotipos que presentan una fecha de maduración más tardía y un periodo de desarrollo del fruto más extenso tienen una firmeza más elevada. Cabe mencionar que esta correlación entre la firmeza y el PDF también se ha observado en la población 'BS×PIO' como se ha indicado anteriormente.

Además, se ha observado que la profundidad de la sutura del fruto también se correlaciona con FM y PDF a lo largo de los tres años, presentando su mayor coeficiente de correlación en 2020 con valores superiores a $0,46^{***}$ para ambos caracteres.

Asimismo, tanto FM como PDF también muestran correlaciones significativas con el color de piel a lo largo de los tres años. Esto sugiere que maduraciones tardías y ciclos de desarrollo del fruto largos están correlacionados con colores de piel del fruto más rojizos (valores de PIEL_H bajos), presentando coeficientes de correlación entre PDF y PIEL_H de $-0,30^{***}$, $-0,54^{***}$ y $-0,42^{***}$, y entre el color visual de piel (CV_PIEL) de $0,31^{***}$, $0,45^{***}$ y $0,32^{***}$ para 2019, 2020 y 2021, respectivamente. Correlaciones similares entre fecha de maduración y el color de piel han sido encontradas por otros autores en poblaciones de melocotonero (Quilot *et al.*, 2004; Eduardo *et al.*, 2011), albaricoquero (Salazar Martínez, 2014) y ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2017, 2020).

Al igual que en la población 'BS×PIO', la adhesión del hueso a la pulpa también muestra una correlación significativa e inversa con PDF a lo largo de los tres años. Los coeficientes de correlación son significativos y tienen valores de -0,25***, -0,22** y -0,40*** para 2019, 2020 y 2021, respectivamente. Adicionalmente, la profundidad de la sutura también se ha visto correlacionada con FM y PDF durante los tres años, destacando las correlaciones más altas en 2020 con coeficientes de correlación superiores a 0,55***.

En contraste con 'BS×PIO', en la población 'RB×BS' se han encontrado correlaciones significativas únicamente entre PDF con el PF y diámetros en el año 2021, presentando coeficientes de correlación superiores a 0,30**.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', también han sido identificadas diversas correlaciones significativas entre caracteres fenológicos y de calidad del fruto, como se puede observar en la Figura 3.31. En esta población se han identificado correlaciones significativas entre el PDF y el calibre del fruto únicamente en el año 2021, presentando coeficientes de correlación superiores a 0,30**. La firmeza del fruto muestra una estrecha relación tanto con FM, similar a lo observado en la población 'RB×BS', como con PDF, en consonancia con las dos poblaciones anteriores. Los coeficientes de correlación para FM son de 0,75***, 0,74*** y 0,47***, mientras que para PDF son de 0,70***, 0,77*** y 0,45*** en 2019, 2020 y 2021, respectivamente.

Por otro lado, cabe destacar que el PF y los diámetros exhiben una correlación significativa y estable durante los tres años con FM y PDF, similar a lo observado en la población 'BS×PIO'. Estas correlaciones muestran sus valores más notables en el año 2019, con coeficientes de correlación superiores a 0,41** para la relación entre FM y PDF con el PF, y valores superiores a 0,34** para la relación entre FM y PDF con el diámetro del fruto. Estos resultados sugieren que aquellos genotipos con una maduración más tardía y con un ciclo de desarrollo más largo, se caracterizan por tener un mayor calibre. Similares resultados fueron reportados en estudios previos en melocotonero y albaricoquero, con una correlación positiva entre la fecha de maduración y el peso del fruto (Badenes *et al.*, 1998; Dirlwanger *et al.*, 1999; López & DeJong, 2007; Ruiz & Egea, 2008; Cantín *et al.*, 2010; Eduardo *et al.*, 2011), así como también con el periodo de desarrollo del fruto (Salazar Martínez, 2014), por lo que en general fechas de maduración tardías suelen dar lugar a un mayor peso y tamaño del fruto.

La adhesión del hueso a la pulpa también presenta una correlación significativa con PDF a lo largo de los tres años, similar a lo observado en las poblaciones 'BS×PIO' y 'RB×BS', presentando en 2020 el coeficiente de correlación más elevado (-0,40***).

En relación con la fecha de floración en esta población, se ha detectado una correlación inversa con la acidez del fruto durante los tres años, si bien los valores de correlación no son muy altos, con un valor de -0,20*. Esto sugiere que los genotipos con floraciones tempranas tienden a tener niveles más altos de acidez en el fruto, como también se ha descrito en algún otro trabajo previo (Badenes *et al.*, 1998).

3.4.3.3. Correlaciones entre caracteres de calidad del fruto

En las tres poblaciones evaluadas se ha identificado correlaciones altamente significativas y sólidas entre el peso del fruto y los diámetros durante los tres años de estudio. Estas correlaciones, con coeficientes de correlación superiores a 0,90*** en cada población, son previsible dado que el peso del fruto tiene un impacto directo en su tamaño (Figuras 3.29, 3.30 y 3.31).

Asimismo, en las tres poblaciones, los diámetros ecuatorial, polar y sutural del fruto exhiben correlaciones significativamente elevadas y consistentes a lo largo de los tres años. Concretamente, los diámetros ecuatorial y sutural presentan una relación más fuerte entre sí, con coeficientes de correlación superiores a 0,96***, 0,93*** y 0,94*** en los tres años para 'BS×PIO', 'RB×BS' y 'RB×SRP' respectivamente. En comparación, la correlación entre el diámetro ecuatorial y el diámetro polar muestra correlaciones algo más bajas, a partir de 0,77***, 0,75*** y 0,74*** para 'BS×PIO', 'RB×BS' y 'RB×SRP', respectivamente. Esta diferencia puede deberse a la presencia de frutos achatados y acorazonados, donde los diámetros ecuatorial y sutural no coinciden tan estrechamente con el diámetro polar como lo hacen en los frutos redondeados (Figuras 3.29, 3.30 y 3.31) tal y como ha sido observado por Salazar *et al.* (2020) en ciruelo japonés.

Por otra parte, los resultados del fenotipado muestran una relación inversa y significativa entre el peso y el tamaño del fruto con la adhesión del hueso a la pulpa en las tres poblaciones. Esto sugiere que los frutos más pequeños tienden a tener una mayor adhesión del hueso a la pulpa. Este patrón es particularmente significativo en 2021 en la población 'BS×PIO' y en 2019 en 'RB×BS' y 'RB×SRP', con coeficientes de correlación por encima de -0,40*** para todas las poblaciones (Figuras 3.29, 3.30 y 3.31).

También se encontró una correlación significativa entre el tamaño del fruto y el porcentaje de hueso roto en las tres poblaciones a lo largo de los tres años, presentando correlaciones con valores superiores a 0,40*** en las tres poblaciones, lo que sugiere que los frutos más grandes tienen una mayor probabilidad de presentar hueso roto (Figuras 3.29, 3.30 y 3.31). Esta correlación también se ha observado en cultivares de melocotón y nectarina, donde un mayor tamaño de fruto fue asociado a una mayor incidencia de hueso roto (Malik *et al.*, 2021; Drogoudi & Pantelidis, 2022), así como en ciruelo japonés (Kritzinger *et al.*, 2017).

Respecto a los parámetros que miden el color del fruto, la luminosidad (L), la intensidad (C) y el tono (°H), se observan correlaciones altas y estables en las tres poblaciones a lo largo de los tres años, tanto de piel como de pulpa (Figuras 3.29, 3.30 y 3.31), con coeficientes de correlación superiores a 0,80***, excepto el parámetro de intensidad de color (C) en la pulpa, que no presenta una correlación estable con el resto de parámetros de color en las tres poblaciones. Debido a estas altas correlaciones y a que el parámetro °H de color es el más comprensible desde un punto de vista objetivo y el que mejor refleja el color resultante del sistema de coordenadas empleado para la medición analítica del color, es el que se ha utilizado en este trabajo para referirse a la medición analítica del color, tanto de piel como de pulpa.

En cuanto a las correlaciones entre los parámetros de color medidos analíticamente (PIEL_°H y PULPA_°H) y la determinación visual del color (CV_PIEL y CV_PULPA), se han encontrado correlaciones elevadas que varían de 0,70*** a 0,93*** según la población y el año (Figuras 3.29, 3.30 y 3.31). Estas correlaciones tan elevadas respaldan la categorización exitosa del color realizada en las tres poblaciones.

El color también se ha visto correlacionado en las tres poblaciones a lo largo de los tres años de estudio con la cantidad de lenticelas. En la población 'BS×PIO', se ha observado una correlación entre la presencia de lenticelas y el color tanto de piel como de pulpa, con coeficientes de correlación superiores a -0,44*** con el color visual de piel y a 0,56*** con el color visual de pulpa durante todo el periodo de estudio (Figura 3.29). Por otro lado, las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' presentan una correlación significativa solamente entre la cantidad de lenticelas y el color de piel, exhibiendo coeficientes de correlación superiores a -0,50*** en el caso de 'RB×BS' y a -0,30* en 'RB×SRP' (Figuras 3.30 y 3.31). Estas correlaciones inversas sugieren que los frutos con colores más oscuros, como negro o rojo profundo, tienden a tener una menor cantidad de lenticelas en comparación con los frutos de tonos más claros, como el rojo claro y el amarillo. Mientras que la correlación positiva entre el color de pulpa y cantidad de lenticelas en la población 'BS×PIO' sugiere que los frutos con una coloración de pulpa roja presentan una mayor cantidad de lenticelas en la piel.

Como era esperable, el pH y la acidez del fruto, han mostrado una correlación elevada y significativa en las tres poblaciones a lo largo de los tres años (Figuras 3.29, 3.30 y 3.31), dado que son parámetros inversamente correlacionados, lo que significa que a medida que la acidez aumenta el pH tiende a disminuir, y viceversa.

Por otra parte, en la población 'BS×PIO' se han identificado correlaciones significativas entre el peso y el diámetro del fruto con numerosos caracteres físicos y organolépticos, tales como son la firmeza, el color de la piel, el contenido en sólidos solubles y la acidez entre otros (Figura 3.29). Concretamente, las correlaciones entre el peso y el diámetro con la firmeza son significativas a lo largo de los tres años de estudio, presentando valores máximos de 0,45*** en 2019, estableciendo una conexión entre frutos de mayor peso y calibre con una mayor firmeza. Además, los resultados revelan que el tamaño y peso del fruto parecen estar vinculados significativamente con el contenido en sólidos solubles y la acidez. En concreto, el peso presenta una correlación positiva con el contenido en sólidos solubles, con coeficientes de correlación superiores a 0,30*** en 2019 y 2021, mientras que se correlaciona inversamente con la acidez, con coeficientes de correlación de -0,30**, -0,29* y -0,35*** para 2019, 2020 y 2021, respectivamente. Estas correlaciones indican que los frutos de mayor peso y calibre presentan un mayor contenido en sólidos solubles y una menor acidez, tal y como también se ha sugerido en otros estudios en ciruelo japonés al presentar un patrón de correlaciones similares entre estos caracteres (Salazar *et al.*, 2020).

En relación al contenido en sólidos solubles, también se ha establecido una correlación inversa y significativa con el color de piel (°H) a lo largo de los tres años. Esto indica que los

colores de piel más rojizos (valores menores de °H) están vinculados a un mayor contenido en sólidos solubles, mostrando coeficientes de correlación de -0,35***, -0,49*** y -0,43*** en 2019, 2020 y 2021 respectivamente (Figura 3.29), tal y como se ha observado en estudios previos de ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2017, 2020).

Por último, en la población 'RB×SRP', además de las correlaciones previamente mencionadas, se destaca una correlación significativa y consistente a lo largo de los tres años entre el contenido en sólidos solubles y el color de pulpa. Esta correlación, evidenciada por coeficientes de correlación de -0,20* en 2019 y 2020, y de -0,43*** en 2021, sugiere que los frutos con una coloración de pulpa roja (valores menores de °H) presentan un mayor contenido de sólidos solubles (Figura 3.31).

En relación a las correlaciones interanuales de los caracteres evaluados que definen la calidad del fruto, se evidencian relaciones estables y significativas entre los distintos años en las tres poblaciones, tanto en lo que respecta a las características físicas (Tabla 3.12) como organolépticas (Tabla 3.13).

En cuanto a las correlaciones interanuales de los caracteres físicos (Tabla 3.12), los caracteres de color visual del fruto, tanto de piel como de pulpa, muestran correlaciones de 1*** entre años en las tres poblaciones, a excepción del color de fondo y piel del fruto en el caso de la población 'BS×PIO', que mostró igualmente correlaciones altamente elevadas y significativas con coeficientes de correlación superiores a 0,80*** para ambos caracteres en los tres años. Además, los caracteres que miden la luminosidad (parámetro L), intensidad (parámetro C) y tono de color (parámetro °H) tanto de piel como de pulpa, exhiben correlaciones interanuales sólidas, superiores a 0,71*** en las tres poblaciones.

La forma del fruto mostró una correlación de 1*** entre años en las tres familias. Estos resultados indican que la forma del fruto está determinada genéticamente en ciruelo japonés, sin existir una influencia de las condiciones ambientales. También la cantidad de lenticelas presentes en la epidermis del fruto mostró correlaciones de 1*** en las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP', mientras que en la población 'BS×PIO' se evidencia una cierta variabilidad interanual, siendo más notable en las correlaciones entre 2020 y 2021 con un coeficiente de correlación de 0,65*** (Tabla 3.12).

Por otro lado, la profundidad de la sutura del fruto presenta diferencias entre las poblaciones. Mientras que 'RB×BS' y 'RB × SRP' presentan correlaciones notables y consistentes entre años, en la población 'BS×PIO' se aprecian correlaciones interanuales más bajas, especialmente en 2021, con coeficientes de 0,13*** entre 2019 y 2021 para este carácter (Tabla 3.12).

En cuanto a las correlaciones interanuales del peso del fruto y los distintos diámetros, las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' presentan coeficientes de correlación muy elevados y altamente significativos con valores superiores a 0,87*** en 'RB×BS' y a 0,91*** en 'RB×SRP' para ambos caracteres. La población 'BS×PIO' exhibe coeficientes de correlación interanual

superiores a 0,77*** para el peso del fruto y a 0,65*** para los diámetros, siendo, por tanto, inferiores a las otras dos poblaciones, pero aun así elevados y significativos (Tabla 3.12). Salazar *et al.*, (2017, 2020) también encontraron correlaciones interanuales para el peso del fruto significativas, con coeficientes de correlación que oscilaron entre 0,54 y 0,68 en función del año.

El porcentaje de hueso roto exhibe una mayor correlación interanual en las poblaciones 'BS×PIO' y 'RB×SRP' presentando coeficientes de correlación superiores a 0,56*** en ambas poblaciones, mientras que en la población 'RB×BS' los coeficientes de correlación son algo inferiores. Esta correlación concuerda con otros estudios en *Prunus* donde se indica que la susceptibilidad a presentar una mayor incidencia de hueso roto, además de estar determinada por una componente genética, presenta una fuerte influencia de las condiciones ambientales (Kritzinger *et al.*, 2017; Malik *et al.*, 2021; Drogoudi & Pantelidis, 2022). Por otro lado, la adherencia del hueso a la pulpa presenta correlación interanual alta en las tres poblaciones presentando coeficientes de correlación superiores a 0,78*** (Tabla 3.12).

Respecto a la firmeza del fruto, se observaron diferencias entre las poblaciones evaluadas. Las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP' presentaron coeficientes de correlación interanual superiores a 0,90***, lo que indica que en estas familias este carácter está determinado genéticamente con escasa influencia ambiental. Sin embargo, esta correlación interanual es menor en la población 'BS×PIO', particularmente al comparar con el año 2021, donde se muestran coeficientes de correlación de 0,43*** con 2019 y 0,45** con 2020 (Tabla 3.12). Esto indica que, dependiendo del fondo genético de los cruzamientos, la variabilidad interanual de la firmeza puede ser menor o mayor.

En cuanto a las correlaciones interanuales para los caracteres organolépticos evaluados que definen la calidad del fruto, los resultados muestran correlaciones elevadas y altamente significativas en las tres poblaciones (Tabla 3.13). No obstante, la población 'BS×PIO' muestra correlaciones ligeramente menores en comparación con las otras dos familias en todos los caracteres, de forma similar a lo observado para el carácter firmeza del fruto. El contenido en sólidos solubles presenta correlaciones interanuales superiores a 0,93*** en 'RB×BS' y 'RB×SRP', mientras que en 'BS×PIO' los coeficientes son superiores a 0,55***. El pH del fruto también presenta correlaciones interanuales sólidas superiores a 0,76*** en 'RB×BS' y a 0,84*** en 'RB×SRP', mientras que 'BS×PIO' presenta coeficientes máximos de 0,67***. En cuanto a la acidez del fruto, las correlaciones interanuales fueron superiores a 0,97*** en 'RB×SRP', superiores a 0,90*** en 'RB×BS' y a 0,78** en 'BS×PIO'.

Las correlaciones interanuales excepcionalmente altas que se han observado en los caracteres organolépticos en este estudio contrastan con las obtenidas por Salazar *et al.* (2020) en ciruelo japonés. En su estudio, encontraron correlaciones significativas, aunque con coeficientes de correlación inferiores. En particular, para la acidez, las correlaciones oscilaron entre 0,36 y 0,50, mientras que para el contenido en sólidos solubles variaron entre 0,22 y 0,41, dependiendo del año de estudio. Estos resultados sugieren que las condiciones ambientales tienen una incidencia variable en los caracteres organolépticos dependiendo del fondo

genético de los genotipos, lo que lleva a menores o mayores diferencias interanuales en la expresión de estos caracteres.



Tabla 3.12. Coeficientes de correlación de Spearman entre los años 2019, 2020 y 2021 para los caracteres físicos de calidad del fruto en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). El nivel de significancia del valor *p* de la correlación se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***. El año 2019 se representa como 19, el año 2020 como 20 y el año 2021 como 21.

Carácter	Año	Población			Carácter	Año	Población		
		BS×PIO	RB×BS	RB×SRP			BS×PIO	RB×BS	RB×SRP
Peso del fruto	19 vs 20	0,786***	0,931***	0,962***	Color visual de fondo	19 vs 20	0,971***	1,000***	1,000***
	20 vs 21	0,775***	0,954***	0,930***		20 vs 21	0,816***	1,000***	1,000***
	19 vs 21	0,827***	0,918***	0,956***		19 vs 21	0,840***	1,000***	1,000***
Diámetro ecuatorial	19 vs 20	0,674***	0,942***	0,937***	Color visual de piel	19 vs 20	0,979***	1,000***	1,000***
	20 vs 21	0,658***	0,950***	0,919***		20 vs 21	0,887***	1,000***	1,000***
	19 vs 21	0,769***	0,937***	0,939***		19 vs 21	0,887***	1,000***	1,000***
Diámetro sutural	19 vs 20	0,712***	0,931***	0,954***	Color visual de pulpa	19 vs 20	1,000***	1,000***	1,000***
	20 vs 21	0,706***	0,878***	0,942***		20 vs 21	1,000***	1,000***	1,000***
	19 vs 21	0,771***	0,876***	0,956***		19 vs 21	1,000***	1,000***	1,000***
Diámetro polar	19 vs 20	0,776***	0,956***	0,958***	Color piel (L)	19 vs 20	0,829***	0,907***	0,942***
	20 vs 21	0,761***	0,968***	0,957***		20 vs 21	0,825***	0,844***	0,905***
	19 vs 21	0,814***	0,979***	0,954***		19 vs 21	0,779***	0,845***	0,953***
Forma	19 vs 20	1,000***	1,000***	1,000***	Color piel (C)	19 vs 20	0,869***	0,963***	0,968***
	20 vs 21	1,000***	1,000***	1,000***		20 vs 21	0,802***	0,959***	0,951***
	19 vs 21	1,000***	1,000***	1,000***		19 vs 21	0,788***	0,954***	0,961***
Lenticelas	19 vs 20	0,849***	1,000***	1,000***	Color piel (H)	19 vs 20	0,761***	0,914***	0,910***
	20 vs 21	0,648***	1,000***	1,000***		20 vs 21	0,804***	0,942***	0,915***
	19 vs 21	0,690***	1,000***	1,000***		19 vs 21	0,710***	0,948***	0,938***
Hueso roto	19 vs 20	0,757***	0,531***	0,827***	Color pulpa (L)	19 vs 20	0,913***	0,958***	0,864***
	20 vs 21	0,628***	0,384***	0,577***		20 vs 21	0,921***	0,960***	0,824***
	19 vs 21	0,560***	0,389**	0,696***		19 vs 21	0,898***	0,958***	0,910***
Adhesión	19 vs 20	0,856***	0,917***	0,941***	Color pulpa (C)	19 vs 20	0,832***	0,851***	0,973***
	20 vs 21	0,836***	0,859***	0,896***		20 vs 21	0,760***	0,752***	0,961***
	19 vs 21	0,787***	0,877***	0,930***		19 vs 21	0,798***	0,748***	0,956***
Profundidad sutura	19 vs 20	0,521***	1,000***	1,000***	Color pulpa (H)	19 vs 20	0,881***	0,950***	0,838***
	20 vs 21	0,227***	0,983***	1,000***		20 vs 21	0,932***	0,855***	0,831***
	19 vs 21	0,134***	0,983***	1,000***		19 vs 21	0,887***	0,851***	0,886***
Firmeza	19 vs 20	0,673***	0,953***	0,952***					
	20 vs 21	0,447***	0,939***	0,934***					
	19 vs 21	0,430***	0,923***	0,915***					

Tabla 3.13. Coeficientes de correlación de Spearman entre los años 2019, 2020 y 2021 para los caracteres organolépticos de calidad del fruto en las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP). El nivel de significancia del valor p de la correlación se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***.

Carácter	Año	Población		
		BS×PIO	RB×BS	RB×SRP
Contenido en sólidos solubles	2019 vs 2020	0,555***	0,948***	0,947***
	2020 vs 2021	0,635***	0,943***	0,930***
	2019 vs 2021	0,616***	0,963***	0,942***
pH	2019 vs 2020	0,557***	0,855***	0,964***
	2020 vs 2021	0,672***	0,763***	0,843***
	2019 vs 2021	0,564***	0,869***	0,882***
Acidez	2019 vs 2020	0,791***	0,899***	0,965***
	2020 vs 2021	0,797***	0,934***	0,972***
	2019 vs 2021	0,776***	0,931***	0,971***



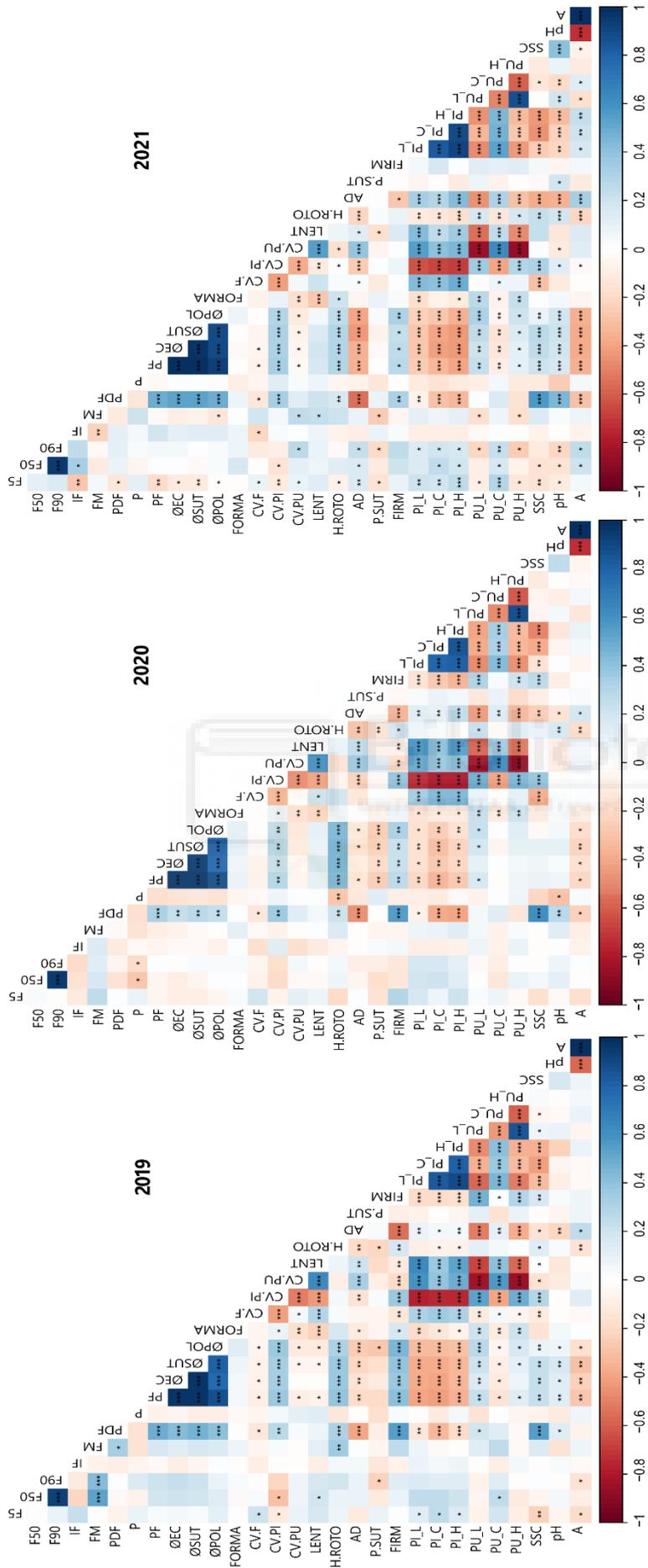


Figura 3.29. Mapas de calor de la correlación de Spearman entre las distintas variables evaluadas a lo largo de tres años de estudio en la población 'Black Splendor' x 'Pioneer'. Las variables representadas son el inicio de la floración (F5), plena floración (F90), final de la floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF), productividad (P), peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (ØEC), diámetro polar (ØPOL), diámetro sutural (ØSUT), forma del fruto (FORMA), profundidad de la sutura (P.SUT), presencia de lenticelas en la piel (LENT), adhesión del hueso a la pulpa (AD), porcentaje de hueso roto (H.ROTO), color visual de fondo (CV.F), color visual de piel (CV.PI), luminosidad color de pulpa (PU.L), intensidad del color de piel (PI.C), tono de color de piel (PI.H), luminosidad color de pulpa (PU.L), intensidad del color de pulpa (PU.H), firmeza del fruto (FIRM), contenido en sólidos solubles (SSC), pH del fruto (pH), acidez (A). Dentro de cada módulo, el nivel de significancia del valor p de cada correlación se indica con asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *; $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***.

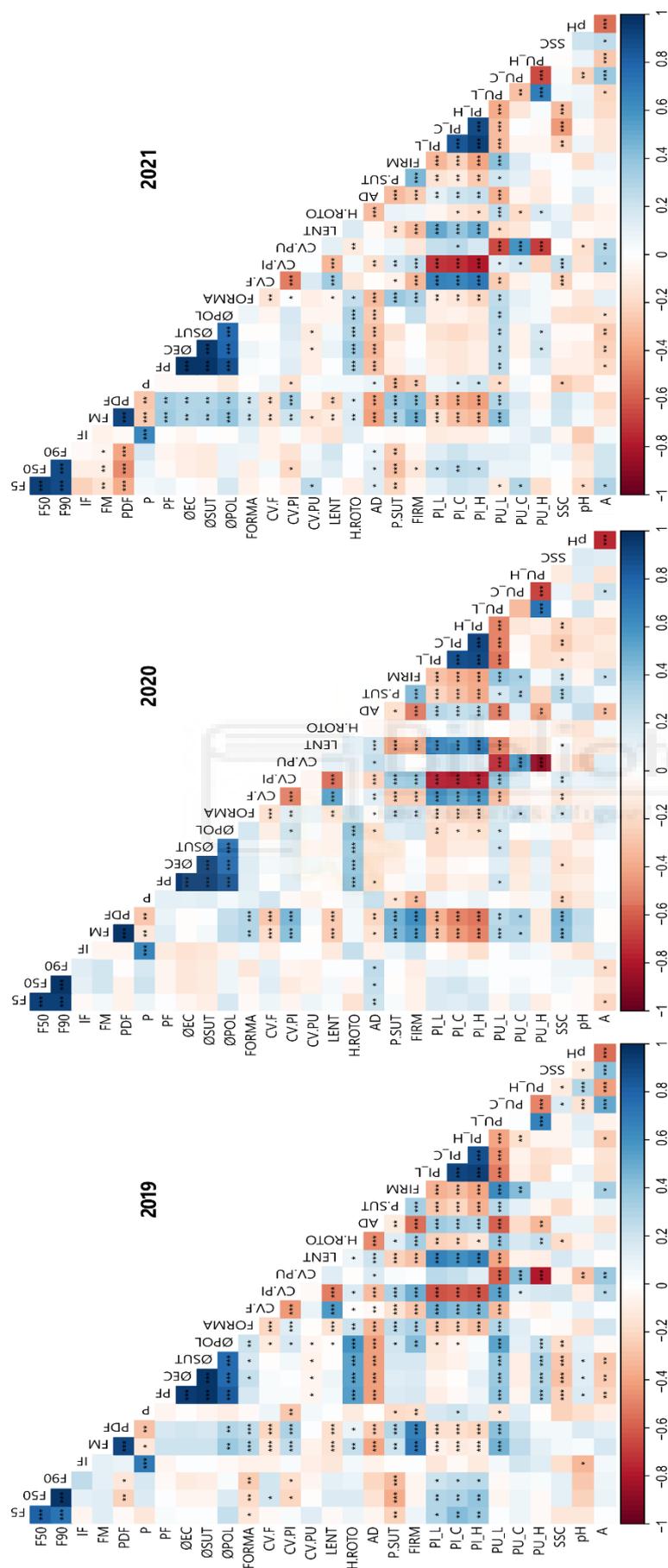


Figura 3.30. Mapas de calor de la correlación de Spearman entre las distintas variables evaluadas a lo largo de tres años de estudio en la población ‘Red Beaut’ x ‘Black Splendor’. Las variables representadas son el inicio de la floración (F5), plena floración (F90), final de la floración (F50), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF), productividad (P), peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (ØEC), diámetro polar (ØPOL), diámetro sutural (ØSUT), forma del fruto (FORMA), profundidad de la sutura (P.SUT), presencia de lenticelas en la piel (LENT), adhesión del hueso a la pulpa (AD), porcentaje de hueso roto (H.ROTO), color visual de fondo (CV.F), color visual de pulpa (CV.PI), color visual de pulpa (CV.PU), luminosidad color de piel (P.L), intensidad del color de piel (P.L.C), tono de color de piel (P.L.H), luminosidad color de pulpa (P.U.C), tono de color de pulpa (P.U.H), firmeza del fruto (FIRM), contenido en sólidos solubles (SSC), pH del fruto (pH), acidez (A). Dentro de cada módulo, el nivel de significancia del valor p de cada correlación se indica con asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *, $p < 0,01$ como ** y $p < 0,001$ como ***.

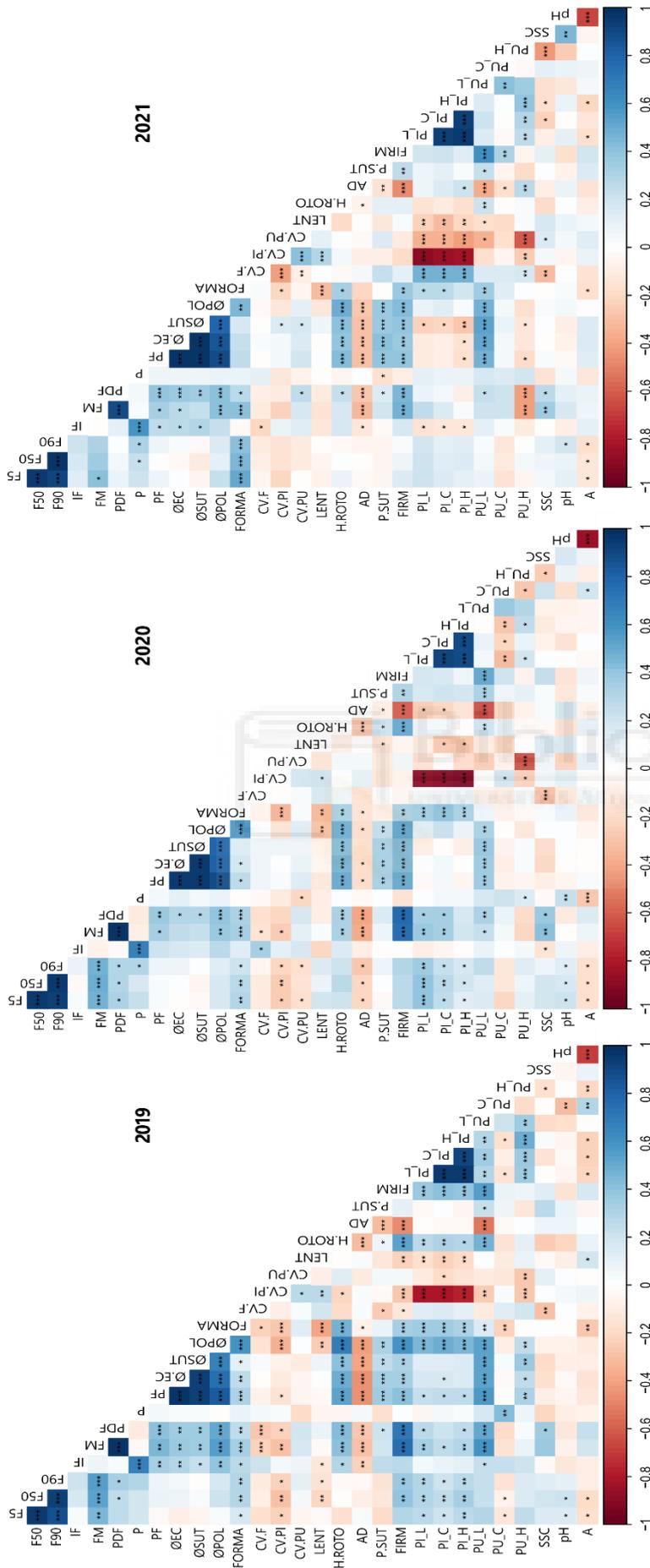


Figura 3.31. Mapas de calor de la correlación de Spearman entre las distintas variables evaluadas a lo largo de tres años de estudio en la población ‘Red Beut’ x ‘Santa Rosa Precoz’. Las variables representadas son el inicio de la floración (F5), plena floración (F50), final de la floración (F90), intensidad de floración (IF), fecha de maduración (FM), periodo de desarrollo del fruto (PDF), productividad (P), peso del fruto (PF), diámetro ecuatorial (ØPOL), diámetro sutural (ØSUT), forma del fruto (FORMA), profundidad de la sutura (P.SUT), presencia de lenticelas en la piel (LENT), adhesión del hueso a la pulpa (AD), porcentaje de hueso roto (H.ROTO), color visual de fondo (CV.F), color visual de piel (CV.PI), color visual de pulpa (CV.PU), luminosidad color de piel (PI.L), intensidad del color de piel (PI.C), tono de color de piel (PI.H), luminosidad color de pulpa (PU.L), intensidad del color de pulpa (PU.C), tono de color de pulpa (PU.H), firmeza del fruto (FIRM), contenido en sólidos solubles (SSC), pH del fruto (pH), acidez (A). Dentro de cada módulo, el nivel de significancia del valor p de cada correlación se indica con asteriscos (*), donde $p < 0,05$ se representa como *, $p < 0,01$ como **, $p < 0,001$ como ***.

3.5. CONCLUSIONES

I. Los resultados derivados del análisis de las tres poblaciones objeto de estudio exhiben una gran diversidad y segregación fenotípica en todos los caracteres evaluados, corroborando la naturaleza segregante de las poblaciones, condición indispensable para abordar los objetivos planteados en la presente tesis doctoral.

II. La alta variabilidad y segregación observada en las descendencias de las tres poblaciones estudiadas, así como la presencia de fenotipos transgresivos en comparación con los progenitores en todos los caracteres fenológicos, puede atribuirse de manera significativa a la influencia del fondo genético de los parentales. El fondo genético presente en la especie ciruelo japonés y la naturaleza autoincompatible de la especie incrementa la variabilidad genética y la heterocigosis en comparación con otras especies del género *Prunus*. Un ejemplo muy representativo es la presencia de genotipos con coloración de piel amarilla en la descendencia de las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP', a pesar de que ninguno de los parentales exhibe esta característica, lo que demuestra la influencia significativa del patrimonio genético de las variedades 'RB' y 'SRP', que poseen pedigrís complejos, producto de cruzamientos con distintas especies de *Prunus*.

III. Los caracteres fenológicos han presentado las diferencias más significativas entre años en las tres poblaciones, excepto en la intensidad de floración y la productividad. Esta variabilidad interanual está influenciada por las condiciones climáticas anuales, sobre todo por la temperatura, que determina la satisfacción de las necesidades de frío para la salida del letargo y las necesidades de calor para florecer, lo que condiciona las fechas de floración y maduración. Por otro lado, los caracteres de calidad del fruto no presentan diferencias significativas entre años, excepto en el contenido en sólidos solubles y el pH en la población 'BS×PIO'. Esto sugiere que la componente genética tiene una influencia considerablemente mayor que la ambiental en la expresión de estos caracteres de calidad.

IV. Tanto los análisis estadísticos como los histogramas de frecuencias revelan una distribución no paramétrica en todos los caracteres fenológicos evaluados y en la mayoría de los caracteres físicos que determinan la calidad del fruto, con la excepción del peso y diámetros evaluados, que presentan una distribución normal. Asimismo, todos los caracteres organolépticos analizados exhiben una distribución normal en las tres poblaciones. Se debe destacar que el color de pulpa en las poblaciones 'BS×PIO' y 'RB×BS' presenta una distribución bimodal, diferenciando entre genotipos con pulpa roja y pulpa amarilla. En contraste, la población 'RB×SRP' muestra una distribución asimétrica negativa, abarcando desde una coloración de pulpa anaranjada y bicolor hasta un color amarillo.

V. La mayoría de los caracteres evaluados muestran una herencia cuantitativa, lo que avala su naturaleza poligénica, con la excepción del color de pulpa, que muestra una herencia cualitativa debido presumiblemente a su carácter oligogénico o monogénico.

VI. En relación con las correlaciones obtenidas entre caracteres, destacan los esperados elevados coeficientes de correlación entre las distintas fechas floración (F5, F50 y F90) y fecha de maduración (FM)/periodo de desarrollo del fruto (PDF), así como las correlaciones significativas entre PDF/peso/diámetro, FM/PDF/firmeza y PDF/firmeza/contenido en sólidos solubles. El color de la piel y pulpa también se ha visto correlacionado en las tres poblaciones a lo largo de los tres años de estudio con el contenido en sólidos solubles (colores de piel más rojizos están vinculados a un mayor contenido en sólidos solubles) y con la cantidad de lenticelas presentes en la piel.





4. GENOTIPADO, CONSTRUCCIÓN DE MAPAS DE LIGAMIENTO GENÉTICO Y ANÁLISIS DE QTLs

4. GENOTIPADO, CONSTRUCCIÓN DE MAPAS DE LIGAMIENTO GENÉTICO Y ANÁLISIS DE QTLs

4.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Al igual que otras especies del género *Prunus* y otros cultivos leñosos, los ciruelos tienen ciclos de mejora varietal muy extensos debido a los largos periodos de juvenilidad, la biología reproductiva compleja y el alto grado de heterocigosidad que presentan (van Nocker & Gardiner, 2014; Petri *et al.*, 2018). Sin embargo, el desarrollo de nuevas variedades es de suma importancia en el caso de la ciruela, dado que en la actualidad la producción mundial depende en gran medida de un número limitado de variedades tradicionales que presentan diferentes limitaciones (Salazar *et al.*, 2017; Ruiz *et al.*, 2010a, 2019). Aunque los programas de mejora genéticos de ciruelo más avanzados se realizan principalmente en California (Okie & Ramming, 1999), se están llevando a cabo esfuerzos significativos en varios países como China, Japón, Chile y España (Hartmann & Neumüller, 2009; Topp *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013; Ruiz *et al.*, 2019; Guevara *et al.*, 2021). La mejora de características fenológicas, como la fecha de floración o la fecha de maduración, así como de características de calidad del fruto, son los principales objetivos de estos programas (Okie & Ramming, 1999; Topp *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*, 2019; Petri *et al.*, 2020).

El uso de enfoques biotecnológicos, tales como la selección asistida por marcadores (MAS) y la genómica, puede ayudar significativamente a la optimización de los programas de mejora genética de la especie ciruelo japonés. Hasta la fecha, la disponibilidad de marcadores moleculares en ciruelo japonés es muy limitada, enfocándose principalmente en la identificación de los alelos de autoincompatibilidad, lo que facilita la evaluación de la compatibilidad entre genotipos y la planificación estratégica de los cruzamientos (Guerra *et al.*, 2012; Guerra & Rodrigo, 2015). Más recientemente, se han desarrollado marcadores moleculares para el color de la piel (Fiol *et al.*, 2021) y el color de la pulpa (Fiol *et al.*, 2022), permitiendo la determinación precisa de la presencia o ausencia de pigmentación roja en ambos tejidos.

En los últimos años, se han identificado numerosos QTLs en especies de *Prunus* relacionados con la resistencia a plagas y enfermedades, floración, maduración y calidad del fruto y la semilla (Salazar *et al.*, 2014) (Tabla 1.1, Apartado 1.2.3). Sin embargo, en comparación con otras especies del género *Prunus*, en el ciruelo japonés pocos estudios se han centrado en la identificación QTLs relacionados con características fenológicas y de calidad del fruto (Salazar *et al.*, 2017, 2020; Valderrama-Soto *et al.*, 2021). Estos estudios han identificado QTLs para rasgos como el tiempo de floración, la fecha de maduración, peso del fruto y el contenido de flavonoides, entre otros, y han utilizado predominantemente el mapeo de ligamiento genético basado en genotipado por secuenciación (GBS). El principal inconveniente de estos estudios es que los autores utilizaron el genoma del melocotón (v1.0 y v2.0) (Verde *et al.*, 2013,

2017) como referencia para el mapeo de lecturas, atendiendo a la alta sintenia entre las especies de *Prunus* (Dirlewanger *et al.*, 2012).

Más recientemente, la disponibilidad de un nuevo genoma de referencia para *P. salicina* ha permitido mejorar estos resultados previos por parte de Battistoni *et al.* (2022). Estos autores emplearon el genoma del cultivar 'Sanyueli' (Liu *et al.*, 2020) para mejorar los mapas de ligamiento anteriores y elucidar QTLs asociados con el contenido de compuestos fenólicos, específicamente del subgrupo de flavonoides flavan-3-oles. Aunque el GBS es un método relativamente económico para genotipar un gran número de muestras y proporciona más SNPs que los arrays de SNPs (Wang *et al.*, 2020b), en los últimos diez años se han desarrollado nuevas aplicaciones basadas en la representación reducida del genoma, lo que reduce considerablemente el coste de la secuenciación (Kumar *et al.*, 2021). Otra opción rentable para una población F1, típicamente utilizada en el mejoramiento de árboles frutales, fue propuesta recientemente por Navarro *et al.* (2023). Estos autores sugirieron que el uso del algoritmo *Smooth Descent* (SD), un método iterativo para la detección de errores de genotipado, combinado con secuenciación de lecturas largas en los padres y secuenciación de baja profundidad con lecturas cortas en los descendientes, reduciría los costes de genotipado. Sin embargo, la aplicación de estos nuevos enfoques es aún escasa en el ciruelo japonés y en las especies de *Prunus* en general.

El objetivo de este capítulo es la caracterización molecular de tres poblaciones de ciruelo japonés implementando una estrategia novedosa de genotipado en frutales mediante la combinación de la secuenciación de alta cobertura *Whole Genome Sequencing* (WGS) de los parentales de las poblaciones y baja cobertura (*Low Coverage Whole Genome Sequencing* (LcWGS) en las descendencias, así como la construcción de mapas de ligamiento genético e identificación de regiones del genoma asociados a caracteres de interés (QTLs) de fenología y calidad del fruto en las tres poblaciones segregantes objeto de estudio.

4.2. MATERIAL VEGETAL

El material vegetal empleado para la construcción de los mapas de ligamiento genético y análisis de QTLs lo compusieron los parentales de las tres poblaciones objeto de estudio ('Black Splendor', 'Pioneer', 'Red Beaut' y 'Santa Rosa Precoz') así como los descendientes de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' ('BS×PIO'), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' ('RB×BS') y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' ('RB×SRP'), con 121, 103 y 103 individuos cada una respectivamente, previamente descritas en el Capítulo 2 de la presente tesis.

4.3. METODOLOGÍA

El proceso de caracterización molecular de las poblaciones requirió de la toma de muestras de hoja, la extracción y cuantificación del ADN, la secuenciación del genoma completo a alta cobertura de los parentales y el ensamblado *de novo* de sus genomas, así como el genotipado por secuenciación de los descendientes de cada población. Posteriormente se procedió al análisis estadístico para la construcción de los mapas de ligamiento genético y, tras la integración de los datos fenotípicos, la detección de QTLs. Un resumen detallado de la metodología empleada en el presente capítulo se puede observar en la Figura 4.1.



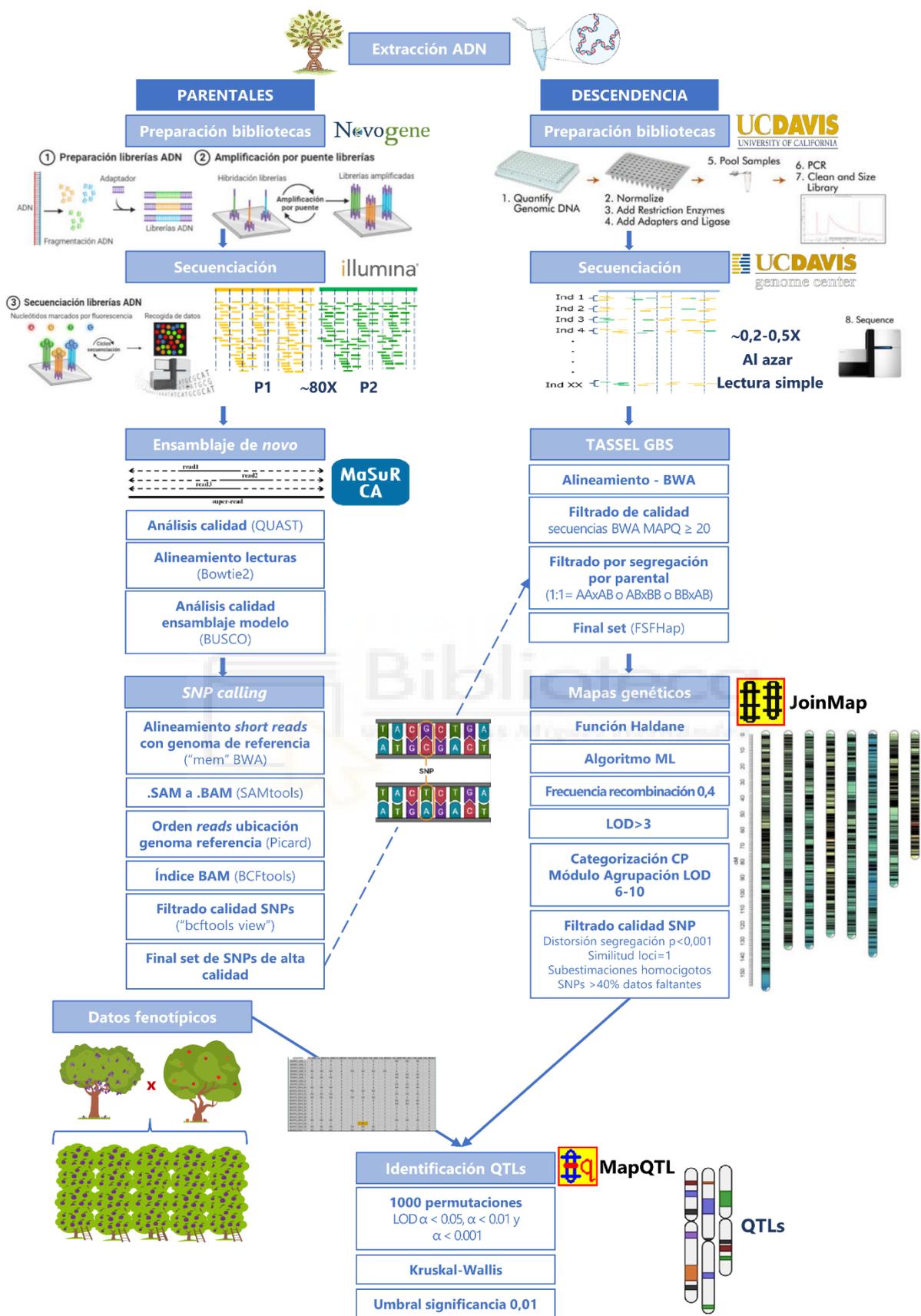


Figura 4.1. Esquema de la metodología empleada en la elaboración del presente capítulo.

4.3.1. Toma de muestras, extracción y cuantificación de ADN

Se recolectaron hojas jóvenes de los genotipos estudiados durante la estación primaveral para garantizar un mayor rendimiento en la extracción de ADN, que fueron congeladas y conservadas a -80°C hasta su posterior extracción. El ADN genómico fue extraído siguiendo el método CTAB descrito en Sonneveld *et al.* (2001), siendo este una modificación del propuesto por Doyle & Doyle (1987).

Para cada extracción se emplearon aproximadamente 50 mg de un pool de hojas congeladas en nitrógeno líquido, que fueron trituradas mediante un molino de mezclador (modelo MM 400 de Retsch) incorporando dos bolas de acero inoxidable de 3,5 mm de diámetro en tubos Eppendorf de 2 ml hasta obtener un polvo muy fino. A cada tubo se le añadieron 750 μl de tampón de extracción [100 mM de Tris-HCl, 1,4 M de NaCl, 20 mM de EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), 2% de CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio), 2% de PVP40 (polivinilpirrolidona de peso molecular 40.000), 1% de β -mercaptoetanol] a 65°C . Las muestras se mezclaron mediante inversión y fueron incubadas a 65°C durante 10 minutos. A continuación, se añadieron 750 μl de cloroformo:isoamilalcohol (24:1) y se homogeneizó durante tres minutos. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas en una microcentrífuga durante 10 minutos a 14.000 rpm, y la fase superior resultante fue recuperada, transfiriéndose a un tubo Eppendorf de 1,5 ml donde se le añadió 450 μl de isopropanol a -20°C . El contenido del tubo se mezcló cuidadosamente por inversión para que se produjese la precipitación de ADN, y fue centrifugado a 14.000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante fue eliminado mediante decantación, y seguidamente el sedimento (pellet) de ADN formado se lavó con 500 μl de etanol al 70% (conservado a -20°C). Tras este paso se centrifugó a 14.000 rpm durante 10 minutos, se eliminó el sobrenadante y se secó el pellet de ADN a temperatura ambiente dejando los tubos abiertos sobre papel secante. Finalmente, el pellet se resuspendió en 50 μl de agua estéril filtrada tratada con DEPC (dietilpirocarbonato) y se incubó con ARNasa (10 ng/ml) a 37°C durante 30 minutos para degradar el posible ARN presente en la extracción.

Tras las extracciones, el ADN fue cuantificado para asegurar que las muestras alcanzaban las recomendaciones de la empresa Novogene Co. (Cambridge, Reino Unido), contratada para llevar a cabo la secuenciación a alta cobertura de los parentales. Esto se realizó mediante espectrofotometría usando un NanoDrop modelo ND-1000 (ThermoScientific). Además, se comprobó la pureza y la presencia de contaminantes en las muestras, cumpliendo todos los requisitos de la empresa ($\geq 0,4$ μg de ADN; volumen ≥ 20 μl ; concentración ≥ 10 ng/ μl ; pureza OD160/180 = 1,8-2; sin contaminantes ni degradación). Cada muestra se diluyó a la concentración final esperada de 50 ng/ μl .

4.3.2. Secuenciación y ensamblado *de novo* del genoma completo de los genitores

El genoma completo de cada genitor fue secuenciado en profundidad, con una cobertura de 80X, por la empresa Novogene Co. Para ello, el ADN genómico se fragmentó aleatoriamente mediante sonicación y los fragmentos de ADN se sometieron a un proceso de pulido de extremos, se les añadió una cola de adenina (A-tail), y se ligaron con los adaptadores completos utilizados en la secuenciación de Illumina. Posteriormente, se realizó una amplificación adicional mediante PCR empleando oligonucleótidos P5 y P7 indexados. Los productos de PCR resultantes, que conformaron las bibliotecas finales, se purificaron mediante el sistema AMPure XP. Estas bibliotecas fueron evaluadas en cuanto a la distribución de tamaños mediante el Bioanalizador Agilent 2100 (Agilent Technologies, CA, EE.UU) y cuantificadas mediante PCR en tiempo real, cumpliendo con un criterio de concentración de 3 nM.

Para llevar a cabo el ensamblaje *de novo* de los cuatro genomas se utilizó el ensamblador MaSuRCA (*Maryland Super Read Celera Assembler*) (Zimin *et al.*, 2017). Para evaluar la calidad de los ensamblajes se empleó la herramienta QUAST (*Quality Assessment Tool for Genome Assemblies*) (Gurevich *et al.*, 2013). Posteriormente, se alinearon nuevamente los datos obtenidos de los ensamblajes con las lecturas originales empleando la herramienta Bowtie2 v2.5.1 (Langmead *et al.*, 2019), con el fin de determinar su similitud. Para evaluar la integridad del ensamblaje se utilizó el enfoque de ortólogos de copia única mediante el software BUSCO (*Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs*) (Simão *et al.*, 2015) utilizando los parámetros predeterminados y el conjunto de datos embryophyta_odb10, que comprende un conjunto de 1.614 genes ortólogos de copia única. Todos los protocolos usados en los diferentes trabajos están estandarizados y disponibles en los repositorios de Gitlab del Plant Genomics Lab y el Github de CBC-UConn (<https://bioinformatics.uconn.edu/>).

4.3.3. Determinación de la variación genética en los genitores

El proceso de identificación de variaciones genéticas, como los polimorfismos de un solo nucleótido (*Single-nucleotide polymorphism, SNPs*), se conoce por sus siglas en inglés como *SNP calling*. Para ello las secuencias filtradas y cortadas (*trimming reads*) fueron alineadas contra el genoma de referencia *Prunus salicina* cv. Sanyueli v2.0 (Liu *et al.*, 2020). Este proceso se realizó utilizando el comando "mem" del software BWA (*Burrows-Wheeler Alignment*) v0.7.17 (Li & Durbin, 2009), siendo uno de los programas de alineación de secuencias cortas (también llamadas lecturas o en inglés *reads*) más utilizado. Las secuencias se alinearon utilizando los parámetros predeterminados. La salida generada por un alineador como BWA se encuentra en el formato *Sequence Alignment/Map* (SAM). Tras esta etapa, los archivos SAM se convirtieron al formato *Binary Alignment Map* (BAM) mediante SAMtools v1.13.56 (Danecek *et al.*, 2021). Las lecturas se ordenaron de acuerdo a su ubicación en el genoma de referencia mediante herramientas proporcionadas por Picard (Broad Institute, 2019). El último paso fue

indexar todos los archivos BAM y se procedió a la determinación de los polimorfismos utilizando los métodos implementados en BCFtools v1.1356 (Danecek *et al.*, 2021). Finalmente, con el objetivo de eliminar variantes de baja calidad, como por ejemplo aquellas con una profundidad de lectura insuficiente o respaldadas únicamente por lecturas mal alineadas, se aplicó un filtro de calidad al archivo VCF empleando el comando "bcftools view" (bcftools view -i 'QUAL > 19 && DP > 2\$ && (AC/AN) > 0.05 && MQ > 20').

4.3.4. Determinación del genotipo de los descendientes

Tras la extracción del ADN, la creación de librerías genómicas se realizó en colaboración con el laboratorio del Profesor Pat J. Brown, de la Universidad de California en Davis (UC Davis), que ya ha aplicado esta metodología en especies hortícolas como el trigo y la cebada (Poland *et al.*, 2012) y en especies leñosas como el nogal (Revord *et al.*, 2020). El protocolo implementado sigue el detallado por Poland *et al.* (2012), conocido como Genotipado por Secuenciación (*Genotyping by Sequencing, GBS*). Para ello se realizó una restricción-ligación simultánea utilizando enzimas de restricción HindIII-HF o PstI-HF, en combinación con las enzimas de restricción MseI y la ligasa de ADN T4 (New England Biolabs, Frankfurt). Cada librería individual fue identificada por un código de barras único, constituido por una pequeña secuencia indexadora de 4 a 9 pares de bases (pb), que sirve como identificador de todas las secuencias que pertenecen al genotipo. Posteriormente, se pusieron en placas de 96 pocillos y se llevaron a cabo los procesos de purificación utilizando Ampure XP Bead, seguido de una amplificación mediante PCR y una nueva purificación empleando de nuevo Ampure XP Bead, todo antes de cargar las librerías en un Agilent Bioanalyzer 2100 equipado con un chip DNA7500 para la determinación en pares de bases y su concentración.

Finalmente, las muestras se enviaron al Centro de Genómica de la Universidad de Davis, en California (UC Davis Genome Center) para su secuenciación. Se empleó la secuenciación de lectura simple, que consiste en la secuenciación de fragmentos de ADN solo en una dirección o sentido (*single-read*), de 100 pb de longitud (SR100), usando un sistema HiSeq4000, ajustando las concentraciones de las librerías a 10 nmol.

Para llevar a cabo la identificación de SNPs en la descendencia, se utilizó el flujo de trabajo TASSEL GBS (Glaubitz *et al.*, 2014) junto con el software BWA (Li & Durbin, 2009). La alineación de las secuencias se realizó contra el genoma de referencia de *Prunus salicina* cv. Sanyueli v2.0, usando lecturas de más de 64 pb. Se aplicó un criterio de calidad, reteniendo únicamente las etiquetas con una puntuación BWA MAPQ igual o superior a 20.

La secuenciación de alta cobertura de los genitores permitió desarrollar un set de marcadores más fiable. Así, se llevó a cabo un proceso de filtrado de SNP específico para cada progenitor de cada población, utilizando la información obtenida de los genitores. Primeramente, se consideraron los SNPs con una cobertura mínima de 8X en ambos progenitores. Seguidamente, se seleccionaron únicamente los SNPs que eran heterocigotos en un progenitor y homocigotos en el otro para cada población. Un total de 8 listas de SNPs,

fueron obtenidas y se utilizaron como *input* para el programa FSFHap (*Full-Sib Family Haplotype Imputation*) (Swarts *et al.*, 2014) con el propósito de corregir posibles subestimaciones de genotipos heterocigotos en los datos de GBS. Los resultados de FSFHap se utilizaron como base para la construcción de los mapas de ligamiento genético.

4.3.5. Construcción de mapas de ligamiento genético y análisis de QTLs

Para la construcción de los mapas de ligamiento genético de cada parental de las tres poblaciones 'BS×PIO', 'RB×BS' y 'RB×SRP' se empleó el software JoinMap® 4.1 (Van Ooijen, 2011). Las fracciones de recombinación se tradujeron en distancias de mapa en centimorgans (cM) aplicando la función de mapeo de Haldane y el algoritmo de mapeo de máxima verosimilitud (*Maximum likelihood*, ML). Se utilizó una frecuencia de recombinación de 0,4 y se estableció un valor mínimo de LOD (del inglés *Logarithm of Odds*) por encima de 3 como umbral de significación. El valor LOD indica la probabilidad de ligamiento frente al no ligamiento entre un par de marcadores y, por tanto, las frecuencias de recombinación entre marcadores. El valor mínimo usado por convención en la construcción de mapas genéticos es 3, lo que indica que es 1.000 veces más probable que dichos marcadores se encuentren ligados a que no lo estén. Así, se hace posible inferir las distancias relativas y el orden entre los marcadores generando los grupos de ligamiento de las poblaciones segregantes.

Los datos de los marcadores se categorizaron como polinización cruzada (*Cross-pollination*, CP) en JoinMap® 4.1, y se agruparon mediante el Módulo de Agrupación, empleando puntuaciones de LOD que oscilaban entre 6 y 10.

Los SNPs fueron codificados de acuerdo al programa JoinMap® 4.1, como <lmxll> (Locus heterocigoto en el primer parental) o <nnxnp> (Locus heterocigoto en el segundo parental). Para evaluar la distorsión en la segregación de los SNPs, se empleó el análisis de Chi-cuadrado (χ^2). Aquellos SNPs que presentaron distorsiones significativas, con un valor de $p < 0,001$, fueron excluidos. En casos donde un SNP compartía una similitud de loci igual a 1 con otro SNP, únicamente se conservó uno de ellos para la construcción del mapa. La elaboración de los mapas se llevó a cabo sin considerar el orden de los marcadores en el mapa físico. La identificación de cada SNP se corresponde con su posición en el genoma de referencia *Prunus salicina* cv. Sanyueli v2.0.

Debido al diseño experimental, y a la ausencia de marcadores heterocigotos en ambos padres que pudiesen servir de marcadores de anclaje (*anchor markers*), no se obtuvieron mapas consenso por población. Como resultado, se generaron seis mapas de ligamiento, uno para cada parental de cada población. Antes de proceder al mapeo genético, se realizó una depuración de los datos para eliminar errores de genotipado, subestimaciones de homocigotos, así como SNPs con más del 40% de datos faltantes.

La identificación de los QTLs se realizó mediante MapQTL® 6 (Van Ooijen, 2009). Los datos fenotípicos y genotípicos se sometieron a una primera etapa de 1.000 permutaciones para establecer los umbrales LOD de referencia de $\alpha < 0.05$, $\alpha < 0.01$ y $\alpha < 0.001$ para cada

caracter y año. Debido a la naturaleza de los datos fenotípicos se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Esta prueba no hace suposiciones sobre la distribución de probabilidad del carácter cuantitativo (tras el ajuste del genotipo del QTL). Cuando un marcador segrega con solo dos clases genotípicas, como un *backcross* (retrocruzamiento), este test es equivalente a una prueba de suma de rangos de Wilcoxon bilateral. Este test se realiza para cada marcador separadamente, usando la información del mapa genético solamente para ordenar los marcadores.

Se utilizó un umbral de significancia de $p < 0,01$ para determinar si el marcador estaba altamente asociado con el carácter. Se consideró que un QTL era consistente para un carácter específico si mostraba un efecto significativo y se ubicaba en posiciones coincidentes a lo largo de los tres años de estudio.

Las representaciones gráficas de los mapas de ligamiento genético y los intervalos de QTL se crearon empleando el paquete 'LinkageMapView' de Rstudio (Ouellette *et al.*, 2018).

4.3.6. Análisis del efecto alélico de SNPs

Se procedió a analizar los SNPs más significativos de los QTLs que permanecieron constantes a lo largo de los tres años de estudio para examinar la asociación entre el genotipo y el fenotipo. Para ello, se realizó un análisis de Kruskal-Wallis con el fin de determinar si las diferencias en las medianas para cada tipo de genotipo en cada marcador eran estadísticamente significativas. La representación gráfica genotipo-fenotipo se confeccionó mediante el uso del paquete 'ggplot2' de RStudio (Hadley, 2016).

4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1. Secuenciación del genoma completo (*Whole Genome Sequencing, WGS*) y ensamblaje de los genomas de los parentales

El número total de lecturas sin procesar obtenidas de la secuenciación del genoma completo de los parentales de las tres poblaciones fue de 720.391.200. Para la variedad 'Santa Rosa Precoz' (SRP) se obtuvo el mayor número de lecturas con 193.383.502, mientras que para 'Black Splendor' (BS) el menor con 174.744.788. Para los parentales 'Pioneer' (PIO) y 'Red Beaut' (RB) se obtuvieron 177.089.588 y 175.173.332 lecturas, respectivamente. El tamaño total de los datos generados por el secuenciador fue de 108,10 Gb. Tras la eliminación de las lecturas sin procesar, se conservó más del 89% de los datos originales. En particular, 'BS' mostró la mayor retención con un 90,03% de lecturas conservadas (157.321.936) (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Resultados de la secuenciación del genoma completo (*Whole Genome Sequencing*, WGS) de los parentales 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS). Se muestran los datos brutos generados por el secuenciador, las lecturas brutas y conservadas. El porcentaje de lecturas conservadas se muestra entre paréntesis.

Parental	Datos brutos (Gb)	Lecturas	
		Brutas	Conservadas
SRP	29,00	193.383.502	173.580.0190 (89,76)
PIO	26,60	177.089.588	158.014.786 (89,23)
RB	26,30	175.173.322	156.987.876 (89,62)
BS	26,20	174.744.788	157.321.936 (90,03)
<i>Total</i>	<i>108,10</i>	<i>720.391.200</i>	<i>645.904.617</i>

Por otro lado, se utilizaron dos ensambladores adicionales, SPADES y SOAPdenovo2 (datos no mostrados); sin embargo, MaSuRCA produjo las mejores estadísticas de ensamblado en comparación con estos dos. La longitud de los genomas ensamblados varió entre 256,42 y 239,11 Mb. El genoma de 'SRP' presentó el mayor tamaño (256 Mb), mientras que el genoma de 'BS' mostró el menor (239 Mb). En general, se observó un N50 pequeño para todos los genomas ensamblados, destacando 'BS' con el valor N50 más alto, lo que indica que el 50% de la longitud del ensamblaje está en contigs relativamente largos. El contenido de GC fue similar entre los genomas, situándose alrededor del 37%, lo que sugiere una composición genética consistente en términos de contenido de guanina y citosina (Tabla 4.2).

El mayor número de contigs se observó en el genoma de 'SRP' (97.639), lo que indica una mayor fragmentación en comparación con los otros ensamblajes. Esto se alinea con un número menor de contigs largos en comparación con los ensamblajes de 'PIO', 'RB' y especialmente 'BS', que tiene el menor número de contigs totales (81.968). A pesar de esto, 'BS' mostró el contig más largo, con una longitud superior a los de los otros ensamblajes, lo que sugiere que 'BS' tiene una mejor representación de secuencias largas continuas (Tabla 4.2).

Las métricas de longitud total también reflejan la calidad del ensamblaje, con 'BS' mostrando una mayor longitud total en contigs largos (≥ 10.000 pb y ≥ 25.000 pb). Esto indica que, aunque 'BS' tiene menos contigs en total, estos son significativamente más largos (Tabla 4.2).

Por otro lado, el número de secuencias ambiguas fue de 0 en todos los ensamblajes, lo que indica un alto nivel de precisión en el ensamblaje para todos los parentales (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Métricas de evaluación de la calidad del ensamblaje del genoma completo obtenido mediante MaSurCa para los parentales 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS). Las métricas incluyen: número secuencias ensambladas (contigs) de diferentes tamaños (≥ 0 pb, 1.000 pb, 5.000 pb, etc); longitud total de las secuencias ensambladas por tamaño mínimo de contig (≥ 0 pb, 1.000 pb, 5.000 pb, etc); porcentaje de contenido de guanina y citosina en el ADN ensamblado (GC %); N50 y N75: longitud del contig más corto que abarca el 50 y 75% de la longitud total del ensamblaje, respectivamente; L50 y L75: número de contigs necesarios para alcanzar el 50% y el 75% de la longitud total del ensamblaje, respectivamente; número de secuencias ambiguas (N's) por cada 100 kbp del ADN ensamblado.

Ensamblaje	SRP	PIO	RB	BS
Contigs (≥ 0 pb)	133.020	117.719	124.160	114.373
Contigs (≥ 1.000 pb)	6.3058	55.123	56.997	52.189
Contigs (≥ 5.000 pb)	13.225	12.684	12.401	12.380
Contigs (≥ 10.000 pb)	3.704	4.175	3.933	4.179
Contigs (≥ 25.000 pb)	190	439	406	516
Contigs (≥ 50.000 pb)	8	35	45	79
Longitud total (≥ 0 pb)	270.089.980	256.551.600	258.771.398	251.611.425
Longitud total (≥ 1.000 pb)	231.895.143	222.529.703	222.307.610	218.050.455
Longitud total (≥ 5.000 pb)	12.0697.388	127.588.485	123.339.816	129.482.611
Longitud total (≥ 10.000 pb)	55.059.852	68.606.579	64.683.367	72.546.628
Longitud total (≥ 25.000 pb)	5.997.285	15.025.781	14.645.919	19.679.393
Longitud total (≥ 50.000 pb)	460.590	2.290.464	2.960.433	5.356.689
Contigs	97.639	85.642	89.731	81.968
Contigs más largos	78.300	121.825	122.218	151.068
Longitud total	256.426.985	244.148.355	245.460.960	239.116.243
GC (%)	37,37	37,38	37,40	37,36
N50	4.617	5.342	5.028	5.661
N75	2.065	2.287	2.158	2.351
L50	14.789	1.1617	12.280	10.513
L75	35.633	29.122	30.974	26.969
N's por 100 kbp	0,00	0,00	0,00	0,00

Tras el control de calidad, las lecturas fueron alineadas nuevamente con los datos obtenidos de los ensamblajes, mediante la herramienta Bowtie2 v2.5.1 (Langmead *et al.*, 2019) para comprobar su similitud. Todas las lecturas de los ensamblajes de los cuatro parentales fueron pareadas, siendo el ensamblaje de 'SRP' el que presentó un mayor número (96,7 millones), seguido por el de 'PIO' (88,5 millones), 'RB' (87,6 millones), y 'BS' (87,4 millones). Todos los ensamblajes tienen una alta calidad de alineación, ya que alrededor del 50% de las lecturas se alinearon consistentemente en la distancia y orientación correctas, destacando el

ensamblaje de 'PIO' y 'BS', que presentaron las tasas de alineación exacta (PIO: 51,61%; BS: 52,06%) y general (94,34%) más altas (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Alineación de lecturas con los ensamblajes MaSuRCa de los genomas completos de 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS).

	SRP	PIO	RB	BS
Lecturas	96.691.751	88.544.794	87.586.661	87.372.394
Pareadas	96.691.751	88.544.794	87.586.661	87.372.394
Alineado concordantemente 0 veces	16.054.821 (16,60%)	12.208.384 (13,79%)	13.906.059 (15,88%)	13.049.173 (14,94%)
Alineado concordantemente exactamente 1 vez	48.282.459 (49,93%)	45.699.626 (51,61%)	44.786.219 (51,13%)	45.485.916 (52,06%)
Alineado concordantemente >1 veces	32.354.471 (33,46%)	30.636.784 (34,60%)	28.894.383 (32,99%)	28.837.305 (33,01%)
Tasa de alineación general	93,34%	94,34%	94,12%	94,34%

Por otro lado, el análisis de integridad y calidad del ensamblaje mediante el software BUSCO, basado en el conjunto de ortólogos de copia única, mostró que más del 80% (81,9% en 'SRP', 84,5% en 'PIO', 83,6% en 'RB' y 84,9% en 'BS') de los genes esperados eran identificados como completos, es decir, que están completamente presentes en el ensamblaje de MaSuRCa. Los ensamblajes de 'BS' y 'PIO' destacan como los más robustos en términos de completitud y menor porcentaje de genes desaparecidos. 'BS' muestra un porcentaje de genes completo ligeramente superior al de 'PIO' (84,9% frente a 84,5%), sin embargo, 'PIO' tiene un número absoluto de genes completos muy cercano al de 'BS' (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Análisis de calidad BUSCO del ensamblaje de los genomas completos de los parentales 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS).

	Sanyueli (%)	SRP Num.(%)	PIO Num.(%)	RB Num.(%)	BS Num.(%)
Completo (C)	95,7	1.322 (81,9)	1.363 (84,5)	1.349 (83,6)	1.371 (84,9)
Completo y en copia única (S)	86,5	1.298 (80,4)	1.336 (82,8)	1.327 (82,2)	1.345 (83,3)
Completo y duplicado (D)	9,2	24 (1,5)	27 (1,7)	22 (1,4)	26 (1,6)
Fragmentado (F)	1,3	209 (12,9)	177 (11,0)	191 (11,8)	182 (11,3)
Desaparecido (M)	3,0	83 (5,2)	74 (4,5)	74 (4,6)	61 (3,8)

4.4.2. Determinación de la variación genética en los genitores

En cuanto a la variación genética pequeña en los genitores, se obtuvieron un total de 9.223.636 variantes genéticas tras ejecutar el proceso utilizado en este estudio. Se detectaron un total de 248.465 deleciones, 287.702 inserciones pequeñas y un total de 3.913.113 SNPs (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Deleciones, inserciones y SNPs observados en los genomas completos de 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS).

Parental	Deleciones	Inserciones	SNPs
SRP	143.852	148.778	2.381.843
PIO	133.894	134.217	2.071.240
RB	135.566	136.562	2.128.922
BS	132.639	135.863	2.080.499
<i>Total</i>	248.465	287.702	3.913.113

Este conjunto de datos se sometió a un proceso de filtrado para excluir los SNPs con dos o tres posibles alelos alternativos en el archivo VCF, resultando un total de 8.616.483 SNPs. Este conjunto depurado se utilizó para calcular el número de transiciones y transversiones. En el conjunto final, el 59% de los sitios alélicos correspondieron a transiciones (5.067.800 loci) y el 41% a transversiones (3.548.683 loci). La razón de transición/transversión fue de 1,44 para 'SRP', 1,43 para 'PIO' y 'RB', y 1,41 para 'BS'. Las transiciones A/G y C/T se observaron en las frecuencias más altas y prácticamente equivalentes. La transversión A/T mostró la frecuencia más alta, aproximadamente del 32%, mientras que la transversión C/G presentó la frecuencia más baja, alrededor del 16% (Tabla 4.6).

Tabla 4.6. Distribución de transiciones y transversiones en variantes genéticas para los genomas completos de 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS). Se muestra el número de sitios alélicos donde se han detectado transiciones y transversiones, junto con el porcentaje de estos entre paréntesis.

	SRP	PIO	RB	BS
Transición				
AG	698.148 (49,95)	605.827 (50,01)	623.387 (50,02)	605.871 (49,98)
CT	699.572 (50,05)	605.784 (49,99)	622.912 (49,98)	606.299 (50,02)
<i>Total</i>	1.397.720 (58,99)	1.211.611 (58,81)	1.246.299 (58,85)	1.212.170 (58,58)
Transversión				
AC	250.918 (25,83)	219.321 (25,84)	225.536 (25,88)	221.016 (25,79)
AT	312.767 (32,19)	273.475 (32,22)	281.131 (32,26)	277.855 (32,42)
CG	156.828 (16,14)	135.936 (16,02)	139.547 (16,01)	137.172 (16,01)
GT	156.828 (25,84)	219.969 (25,92)	225.211 (25,84)	220.944 (25,78)
<i>Total</i>	971.570 (41,01)	848.701 (41,19)	871.425 (41,15)	856.987 (41,42)

4.4.3. Determinación del genotipo de los descendientes

Para el genotipado por secuenciación de los descendientes de las tres poblaciones objeto de estudio, se prepararon dos bibliotecas independientes de representación reducida a partir de cada muestra de ADN, utilizando dos enzimas de restricción distintas: HindIII y PstI. La cantidad media de lecturas de códigos de barras por muestra fue similar para las dos enzimas, con un promedio de 339.194 lecturas para HindIII y 329.254 para PstI. La proporción de lecturas de códigos de barras que se alinearon con el conjunto de referencia de ciruela también fue similar, alcanzando el 87,40% para HindIII y el 89,50% para PstI.

De las 384 muestras de ADN analizadas, 11 (2,9%) presentaron menos de 10.000 lecturas en ambas bibliotecas, lo que sugiere una calidad deficiente del ADN en estas muestras. Además, siete de las 384 muestras (1,8%) tuvieron menos de 10.000 lecturas únicamente en la biblioteca PstI, mientras que 24 muestras (6,3%) mostraron menos de 10.000 lecturas exclusivamente en la biblioteca HindIII. Estos resultados indican que el procedimiento de preparación para la biblioteca PstI podría ser ligeramente más robusto en comparación con HindIII.

En la Tabla 4.7 se muestra el número de SNPs sin procesar para cada haplotipo en las diferentes poblaciones analizadas. En ella se observa que el número total de SNPs para cada haplotipo en la biblioteca HindIII fue, en general, al menos el doble en comparación con la biblioteca PstI.

Tabla 4.7. Número de SNPs procesados en las distintas etapas de la determinación del genotipo de los descendientes.

	SNPs brutos			FSFHap- Imputados	SNPs Filtrados	SNPs finales
	HindIII	PstI	Total			
BS×PIO_BS	1.347	568	1.915	331	297	252
BS×PIO_PIO	1.709	866	2.575	1.026	866	519
RB×BS_RB	2.269	1.120	3.389	1.134	1.042	441
RB×BS_BS	1.312	557	1.869	455	444	334
RB×SRP_RB	1.345	655	2.000	1.134	1.042	428
RB×SRP_SRP	1.418	664	2.082	383	363	305

Tras la combinación de SNPs de las bibliotecas HindIII y PstI, y el filtrado en profundidad, donde los genotipos con cobertura inferior a 5 se configuraron como faltantes, se observó una notable pérdida de SNPs de baja cobertura. El número final de SNPs imputados con FSFHap reflejó esta pérdida, destacando la necesidad de un filtrado riguroso para mantener la calidad de los datos genéticos (Tabla 4.7).

De los 48 cromosomas que se intentaron imputar (8 cromosomas de ciruela x 3 poblaciones x 2 genitores), dos cromosomas no lograron ser imputados exitosamente: el cromosoma 8 de 'Black Splendor' falló tanto en la población 'BS×PIO' como en la población 'RB×BS', probablemente debido a la baja cantidad de SNPs sin procesar en estas regiones. En consecuencia, inferimos que el parental 'Black Splendor' puede ser idéntico por descendencia en porciones del cromosoma 8.

4.4.4. Mapas de ligamiento genético

Se ha realizado la cartografía genética de las tres poblaciones de ciruelo japonés, generando mapas genéticos individuales para cada parental dentro de cada población, sin llevar a cabo la integración de estos mapas para obtener mapas consenso para cada población. Por tanto, se han obtenido un total de seis mapas de ligamiento genético, con dos mapas genéticos correspondientes a cada población, uno para cada progenitor.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En el caso de la población 'BS×PIO', para el parental femenino 'Black Splendor' ('BS') se obtuvieron un total de 331 SNPs, de los cuales 297 cumplieron con los criterios de filtrado, descartando así los SNPs que no eran bialélicos, presentaban una frecuencia del alelo menos común (*Minor Allele Frequency*) menor de 0,05 ($MAF < 0,05$) y más del 40% de datos faltantes. Se mapearon finalmente 252 SNPs en JoinMap, tras eliminar aquellos que presentaban patrones de segregación idénticos y aquellos que mostraban distorsión en la segregación. Para el parental masculino 'Pioneer' ('PIO'), se obtuvieron un total de 1.026 SNPs, que después del filtrado se redujeron a 866 SNPs. JoinMap excluyó 347 SNPs, lo que resultó en el mapeo final de 519 SNPs (Tabla 4.8).

Tabla 4.8. Resumen del mapeo de los marcadores tipo SNP en los mapas de ligamiento genético obtenidos para los parentales 'Black Splendor' (BS), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Santa Rosa Precoz' (SRP) de las tres poblaciones de estudio 'Black Splendor' × 'Pioneer' (BS×PIO), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' (RB×BS) y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' (RB×SRP).

Marcadores SNP	BS×PIO		RB×BS		RB×SRP	
	BS	PIO	RB	BS	RB	SRP
Brutos	331	1.026	1.134	466	1.134	383
Filtrados	297	866	1.042	455	1.042	363
Mapeados	252	519	441	334	428	305

Los mapas de ligamiento genético obtenidos para los parentales de esta población (Figura 4.2, Tabla 4.9) están compuestos por nueve grupos de ligamiento genético en 'BS', estando GL3 y GL7 formados por dos segmentos no enlazados cada uno (GL3.1, GL3.2, GL7.1 y GL7.2), mientras que no se mapearon SNPs en el grupo de ligamiento 8. Por otro lado, el mapa genético de 'PIO' exhibió 13 grupos de ligamiento, estando GL1 compuesto por dos grupos de ligamiento no enlazados entre sí (GL1.1 y GL1.2), y los grupos de ligamiento 7 y 8 por tres segmentos cada uno (GL7.1, GL7.2, GL7.3, GL8.1, GL8.2 y GL8.3).

El mapa genético de 'BS' presentó una mayor distancia genética, con un tamaño total de 707,78 cM, mientras que el mapa de 'PIO' fue más pequeño, con una distancia total de 417,64 cM. GL2 fue el grupo de ligamiento más largo en ambos mapas, con un tamaño de 175,08 cM para 'BS' y 94,32 cM para 'PIO'. El mapa que tuvo una densidad mayor de marcadores fue el de 'PIO' con 0,71 cM/SNP en comparación con el mapa de 'BS', que tuvo

una densidad de 3,04 cM/SNP. La densidad de marcadores varía entre los distintos grupos de ligamiento, oscilando entre 0,06 cM/SNP en el GL7.3 de 'PIO' y 6,73 cM/SNP en el GL2 de 'BS'. La mayor distancia entre marcadores (gap) se dio en GL7.2 en ambos mapas, con una distancia máxima de 33,93 cM en 'BS' y 14,01 cM en 'PIO' (Tabla 4.9)

Tabla 4.9. Descripción de los SNPs mapeados y las distancias genéticas en cada grupo de ligamiento (GL) para cada progenitor en la población F1 de ciruelo japonés 'Black Splendor' × 'Pioneer'.

Grupo de ligamiento (GL)	SNPs	Distancia total (cM)	Densidad SNP (cM/SNP)	Gap máximo (cM)	
Black Splendor	1	39	87,71	2,25	8,01
	2	26	175,08	6,73	17,38
	3.1	23	33,17	1,44	15,05
	3.2	19	9,67	0,51	3,72
	4	30	132,61	4,42	9,07
	5	54	137,75	2,55	13,83
	6	38	45,56	1,20	7,95
	7.1	13	14,18	1,09	4,11
	7.2	10	72,05	7,20	33,93
	8	0			
Total	252	707,78	3,04		
Pioneer	1.1	64	40,08	0,63	11,37
	1.2	38	24,36	0,64	6,71
	2	82	94,32	1,15	10,41
	3	45	34,06	0,76	6,30
	4	69	81,11	1,18	10,00
	5	46	34,47	0,75	3,15
	6	7	4,29	0,61	2,86
	7.1	12	8,08	0,67	5,62
	7.2	33	34,78	1,05	14,01
	7.3	15	0,85	0,06	0,42
	8.1	10	4,84	0,48	3,44
	8.2	43	23,69	0,55	5,29
	8.3	55	32,73	0,60	2,92
	Total	519	417,64	0,71	

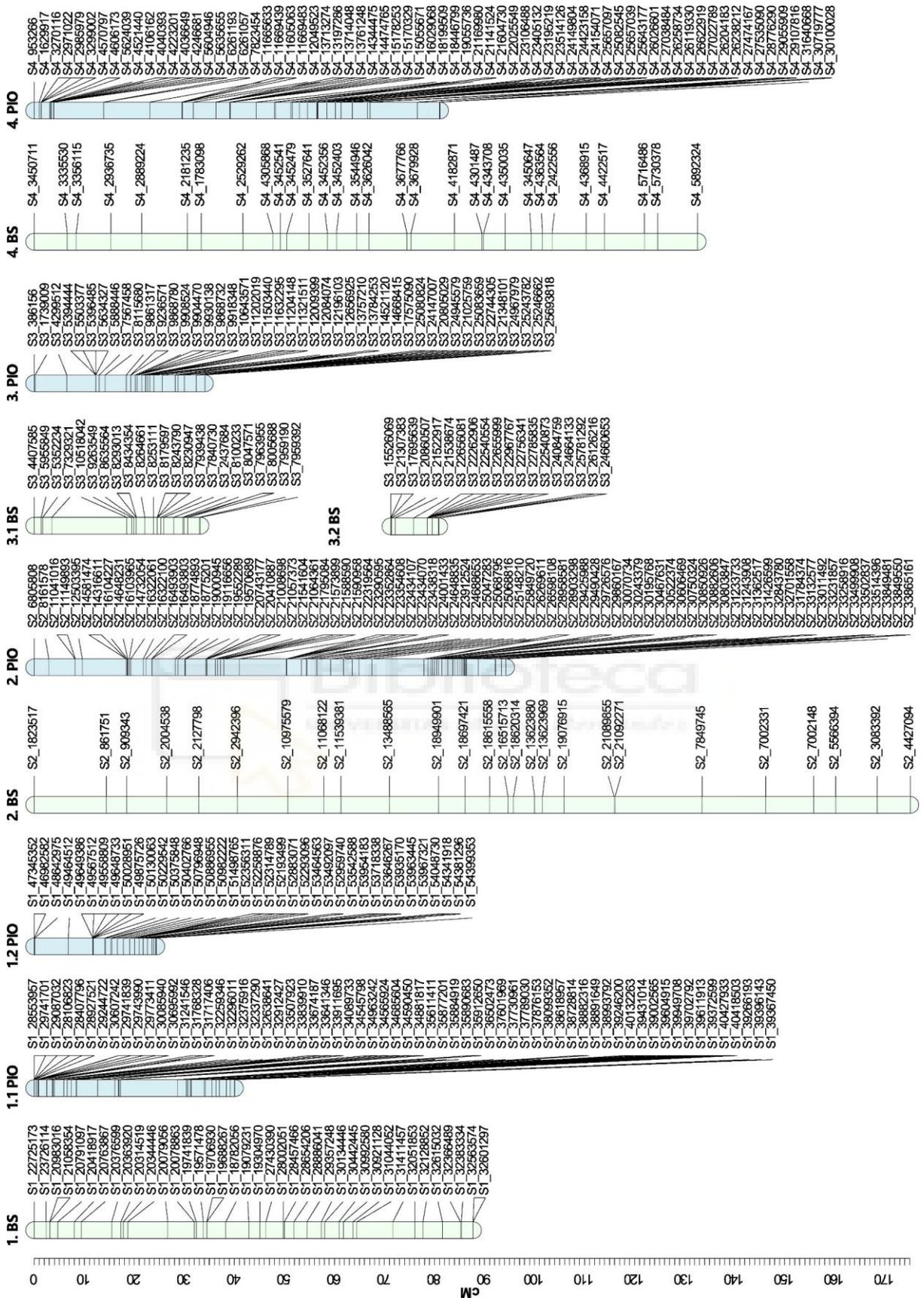


Figura 4.2. Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población ‘Black Splendor’ × ‘Pioneer’. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino ‘Black Splendor’ (BS) están indicados en verde y los del parental masculino ‘Pioneer’ (PIO) en azul.

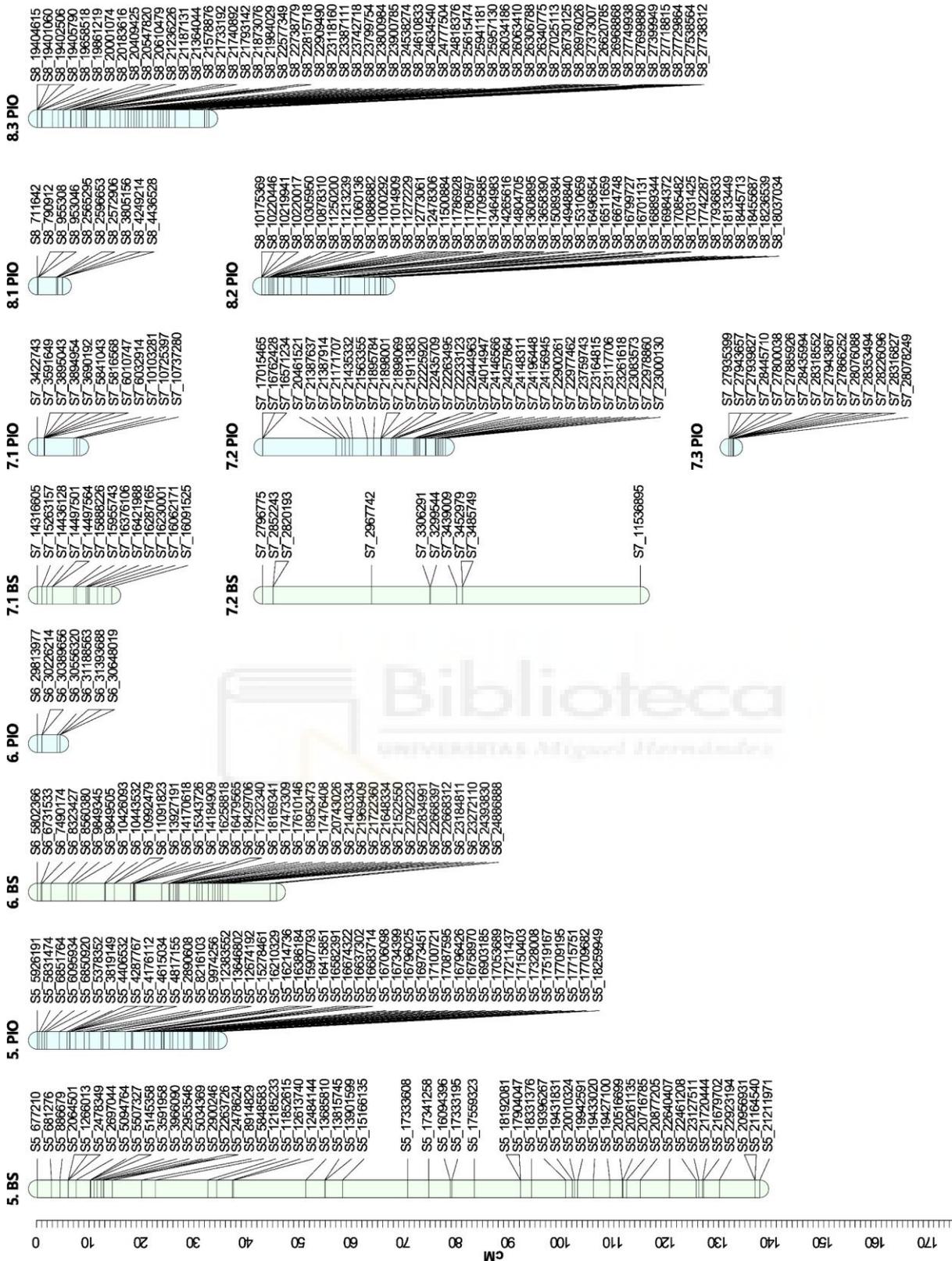


Figura 4.2 (Continuación). Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población 'Black Splendor' × 'Pioneer'. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino 'Black Splendor' (BS) están indicados en verde y los del parental masculino 'Pioneer' (PIO) en azul.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En cuanto a la población 'RB×BS', en el parental femenino 'Red Beaut' ('RB') se incluyó un set inicial de 1.134 SNPs, de los cuales se excluyeron 92 SNPs durante el proceso de filtrado, resultando en un total de 1.042 SNPs. Posteriormente, con JoinMap se lograron mapear 441 SNPs, excluyendo aquellos que presentaban patrones de segregación idénticos y aquellos que mostraban una distorsión en la segregación. De forma similar, en el parental masculino 'Black Splendor' ('BS'), se identificaron 466 SNPs que eran heterocigotos en 'BS' y homocigotos en 'RB'. Durante la fase de filtrado previo, se excluyeron 11 SNPs, incluyendo 455 SNPs en el programa. Tras el mapeo genético en JoinMap se mapearon finalmente un total de 334 SNPs, (Tabla 4.8).

El mapa de ligamiento genético de 'RB' se compone de 15 grupos de ligamiento genético, estando los grupos de ligamiento 1, 5 y 8 compuestos por tres segmentos no vinculados entre sí (GL1.1, GL1.2, GL1.3, GL5.1, GL5.2, GL5.3, GL8.1, GL8.2 y GL8.3), y el grupo de ligamiento 4 compuesto por dos segmentos (GL4.1 y GL4.2). En contraste, el mapa genético de 'BS' muestra nueve grupos de ligamiento genético, presentando el grupo de ligamiento 3 tres segmentos no vinculados (GL3.1, GL3.2 y GL3.3), y el grupo de ligamiento 1 dos (GL1.1 y GL1.2). Cabe destacar que no se mapeó ningún SNP en los grupos de ligamiento 4 y 8 (Figura 4.3, Tabla 4.10).

El mapa genético de 'RB' presenta una longitud de 494,79 cM, mientras que el de 'BS' tiene una distancia mayor, siendo esta de 769,81 cM. La densidad de marcadores varía entre los distintos grupos de ligamiento, oscilando entre 0,12 cM/SNP en los GL5.2 y GL8.2 de 'RB' y 6,26 cM/SNP en el GL6 de 'BS'. La densidad de SNPs difiere entre los dos mapas, siendo de 0,85 cM/SNP en el mapa de 'RB', mientras que el mapa genético de 'BS' muestra una densidad más baja de 2,17 cM/SNP (Figura 4.3, Tabla 4.10).

Tabla 4.10. Descripción de los SNPs mapeados y las distancias genéticas en cada grupo de ligamiento (GL) para cada progenitor en la población F1 de ciruelo japonés 'Red Beaut' × 'Black Splendor'.

Grupo de ligamiento (GL)	SNPs	Distancia total (cM)	Densidad SNP (cM/SNP)	Gap máximo (cM)	
Red Beaut	1.1	24	18,02	0,75	3,85
	1.2	6	2,14	0,36	0,63
	1.3	44	35,09	0,80	23,06
	2	33	65,54	1,99	8,12
	3	55	88,92	1,62	24,80
	4.1	35	19,24	0,55	5,98
	4.2	23	17,50	0,76	2,99
	5.1	17	8,52	0,50	8,40
	5.2	8	0,99	0,12	0,59
	5.3	24	15,17	0,63	1,58
	6	25	23,98	0,96	3,50
	7	63	118,35	1,88	17,28
	8.1	19	6,99	0,37	2,71
	8.3	57	73,34	1,29	29,70
	8.2	8	1,00	0,12	0,55
Total	441	494,79	0,85		
Black Splendor	1.1	11	20,88	1,90	4,55
	1.2	25	55,83	2,23	5,43
	2	64	103,24	1,61	9,69
	3.1	22	6,00	0,27	1,94
	3.2	29	76,20	2,63	26,49
	3.3	28	42,53	1,52	22,77
	4	0			
	5	58	103,94	1,79	10,65
	6	47	168,80	6,26	21,80
	7	50	67,04	1,34	12,56
	8	0			
	Total	334	769,81	2,17	

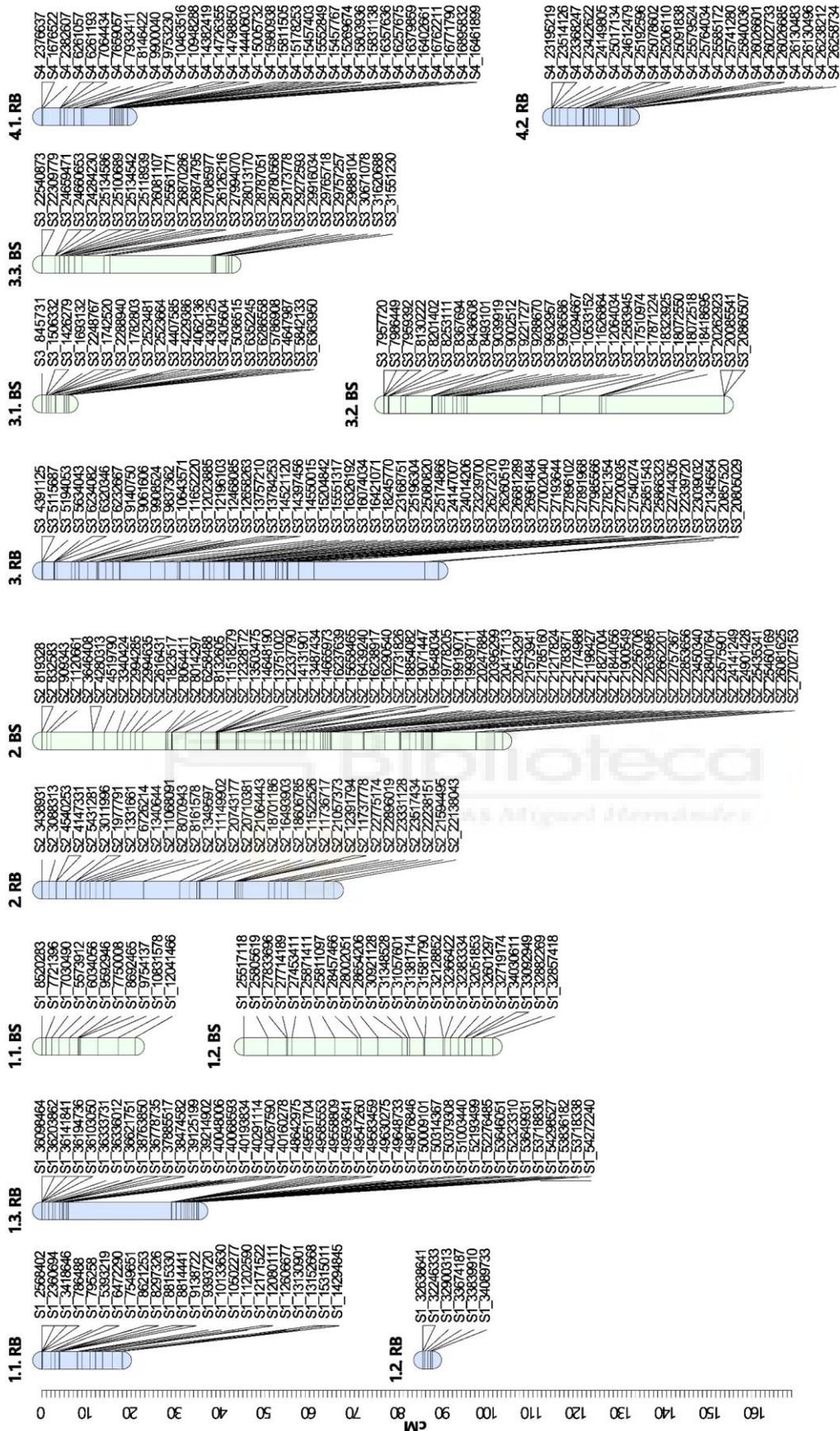


Figura 4.3. Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población 'Red Beau' × 'Black Splendor'. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino 'Red Beau' (RB) están indicados en azul y los del parental masculino 'Black Splendor' (BS) en verde.

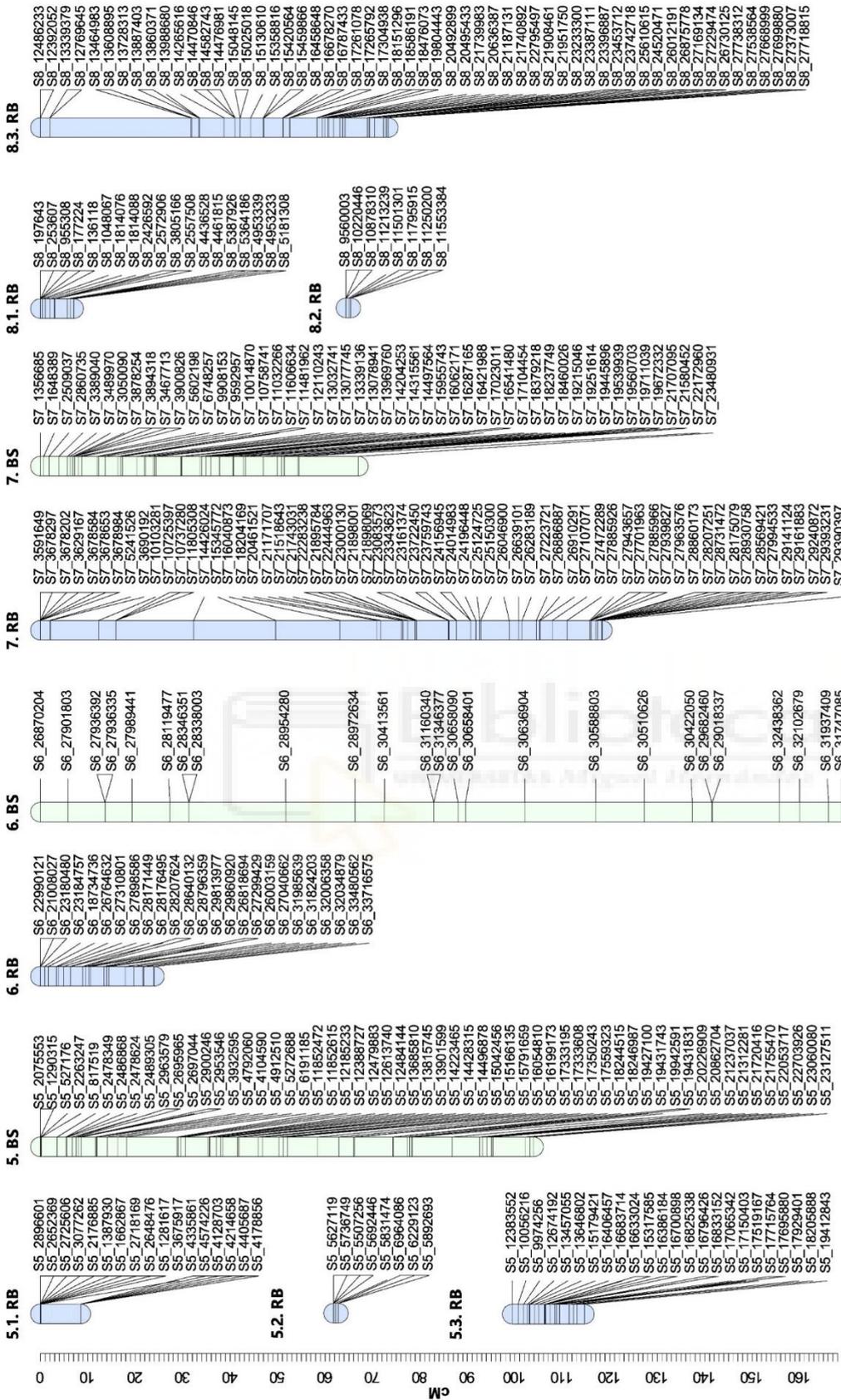


Figura 4.3 (Continuación). Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población 'Red Beau' × 'Black Splendor'. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino 'Red Beau' (RB) están indicados en azul y los del parental masculino 'Black Splendor' (BS) en verde.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

Con respecto a la población 'RB×SRP', en el parental femenino 'Red Beaut' ('RB') se identificaron un total de 1.134 SNPs heterocigotos para 'RB' y homocigotos para 'Santa Rosa Precoz' ('SRP'), de los cuales 1.042 SNPs permanecieron tras el filtrado, y se mapearon en JoinMap un total de 428 SNPs. Para el parental masculino 'SRP' se identificaron un total de 383 SNPs heterocigotos para dicho parental y homocigotos para el progenitor 'RB', de los cuales 20 SNPs fueron excluidos durante el filtrado previo, mapeándose finalmente un total de 305 SNPs (Tabla 4.8).

El mapa de ligamiento genético de 'RB' está compuesto por 11 grupos de ligamiento, estando el grupo de ligamiento 5 formado por tres segmentos no vinculados (GL5.1, GL5.2 y GL5.3) y los grupos de ligamiento 2 y 6 por dos cada uno (GL2.1, GL2.2, GL6.1 y GL6.2). Por otro lado, el mapa genético del progenitor masculino 'SRP' también consta de 11 grupos de ligamiento, presentando el grupo de ligamiento genético 1 dos segmentos no vinculados (GL1.1 y GL1.2) y el grupo de ligamiento 2 tres segmentos no vinculados (GL2.1, GL2.1 y GL2.3). (Tabla 4.11, Figura 4.4).

En cuanto a los tamaños de los mapas, el mapa genético de 'SRP' tiene una distancia de 909,23 cM, mientras que el de 'RB' tiene una distancia menor, con un total de 646,26 cM. La densidad de marcadores varía entre los distintos grupos de ligamiento, oscilando entre 0,43 cM/SNP en el GL5.3 de 'RB' y 11,49 cM/SNP en el GL4 de 'SRP'. La densidad promedio de los marcadores fue menor en 'SRP' con 4,37 cM/SNP en comparación con el mapa genético de 'RB' que presenta una densidad de 1,52 cM/SNP. El gap más amplio se presentó en GL6.1 en el mapa genético de 'RB' (20,15 cM), mientras que en el mapa genético de 'SRP', la brecha más amplia se encuentra en GL4, con un gap de 20,08 cM (Tabla 4.11).

Tabla 4.11. Descripción de los SNPs mapeados y las distancias genéticas en cada grupo de ligamiento (GL) para cada progenitor en la población F1 de ciruelo japonés 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'.

Grupo de ligamiento (GL)	SNPs	Distancia total (cM)	Densidad SNP (cM/SNP)	Gap máximo (cM)	
Red Beaut	1	66	89,47	1,36	16,98
	2.1	31	47,19	1,52	10,35
	2.2	7	24,54	3,51	12,95
	3	61	152,27	2,50	16,00
	4	52	116,35	2,24	10,37
	5.1	45	62,60	1,39	15,60
	5.2	12	10,08	0,84	3,01
	5.3	14	5,99	0,43	1,11
	6.1	44	64,25	1,46	20,15
	6.2	33	24,22	0,73	3,07
7	0				
8	63	49,29	0,78	4,05	
Total	428	646,26	1,52		
Santa Rosa Precoz	1.1	13	82,40	6,34	17,63
	1.2	17	77,11	4,54	12,03
	2.1	14	11,40	0,81	2,51
	2.2	19	25,52	1,34	7,02
	2.3	17	12,34	0,73	2,11
	3	94	158,35	1,68	12,45
	4	13	149,37	11,49	20,08
	5	53	139,37	2,63	16,01
	6	42	57,85	1,38	14,87
	7	13	105,98	8,15	13,49
8	10	89,54	8,95	16,29	
Total	305	909,23	4,37		

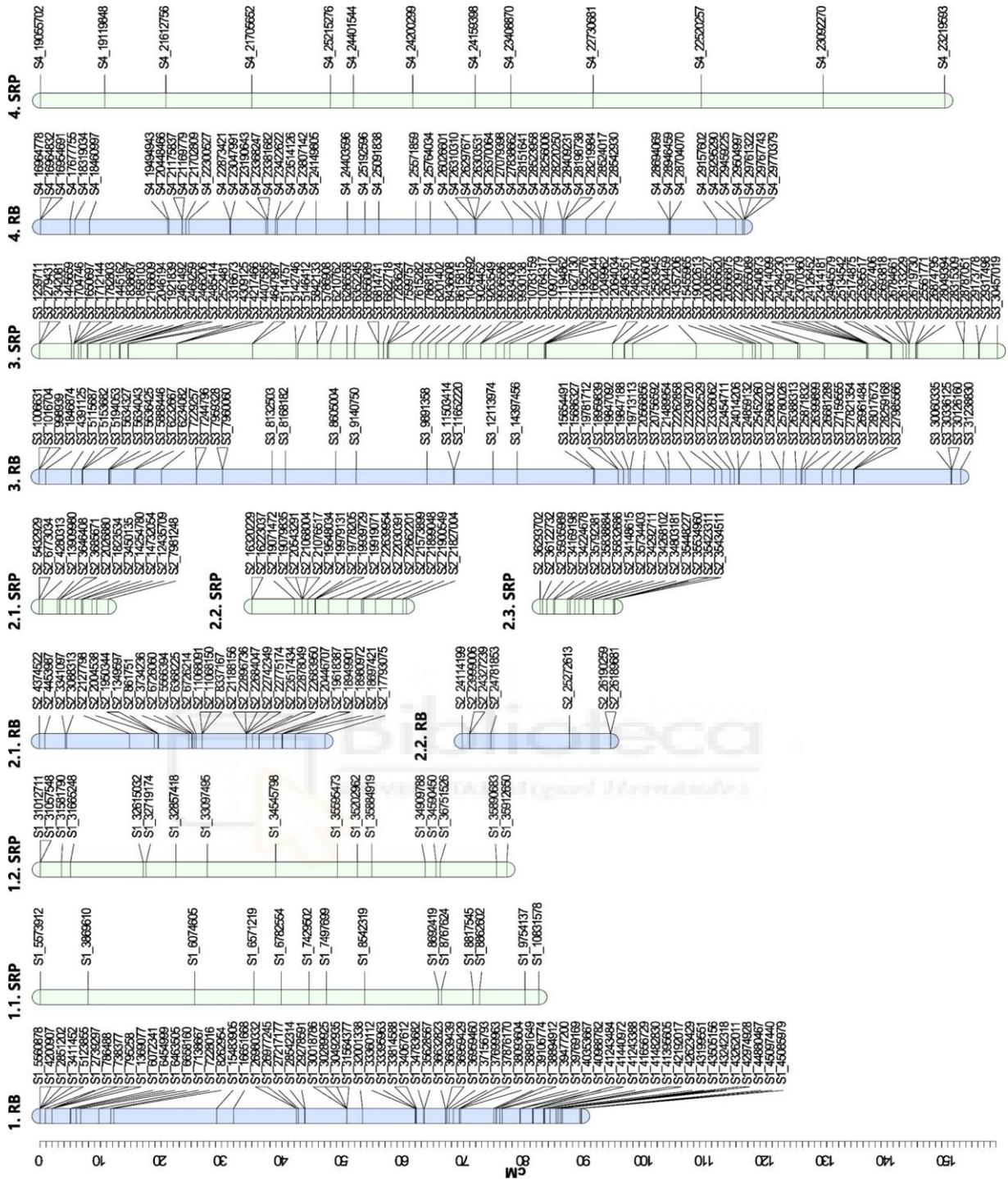


Figura 4.4. Mapas de ligamiento genético de los progenitores de la población 'Red Beut' × 'Santa Rosa Precoz'. La posición de los marcadores está representada por líneas negras. Los grupos de ligamiento del parental femenino 'Red Beut' (RB) están indicados en azul y los del parental masculino 'Santa Rosa Precoz' (SRP) en verde.

El número de mapas genéticos desarrollados previamente en ciruelo japonés es escaso, todos ellos generados a partir de poblaciones F1. En la Tabla 4.12 se muestra un resumen de las características de los mapas ya publicados, incluyendo también los desarrollados en la presente tesis doctoral, a fin de comparar los resultados obtenidos.

El primer mapa genético de ciruelo japonés fue desarrollado por Vieira *et al.* (2005), a partir de una población segregante procedente del cruzamiento entre la variedad 'Chatard' utilizada como parental femenino y la variedad 'Santa Rosa' como parental masculino. Estos autores obtuvieron dos mapas genéticos, uno para cada parental utilizado, utilizando 56 y 84 marcadores tipo AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*) respectivamente, con un tamaño de 905,5 cM y 1.349,6 cM, distribuidos en 11 y 14 grupos de ligamiento genéticos, respectivamente (Tabla 4.12). Posteriormente, Salazar *et al.* (2017), utilizando la población '98-99' × 'Angelino', contribuyeron con dos nuevos mapas genéticos, el de la selección '98-99' con 478 SNPs, y 'Angelino' con 502 SNPs, obtenidos mediante GBS. Estos mapas fueron posteriormente mejorados mediante la incorporación de marcadores tipo SSR (*Simple Sequence Repeat*) (Salazar *et al.*, 2020). Carrasco *et al.* (2018) también publicaron mapas de ligamiento genético obtenidos mediante GBS, para las variedades 'Angelino', con un tamaño de 588 cM y 714 SNPs, y 'Aurora', con un tamaño de 472 cM y 320 SNPs, así como un mapa consenso 'Angelino × Aurora' con un tamaño total de 617 cM y 732 SNPs distribuidos en ocho grupos de ligamiento genético. Posteriormente, Zhang *et al.* (2020) construyeron un mapa genético consenso empleando SLAF-seq (*Specific Locus Amplified Fragment Sequencing*) de la población '09-06' × Fortune'. Este mapa alcanzó una longitud total de 869,9 cM con 720 SNPs distribuidos en ocho grupos de ligamiento genético y una densidad de 1,21 cM/marcador (Tabla 4.12).

Es importante destacar que hasta el reciente trabajo de Battistoni *et al.* (2022) todos los mapas genéticos previamente publicados de ciruelo japonés se referenciaron al genoma del melocotonero. Battistoni *et al.* (2022) mejoraron los mapas genéticos de '98-99' y 'Angelino' (Salazar *et al.*, 2017, 2020), al alinear las secuencias con el genoma de referencia de ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl. cv. 'Sanyueli' v2.0) (Liu *et al.*, 2020).

Los mapas genéticos de ciruelo japonés desarrollados en la presente tesis doctoral están elaborados mediante la novedosa estrategia de combinar la secuenciación del genoma completo (WGS) de los parentales y la secuenciación del genoma completo a baja cobertura (LcWGS) de los descendientes, lo que no se ha realizado con anterioridad en esta especie.

La implementación de esta estrategia nos ha permitido genotipar diferentes familias, y posteriormente identificar QTLs ligados a caracteres de interés, de una manera más eficiente económicamente, lo cual es crucial dentro de un programa de mejora genética clásico. La utilización de esta metodología de genotipado ha reportado importantes ventajas, pero también debemos reseñar algunas dificultades, que se han reflejado en algunas de las características de los mapas genéticos obtenidos, donde varios grupos de ligamiento están

representados por varios segmentos no ligados. Esto puede ser debido a la baja cobertura de secuencias en estas regiones provocando que la identificación de marcadores no fuera posible. En este sentido, previamente se ha mencionado que la elaboración de mapas genéticos mediante datos de secuenciación con baja profundidad se complica debido a dos formas de datos faltantes. El primero surge cuando no se puede determinar un genotipo debido a la falta de información sobre los alelos, mientras que el segundo ocurre cuando un genotipo heterocigoto se clasifica erróneamente como homocigoto porque solo se secuencia uno de los alelos parentales en un locus específico (Dodds *et al.* 2015; Fragoso *et al.* 2016; Bilton *et al.* 2018). En nuestro caso, tanto el filtrado de los datos como el uso de la secuencia de los parentales (a alta cobertura) ha tratado de reducir la influencia de este tipo de datos, pero no la presencia de regiones sin información alélica y la falta de ligamiento de los segmentos.

Los mapas genéticos generados en esta tesis doctoral, combinando WGS de los parentales y LcWGS de los descendientes, muestran características similares de tamaño y número de SNPs mapeados que los mapas desarrollados previamente con GBS y SLAF-seq (Tabla 4.12), si bien el coste ha sido notablemente inferior. La densidad de mapeo ha sido elevada, oscilando entre 0,71 cM/SNP en el mapa de 'Pioneer' y 4,37 cM/SNP en 'Santa Rosa Precoz', con valores muy parecidos en el caso de 'Pioneer' y 'Red Beaut' a los mapas desarrollados con GBS, pero con una densidad muy inferior a los mapas elaborados con AFLPs. El mapa más largo se obtuvo para 'Santa Rosa Precoz', con una longitud de 909,23 cM y también una menor densidad, de 4,37 cM/SNP, siendo estos valores superiores a los de los mapas genéticos de los estudios mencionados anteriormente basados en GBS y SLAF-seq y solo en el caso del mapa genético de 'Santa Rosa' obtenido por Vieira *et al.* (2005), los valores fueron mayores en cuanto a longitud (1.349,6 cM).

Por otro lado, el mapa genético de 'Pioneer' es el más corto, con una longitud de 417,64 cM, si bien se mapearon 519 SNPs con una densidad de 0,71 cM/SNP, siendo el mapa más denso hasta ahora en esta especie (Tabla 4.12). Este mapa tiene un tamaño similar al mapa de 'Aurora' obtenido por Carrasco *et al.* (2018) empleando GBS, con un tamaño de 424 cM, aunque con menor número de SNPs mapeados (320) y una menor densidad (1,48 cM/SNP).

Tabla 4.12. Características de los mapas genéticos de ciruelo japonés disponibles incluyendo los desarrollados en este estudio.

Población	Método genotipado	Nº individuos	Mapa	Marcadores	Tamaño (cM)	Densidad (cM/marcador)	GLs	QTLs	Referencia
'Chatard' × 'Santa Rosa'	AFLP	88	Chatard Santa Rosa	56 AFLPs 84 AFLPs	905,50 1.349,60	16,20 16,10	11 14	No No	Vieira <i>et al.</i> (2005)
'98-99' × 'Angeleno'	GBS	153	98-99 Angeleno	478 SNPs 502 SNPs	688,80 647,00	1,50 1,30	8 8	Sí Sí	Salazar <i>et al.</i> (2017)
'Angeleno' × 'Aurora'	GBS	137	Angeleno Aurora Consenso	714 SNPs 320 SNPs 732 SNPs	588,00 472,00 617,00	0,81 1,48 0,96	8 8 8	No No No	Carrasco <i>et al.</i> (2018)
'98-99' × 'Angeleno'	GBS y SSR	151	98-99 Angeleno	554 SNPs 19 SSRs 654 SNPs 21 SSRs	557,32 576,51	0,97 0,85	8 8	Sí Sí	Salazar <i>et al.</i> (2020)
'09-16' × 'Fortune'	SLAF-seq	114	Consenso	720 SNPs	869,90	1,21	8	No	Zhang <i>et al.</i> (2020)
'98-99' × 'Angeleno'	GBS	151	98-99 Angeleno	517 SNPs 609 SNPs	614,28 595,31	1,21 1,00	8 8	Sí Sí	Battistoni <i>et al.</i> (2022)
'Black Splendor' × 'Pioneer'	WGS y LcWGS	121	Black Splendor Pioneer	252 SNPs 519 SNPs	707,78 417,64	3,04 0,71	10 13	Sí Sí	Este trabajo
'Red Beaut' × 'Black Splendor'	WGS y LcWGS	103	Red Beaut Black Splendor	441 SNPs 334 SNPs	494,79 769,81	0,85 2,17	15 11	Sí Sí	Este trabajo
'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'	WGS y LcWGS	103	Red Beaut Santa Rosa Precoz	428 SNPs 305 SNPs	646,26 909,23	1,52 4,37	12 11	Sí Sí	Este trabajo

4.4.5. Detección y análisis de QTLs e identificación de su efecto alélico

4.4.5.1. Caracteres fenológicos

Dada la cantidad de resultados obtenidos, nos referiremos en este apartado a aquellos más consistentes, ya que han sido estudiados en mayor profundidad. A continuación, se presentan las figuras que ilustran los QTLs identificados que exhiben una estabilidad durante los tres años de evaluación en relación con los caracteres fenológicos, así como las tablas que describen los efectos alélicos de los SNPs de mayor significancia asociados a dichos QTLs para las tres poblaciones evaluadas: 'BS×PIO' (Figura 4.5 y Tabla 4.13), 'RB×BS' (Figura 4.6 y Tabla 4.14) y 'RB×SRP' (Figura 4.7 y Tabla 4.15).

En el Anexo, se incorporan las tablas descriptivas que abarcan todos los QTLs identificados en las poblaciones 'BS×PIO' (Tabla S1), 'RB×BS' (Tabla S2) y 'RB×SRP' (Tabla S3), proporcionando información detallada acerca de la posición genética, el nivel de significancia de cada QTL, así como otras características (Tablas S1, S2 y S3).

Cabe destacar que, hasta la fecha, son muy escasos los trabajos de investigación que han estudiado los QTLs ligados a caracteres fenológicos en esta especie, ya que la mayoría de los trabajos se han centrado en caracteres de calidad del fruto. Por tanto, la información sobre la arquitectura genética de estos caracteres asociados a la fenología es prácticamente nula, lo que pone en valor la importancia de los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral, donde se han identificado un gran número de QTLs asociados con la fenología, así como estudiado el efecto alélico de los marcadores significativos, permitiéndonos identificar SNPs significativos asociados a regiones vinculadas a caracteres fenológicos que podrían utilizarse en la selección asistida por marcadores moleculares.

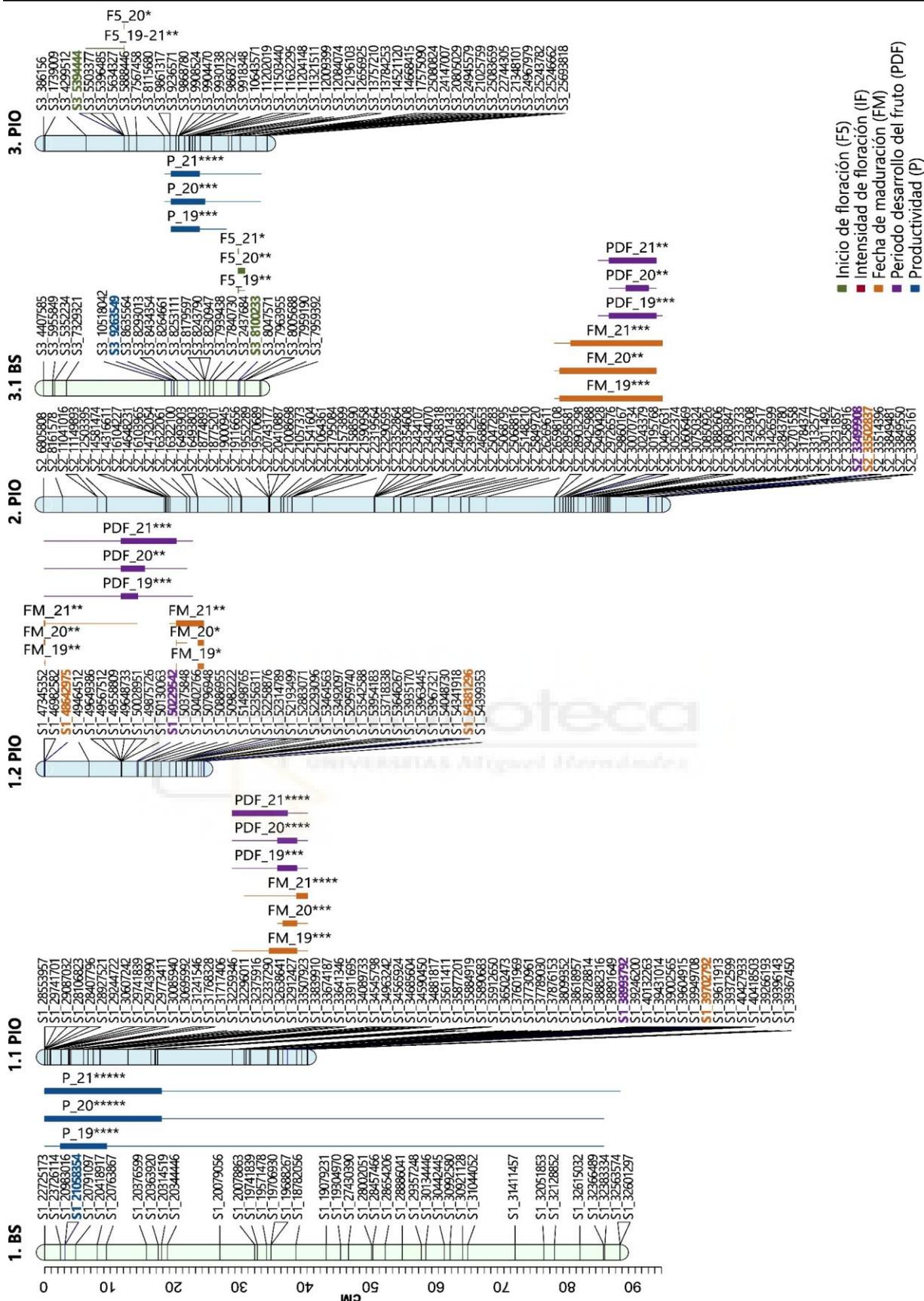


Figura 4.5. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población 'Black Splendor' (BS) x 'Pioneer' (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

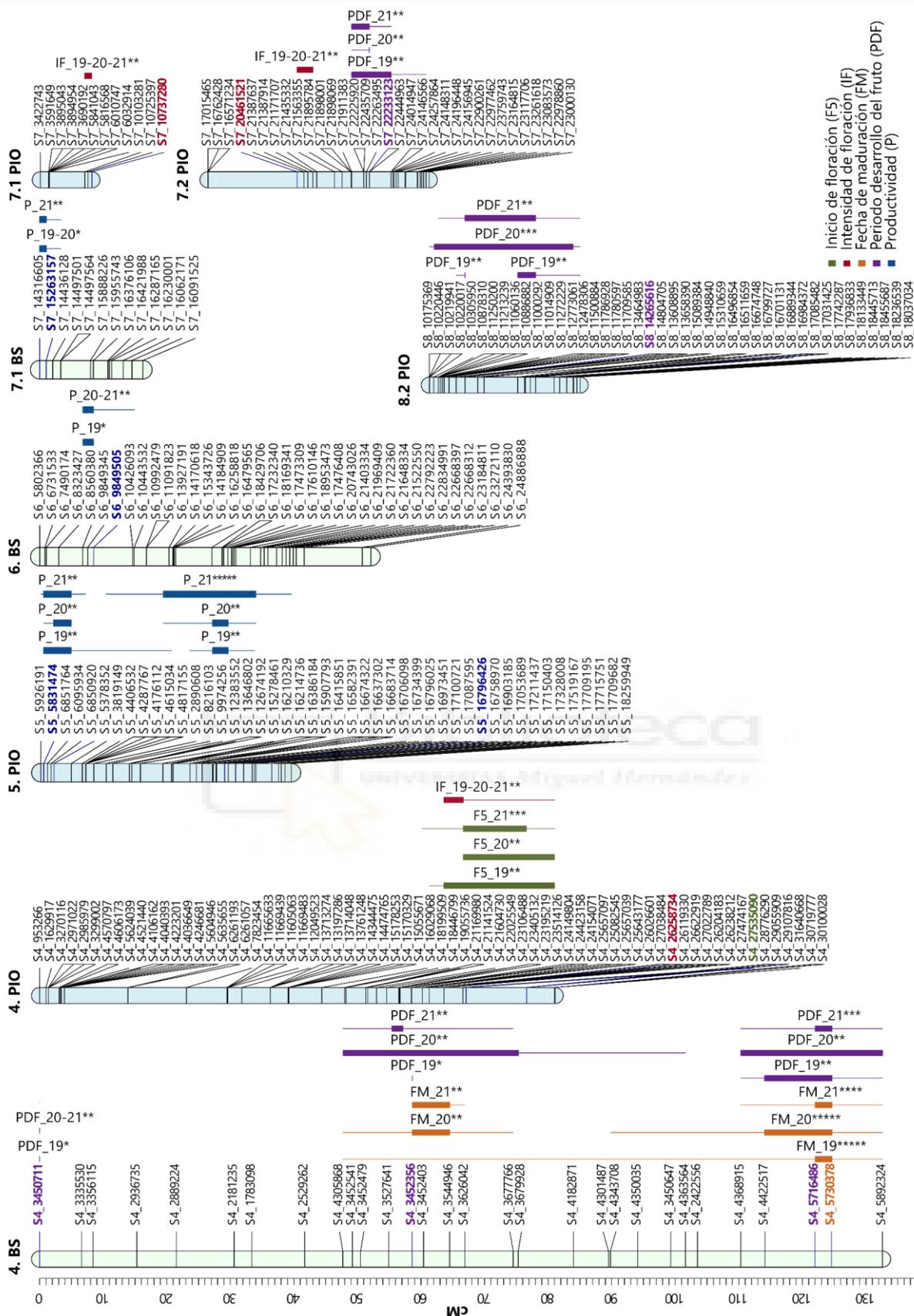


Figura 4.5 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo. (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$) Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.13. Genotipos parentales de la población formada por 'Black Splendor' × 'Pioneer' para los marcadores SNP más significativos de cada QTL asociado con los caracteres fenológicos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Black Splendor	Pioneer	
Inicio de floración	S3_5394444	GG	AG	Tardío
	S3_8100233	GT	GG	Tardío
	S4_27535090	AA	AG	Temprano
Intensidad de floración	S4_26258734	TT	GT	Mayor
	S7_10737280	AA	AG	Mayor
	S7_20461521	GG	AG	Menor
Fecha de maduración	S1_39702792	TT	GT	Temprano
	S1_48642975	TT	CT	Tardío
	S1_54381296	CC	CT	Tardío
	S2_33502837	AA	AT	Temprano
	S4_5730378	AG	GG	Tardío
Periodo de desarrollo del fruto	S1_38993792	TT	CT	Corto
	S1_50229542	AA	AG	Largo
	S2_33499908	CC	CT	Corto
	S4_3450711	CT	TT	Largo
	S4_3452356	CT	CC	Largo
	S4_5716486	GT	GG	Largo
	S7_22233123	CC	GC	Largo
	S8_14265616	GG	GC	Corto
Productividad	S1_21058354	AG	AA	Mayor
	S3_9263549	AG	AA	Mayor
	S5_16796426	AA	AT	Mayor
	S5_5831474	CC	CT	Mayor
	S6_9849505	AC	CC	Mayor
	S7_15263157	AG	AA	Menor

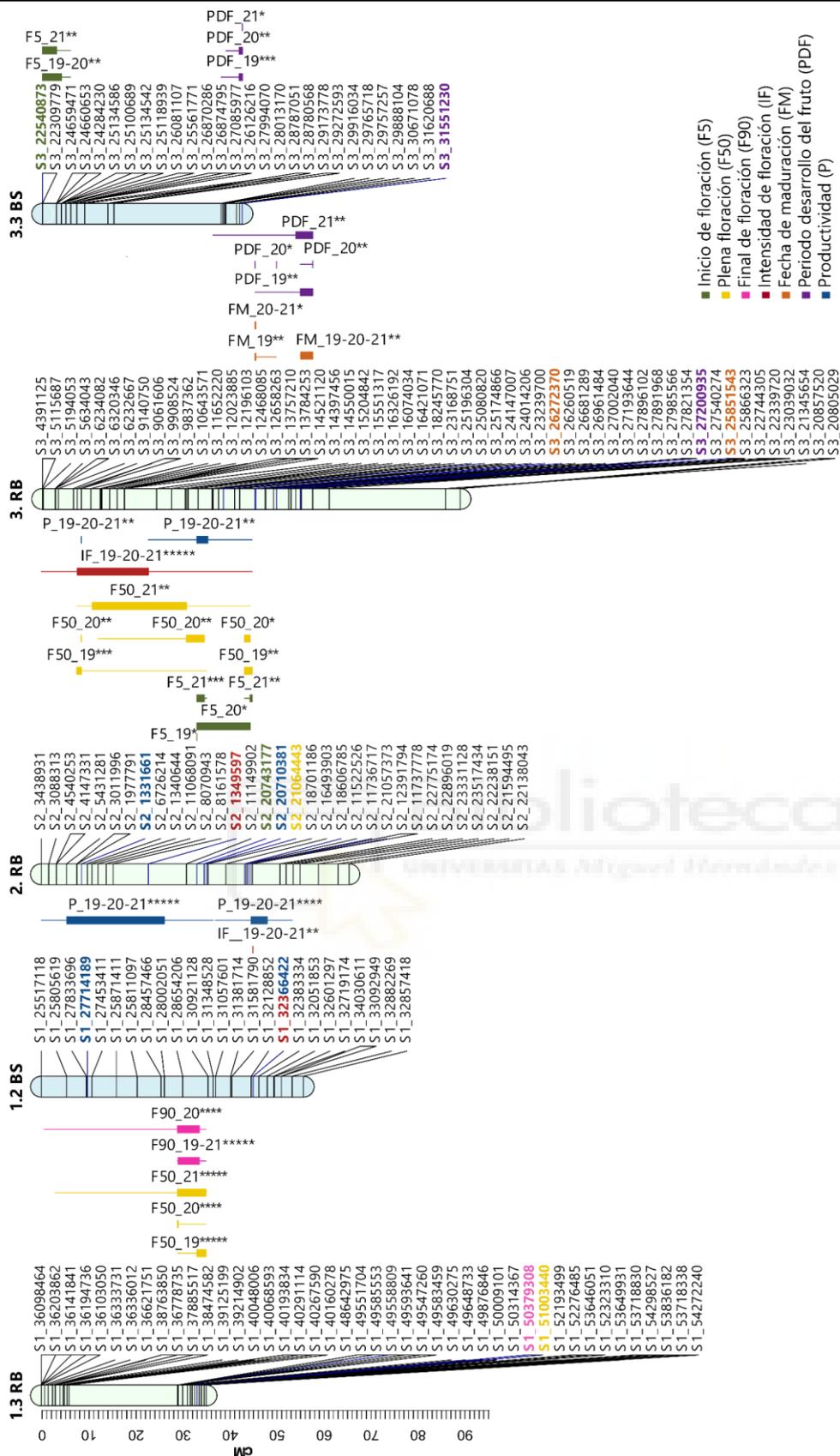


Figura 4.6. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Black Splendor' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo de lo mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

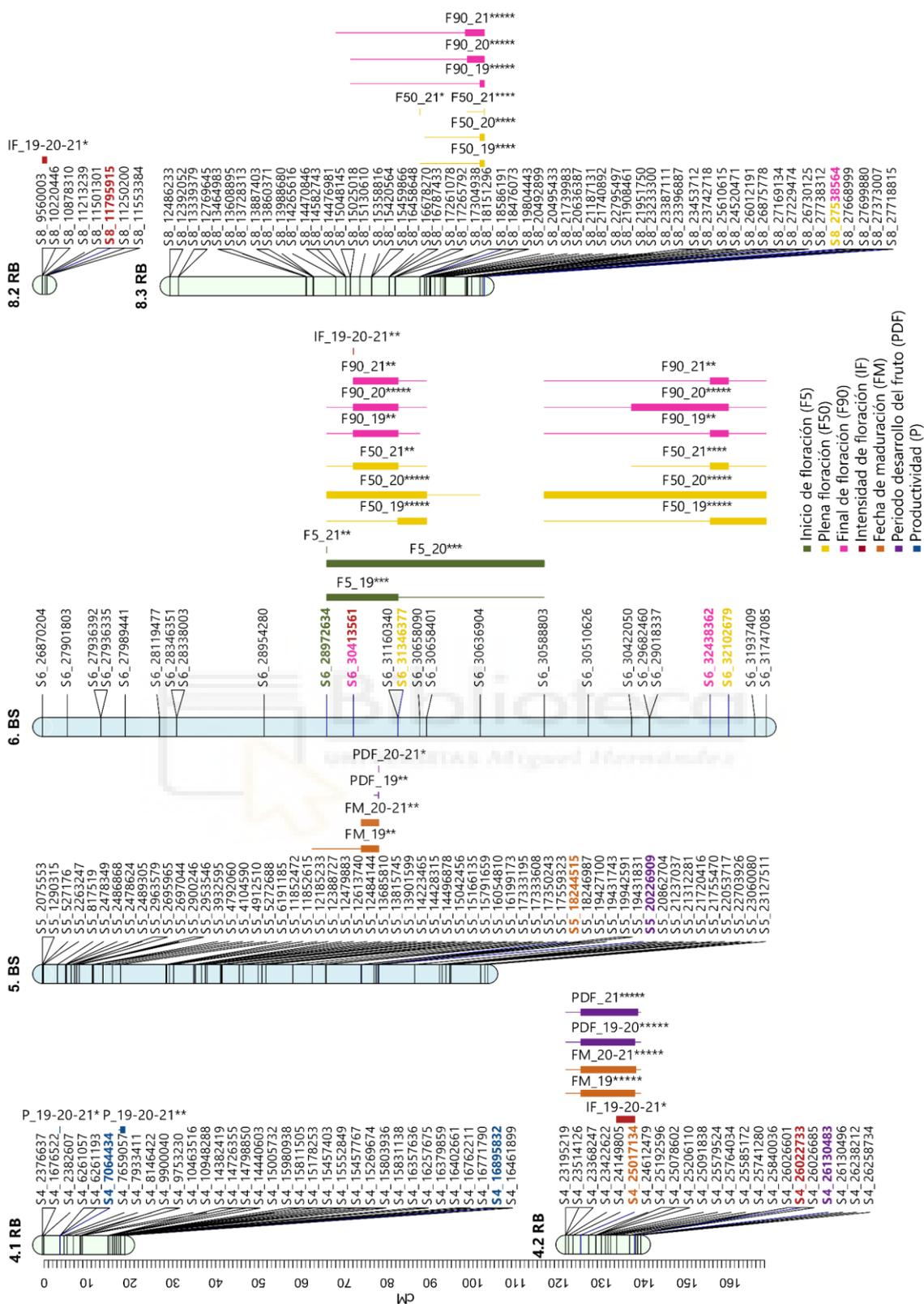


Figura 4.6 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población 'Red Beau' (RB) x 'Black Splend' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.14. Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Black Splendor' para los marcadores SNP más significativos de cada QTL asociado con los caracteres fenológicos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Black Splendor	
Inicio de floración	S2_20743177	AG	GG	Tardío
	S3_22540873	CC	AC	Temprano
	S6_28972634	AA	AC	Tardío
Plena floración	S1_51003440	CT	TT	Tardío
	S2_21064443	AC	AA	Tardío
	S6_31346377	TT	CT	Tardío
	S6_32102679	CC	CT	Tardío
	S8_27538564	AG	AA	Tardío
Final de floración	S1_50379308	CT	TT	Tardío
	S6_30413561	AA	AT	Tardío
	S6_32438362	TT	GT	Tardío
	S8_27538564	AG	AA	Tardío
Intensidad de floración	S1_32366422	AA	AT	Mayor
	S2_1349597	CT	TT	Mayor
	S4_26022733	AG	GG	Menor
	S6_30413561	AA	AT	Mayor
	S8_11795915	AG	GG	Menor
Fecha de maduración	S3_25851543	CG	GG	Temprano
	S3_26272370	AG	GG	Temprano
	S4_25017134	AG	GG	Temprano
	S5_18244515	GG	AG	Temprano
Periodo de desarrollo del fruto	S3_27200935	AG	AA	Corto
	S3_31551230	AA	AG	Largo
	S4_26130483	CG	CC	Corto
	S5_20226909	TT	AT	Corto
Productividad	S1_27714189	CC	AC	Mayor
	S1_32366422	AA	AT	Mayor
	S2_1331661	CT	TT	Mayor
	S2_20710381	AT	TT	Mayor
	S4_7064434	AC	CC	Mayor
	S4_16895832	AT	TT	Mayor

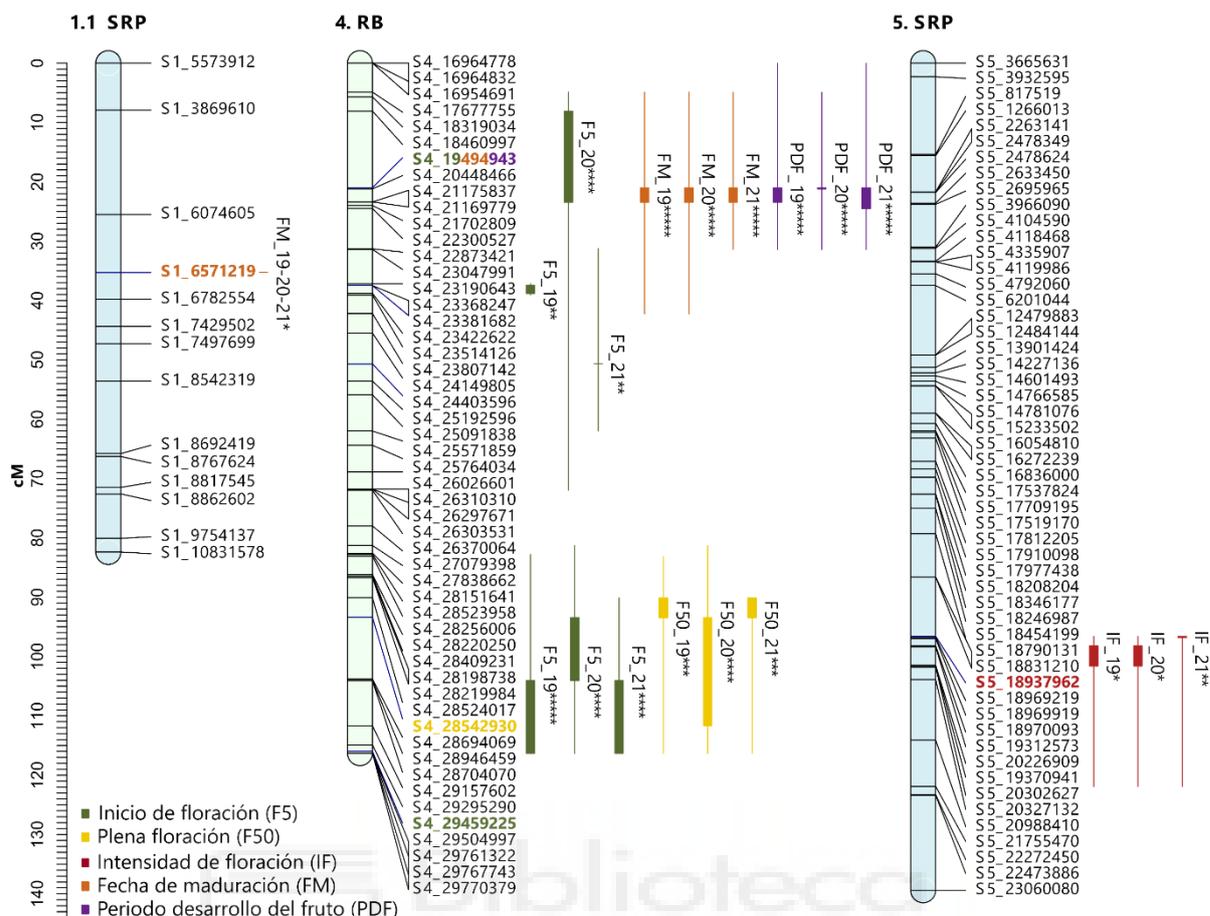


Figura 4.7. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres fenológicos en los parentales de la población ‘Red Beaut’ (RB) × ‘Santa Rosa Precoz’ (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.15. Genotipos parentales de la población formada por ‘Red Beaut’ × ‘Santa Rosa Precoz’ para los marcadores SNP más significativos de cada QTL asociado con los caracteres fenológicos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Santa Rosa Precoz	
Inicio de floración	S4_19494943	AT	AA	Tardío
	S4_29459225	AG	AA	Tardío
Plena floración	S4_28542930	AT	AA	Tardío
Intensidad de floración	S5_18937962	AA	AG	Menor
Fecha de maduración	S1_6571219	AA	AC	Temprano
	S4_19494943	AT	AA	Tardío
Periodo de desarrollo del fruto	S4_19494943	AT	AA	Largo

4.4.5.1.1. Fecha de floración

La fecha de floración es un carácter que presenta una componente genética, ya que es genotipo-dependiente en lo relativo a las necesidades de frío para la salida del letargo y necesidades de calor para florecer, pero que también se encuentra altamente influenciado por las condiciones ambientales, sobre todo por la acumulación de frío y de calor particulares de cada año, por lo que la variabilidad interanual puede ser elevada (Sánchez-Pérez *et al.*, 2007b; Mounzer *et al.*, 2008; Ruiz & Egea, 2008; Minas *et al.*, 2018). Esta circunstancia puede dar lugar a la identificación de QTLs de forma intermitente durante los distintos años debido a las diferencias interanuales de la expresión del carácter.

En este trabajo se han identificado QTLs vinculados a la época de floración, en los tres caracteres evaluados: 'Inicio de floración (F_5)', 'Plena floración (F_{50})' y 'Final de floración (F_{90})', en varios grupos de ligamiento en las tres poblaciones.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO' se ha identificado un número menor de QTLs relacionados con la fecha de floración en comparación con las demás poblaciones, sumando un total de 6 QTLs. El carácter de inicio de floración destaca por su mayor estabilidad durante los tres años de estudio en ambos parentales (Figura 4.5). En cuanto a la plena floración, se detectó un único QTL en el grupo de ligamiento 1 de 'BS' en 2021. Para el final de la floración, se identificaron 2 QTLs en 'PIO': uno en el grupo de ligamiento 4, estable durante los años 2019 y 2021, y otro en el grupo de ligamiento 3, observado únicamente en 2020 (Tabla S1).

En el parental femenino '**BS**', se ha detectado 1 QTL estable ligado a inicio de floración durante los tres años de estudio en el GL3.1, entre las posiciones 29,70-30,67 cM, siendo el marcador SNP 'S3_8100233' el más significativo (Figura 4.5 y Tabla S1), presentando un efecto alélico evidente como se puede observar en la Figura 4.8, donde la mediana de los días julianos para la fecha de inicio de floración difiere significativamente entre genotipos, según lo indicado por el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis en los tres años de estudio. En concreto, el alelo "T" para este SNP parece estar asociado a un fenotipo de inicio de floración tardía, puesto que los individuos con genotipo "GT" muestran una floración retrasada en comparación con aquellos individuos con genotipo "GG".

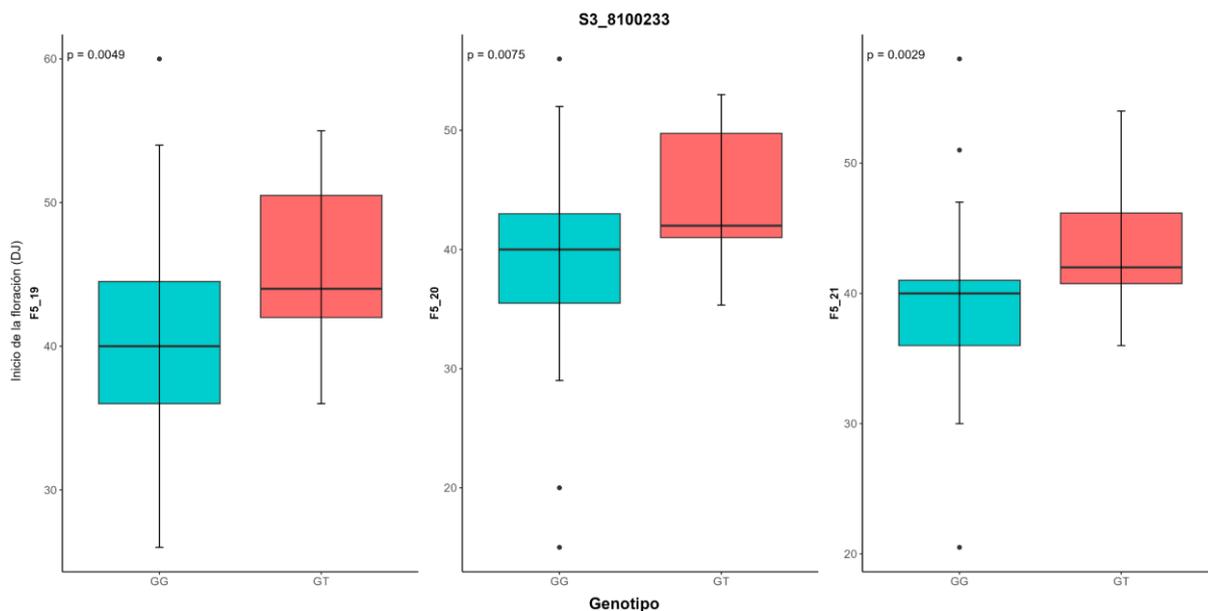


Figura 4.8. Efecto alélico del marcador SNP 'S3_8100233' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para el inicio de floración (F5) diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del marcador SNP 'S3_8100233'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en el parental masculino '**PIO**', se han identificado dos QTLs asociados al inicio de la floración, distribuidos en distintos grupos de ligamiento. El primero se localiza en la región inicial del GL3, abarcando las posiciones 6,46-12,33 cM, con una significancia máxima de $p < 0,05$. El segundo se ubica en el GL4, específicamente en la región final entre las posiciones 61,32-81,09 cM, colocalizándose con otro QTL asociado a la intensidad de floración. Ambos QTLs han mostrado ser estables a lo largo de tres años consecutivos (Figura 4.5 y Tabla S1).

El marcador SNP 'S3_539444' fue el más significativo en el QTL localizado en el GL3 y el estudio de su efecto alélico mostró estar asociado con un retraso en el inicio de floración. Por otro lado, el marcador SNP más significativo del QTL detectado en el GL4 ('S4_27535090'), se correlacionó con un inicio de floración más temprano, donde los individuos que presentan en su genotipo el alelo "G" muestran una floración significativamente más temprana que los individuos sin ese alelo (Tabla 4.13).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS' se han identificado un total de 32 QTLs relacionados con las fechas de floración evaluadas (Tabla S2).

En el parental femenino '**RB**' se han identificado un total de seis QTLs estables durante los tres años de fenotipado en distintos grupos de ligamiento (Figura 4.6 y Tabla S2). El inicio de floración presenta un QTL en el GL2 (Figura 4.6) cuya posición genética se encuentra entre 33,1-44,9 cM, con un valor máximo de K de 10,837 (Tabla S2), presentando el marcador más significativo ('S2_20743177') un efecto alélico donde los individuos con un genotipo "AG"

tienen un inicio de floración más tardío con respecto a los genotipos "GG", lo que indica que el alelo "A" para este marcador podría estar asociado con un inicio de floración más tardío (Tabla 4.14).

En cuanto al carácter plena floración también se ha detectado un QTL en GL2, que colocaliza con el obtenido para inicio de floración, comentado anteriormente, así como para QTLs de intensidad de floración y productividad, lo que sugiere que dicha zona del GL2 de 'RB' está estrechamente vinculada a estos caracteres fenológicos (Figura 4.6).

Sin embargo, los QTLs más significativos para plena floración se encuentran en GL1.3 ($p < 0,0001$) y GL8.3 ($p < 0,0005$) con un valor de K máximo de 16,87 y 14,09 respectivamente, en comparación con el obtenido en GL2 que tiene un valor de K máximo de 11,27 (Figura 4.6, Tabla S2). Además, estos QTLs colocalizaron con los dos obtenidos para el final de la floración de este parental, ya que se encuentran en la misma zona de los grupos de ligamiento 1.3 y 8.3, lo que podría indicar que dichas zonas están estrechamente vinculadas con la fecha de floración.

Tal y como podemos observar en la Tabla 4.14, todos los marcadores con mayor significancia de estos QTLs presentan un efecto alélico similar, donde los genotipos que tienen el SNP muestran una floración significativamente más tardía con respecto a los que no lo presentan.

En el parental masculino 'BS' también se han identificado seis QTLs relacionados con las fechas de floración que han mostrado estabilidad durante los tres años de estudio. El inicio de floración ha presentado dos QTLs estables en los grupos de ligamiento 3.3 y 6.6, siendo el GL6.6 el más vinculado con la fecha de floración, ya que en él se encuentran los QTLs más significativos tanto para inicio, plena como final de floración, encontrándose estos entre las posiciones 66,30-168 cM (Figura 4.6). Además, todos los SNPs de los marcadores más significativos de este grupo de ligamiento presentan un efecto alélico donde los individuos que exhiben el polimorfismo de un solo nucleótido muestran una floración significativamente más tardía con respecto a los que no lo presentan (Tabla 4.14).

Un ejemplo de ello se puede observar claramente en la Figura 4.9, donde se representa el efecto alélico del marcador SNP 'S6_32102679', el más significativo ($p < 0,0001$, valor de K máximo 24,046) del QTL con mayor significancia del GL6 ligado a fecha de plena floración. En ella podemos observar cómo los individuos que tienen el genotipo "CT" muestran una plena floración significativamente más tardía en comparación con los genotipos "CC", dando a entender que el alelo "T" del marcador 'S6_32102679' podría tener un efecto alélico asociado a una fecha de floración más tardía.

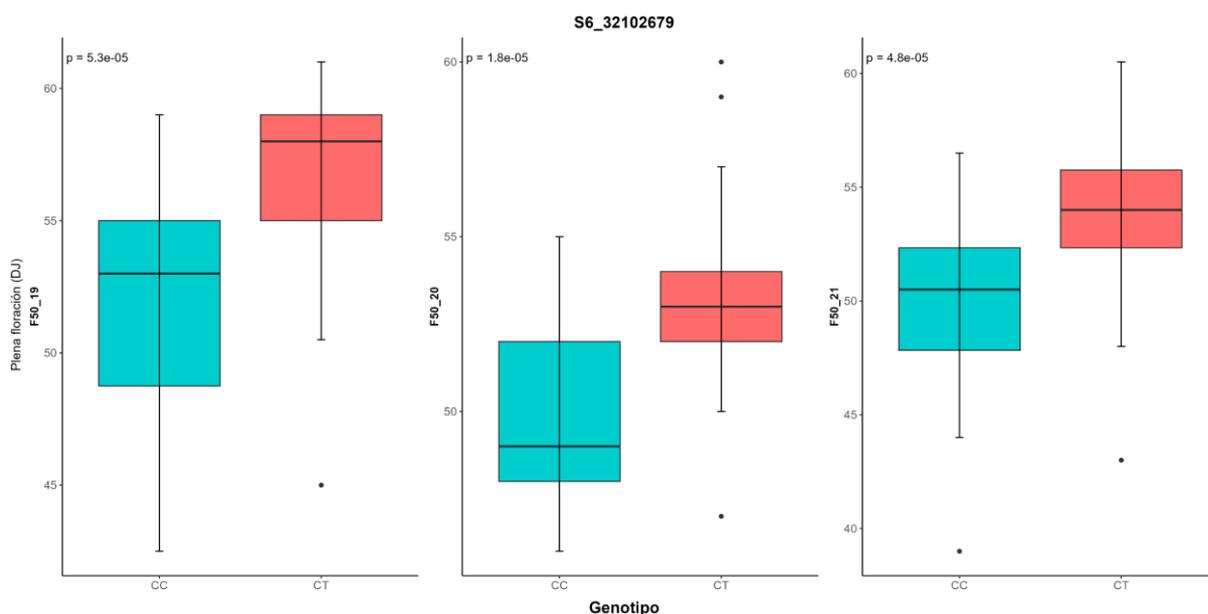


Figura 4.9. Efecto alélico del marcador SNP 'S6_32102679' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para plena floración (F50) diferenciando entre los genotipos "CC" y "CT" del marcador SNP 'S6_32102679'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Sin embargo, el SNP más significativo del QTL ligado a inicio de floración ('S3_22540873') detectado en GL3.3 no tienen el mismo efecto alélico, como se puede observar en la Figura 4.10, donde la mediana de días julianos para el inicio de floración difiere significativamente entre genotipos, tal y como indica el valor p obtenido de la prueba de Kruskal-Wallis durante los tres años de estudio. En concreto, el alelo "G" para el SNP 'S3_22540873' parece estar asociado a un fenotipo de inicio de floración más temprana, puesto que los individuos con genotipo "AG" muestran una floración más temprana en comparación con aquellos genotipos "AA".

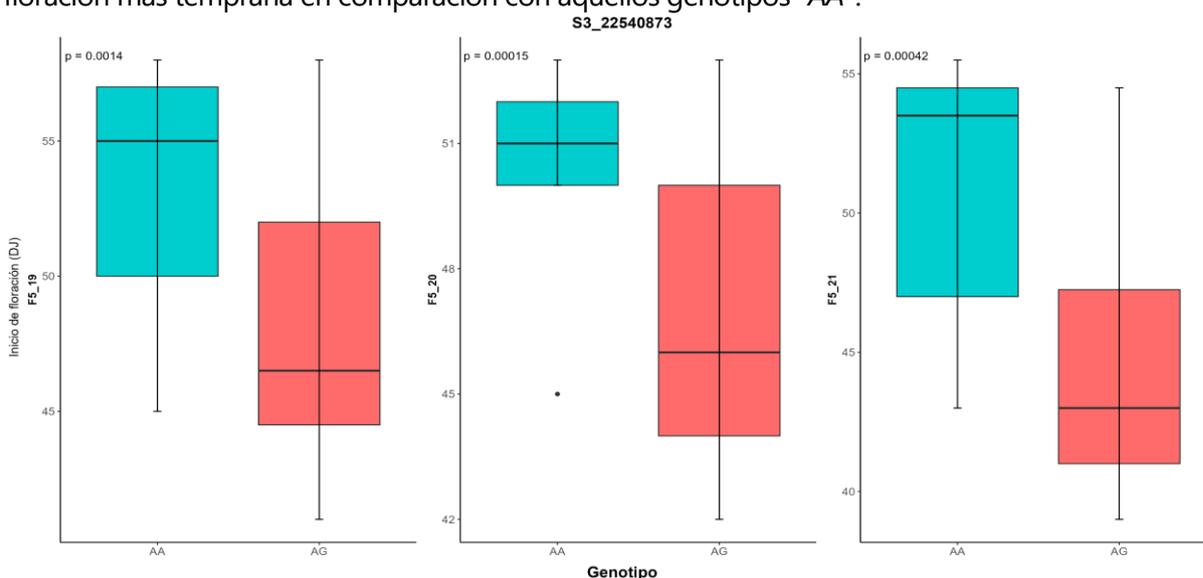


Figura 4.10. Efecto alélico del marcador SNP 'S3_22540873' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para el inicio de floración (F5) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S3_22540873'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

Por último, en la población 'RB×SRP' han sido identificados un total de 16 QTLs referentes a las fechas de floración evaluadas (Tabla S3), entre los cuales únicamente se han detectado tres QTLs estables a lo largo de los tres años de evaluación.

Estos QTLs se encuentran en el GL4 del parental femenino '**RB**', donde encontramos dos QTLs ligados al inicio de floración a lo largo del grupo de ligamiento (Figura 4.7), uno al inicio, entre las posiciones 4-72 cM, cuyo valor de K máximo de los tres años es de 13,3 en 2020 (Tabla S3), y otro QTL al final del mismo, con una mayor significancia durante los tres años, de al menos $p < 0,0005$, que colocaliza con el QTL obtenido para plena floración.

Los marcadores más significativos de estos 3 QTLs presentan el mismo efecto alélico, donde los genotipos que muestran el polimorfismo tienen una floración más tardía con respecto a los individuos que no lo presentan (Tabla 4.15).

Cabe destacar que para el carácter final de floración no se han detectado QTLs consistentes durante los tres años, sin embargo, sí que se han detectado tres QTLs en distintas regiones del grupo de ligamiento 4 durante los años 2019 y 2020, y un último QTL, aunque con menor significancia, en el grupo de ligamiento 8 durante 2021 (Tabla S3).

Por otro lado, en el parental masculino '**SRP**' aunque se han detectado un total de 5 QTLs vinculados a la fecha de floración, ninguno ha presentado estabilidad a lo largo de los tres años de estudio. Para el inicio de floración se han identificado dos QTLs, el primero localizado en GL1.2 estable durante 2020 y 2021, y el segundo en GL6 únicamente detectado en 2021, mientras que para plena floración los QTLs se localizan en GL2.2 en 2019 y 2021, y 2 QTLs a lo largo de GL5 durante 2020 (Tabla S3).

Salazar *et al.* (2019) localizaron en ciruelo japonés marcadores asociados con la fecha de floración empleando estudios de asociación del genoma completo (GWAS) basados en SNPs obtenidos mediante GBS, encontrando así los marcadores más influyentes en la región terminal del GL1 y en la región media del GL7, aunque en los grupos de ligamiento 4, 6 y 8 también se encontraron correlaciones con la fecha de floración.

Sin embargo, únicamente se ha realizado un estudio buscando identificar QTLs ligados a la fecha de floración en ciruelo japonés, donde Salazar *et al.* (2020) detectaron con éxito QTLs ligados a plena floración en GL1, GL6 y GL7. Además, Branchereau *et al.* (2022) evaluaron los caracteres de inicio, plena y final de floración en dos poblaciones de cerezo dulce, detectando QTLs para estos caracteres en casi todos los grupos de ligamiento de ambas poblaciones. Los resultados obtenidos respecto a los QTLs identificados para las fechas de floración en las tres poblaciones evidencia la gran complejidad de este carácter, respaldando la hipótesis de que la expresión del mismo está influenciada por numerosos genes, lo que coincide con los resultados observados en distintos estudios de melocotonero, almendro, cerezo y albaricoquero (Campoy

et al., 2011; Dirlewanger *et al.*, 2012; Socquet-Juglard *et al.*, 2013; Salazar *et al.*, 2016; Rawandoozi *et al.*, 2021; Branchereau *et al.*, 2022).

4.4.5.1.2. Intensidad de floración

Hasta el momento, son muy escasos los estudios que han identificado QTLs vinculados con la intensidad de floración en especies del género *Prunus*. En este trabajo se han identificado QTLs en diversas regiones según las poblaciones estudiadas.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO' únicamente se han identificado QTLs ligados a la intensidad de floración en el parental masculino '**PIO**' (Tabla S1), donde se han detectado tres QTLs, todos ellos estables y con el mismo nivel de significancia ($p < 0,005$) durante los tres años, en tres grupos de ligamiento distintos (GL4, GL7.1 y GL7.2) (Figura 4.5).

El QTL identificado en el GL4 se encuentra localizado entre las posiciones 63,5-81 cM (Tabla S1), solapándose con un QTL obtenido para el inicio de floración, donde su marcador más significativo ('S4_26258734') presenta un efecto alélico donde los individuos con el alelo "G" tienden a presentar una mayor intensidad de floración, ya que los individuos que tienen un genotipo "GT" presentan una intensidad de floración significativamente mayor que los genotipos "TT" (Tabla 4.13).

El resto de QTLs se localizan en GL7.1 y GL7.2 (Figura 4.5) presentando un efecto alélico distinto entre sí, donde los individuos que presentan un genotipo "AG" del marcador SNP 'S7_10737280' del GL7.1 tienden a mostrar una mayor intensidad de floración con respecto a los genotipos "AA", lo que podría indicar que el alelo "G" de este marcador podría estar asociado a una intensidad de floración mayor. Por otro lado, para el marcador SNP 'S7_20461521' del GL7.2 el cambio de nucleótido de "G" por "A" podría estar asociado a una menor intensidad de floración, ya que los genotipos "GG" tienden a presentar una floración más elevada en comparación con los genotipos "AG", mostrando diferencias significativas entre los dos grupos (Tabla 4.13).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS' se han detectado un total de cinco QTLs a lo largo de distintos grupos de ligamiento, todos ellos estables durante los tres años de estudio (Figura 4.6, Tabla S2).

En el parental femenino '**RB**' se han identificado 3 QTLs en los grupos de ligamiento 2, 4.2 y 8.2. El QTL más significativo se encuentra en GL2 con un nivel de significancia de $p < 0,0001$ y con un valor de K de 23,33, siendo su pico de mayor significancia entre 7,60-22,78 cM (Tabla S2), colocalizando, como se puede observar en la Figura 4.6, con QTLs de inicio y plena floración, así como de productividad, lo que sugiere que esta zona del grupo de ligamiento podría ser un "zona caliente" (*hotspot*) estrechamente vinculada a estos caracteres fenológicos.

El marcador SNP más significativo de dicho QTL ('S2_1349597') tiene un efecto alélico donde la intensidad de floración difiere significativamente entre los individuos con genotipo "TT" respecto a los genotipos "CT", donde el alelo "C" para este SNP parece estar vinculado con una floración con mayor intensidad, tal y como se puede observar en la Figura 4.11.

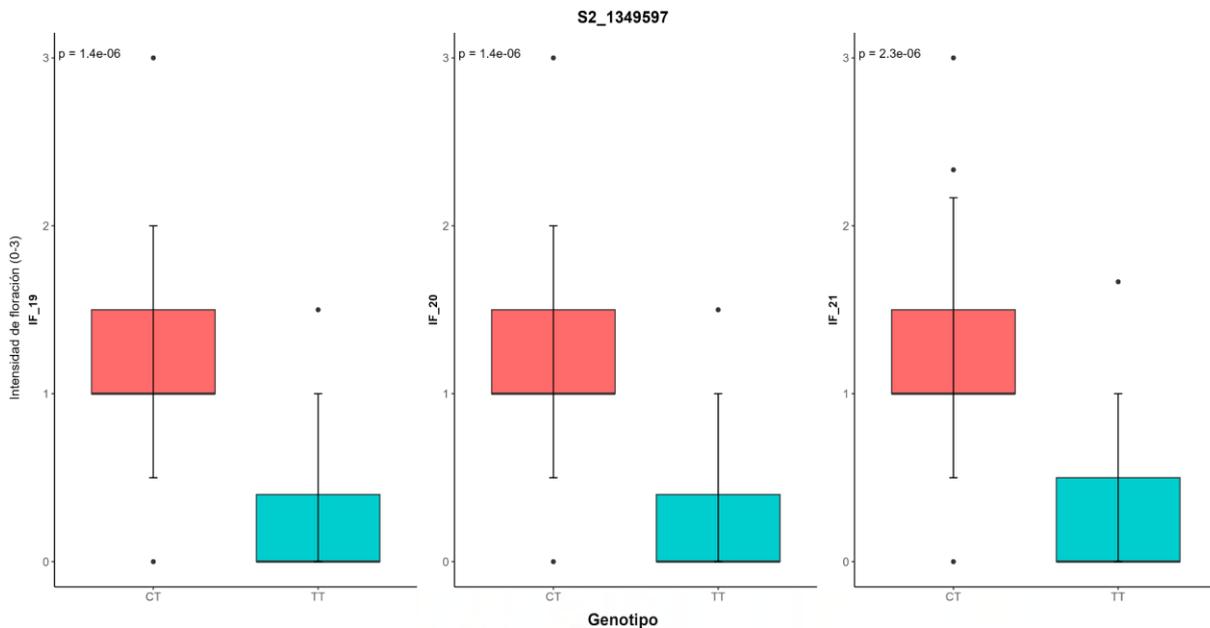


Figura 4.11. Efecto alélico del marcador SNP 'S2_1349597' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución para la intensidad de floración (IF) diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del marcador SNP 'S2_1349597'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la intensidad de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, aunque con una menor significancia ($p < 0,01$), los QTLs detectados en GL 4.2 y 8.2 presentan un efecto alélico contrario al anteriormente descrito, donde los individuos que presentan el genotipo "AG" en los marcadores SNP 'S4_26022733' y 'S8_11795915' muestran una intensidad de floración significativamente inferior a los genotipos "GG", por lo que el alelo "A" en estos marcadores podría estar asociado a una intensidad de floración menor (Tabla 4.14).

En cuanto al parental masculino de la población, 'BS', se han detectado 2 QTLs, uno en el grupo de ligamiento 1.2 y otro en el 6, ambos estables durante los tres años de estudio. Dichos QTLs presentan un nivel de significancia de $p < 0,005$, y se encuentran localizados en la posición 45,051 cM del GL1.2, junto con otro QTL vinculado a la productividad, y en la posición 72,508 cM en el caso del QTL detectado en GL6, colocalizando con QTLs relacionados con las tres fechas de floración estudiadas (F5, F50 y F90) (Figura 4.6 y Tabla S2).

Los marcadores más significativos de dichos QTLs presentan un efecto alélico donde los individuos que exhiben el genotipo "AT" muestran una intensidad de floración significativamente superior con respecto a los individuos con genotipo "AA", por lo que el alelo

"T" de los marcadores 'S1_32366422' y 'S6_30413561' podría estar vinculado a una intensidad de floración mayor (Tabla 4.14).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP' únicamente se han identificado QTLs ligados a intensidad de floración en el parental femenino 'RB' (Tabla S3), detectándose dos QTL en el grupo de ligamiento 5, donde uno de ellos fue estable durante los tres años de estudio (Figura 4.6) al final del grupo de ligamiento, entre las posiciones 96,62-121,9 cM, mientras que el segundo que ocupa la posición 63,353 cM únicamente ha sido detectado en 2019 y 2020 (Tabla S3).

El marcador SNP con mayor significancia del QTL estable durante los tres años, 'S5_18937962', presenta un efecto alélico como se puede observar en la Figura 4.12, donde la intensidad de floración difiere significativamente entre genotipos, tal y como indica el valor p obtenido de la prueba de Kruskal-Wallis. En concreto el alelo "G" para este SNP parece estar asociado a un fenotipo de intensidad de floración menor, puesto que los individuos con genotipo "AG" muestran una de floración menos intensa en comparación con aquellos genotipos "AA".

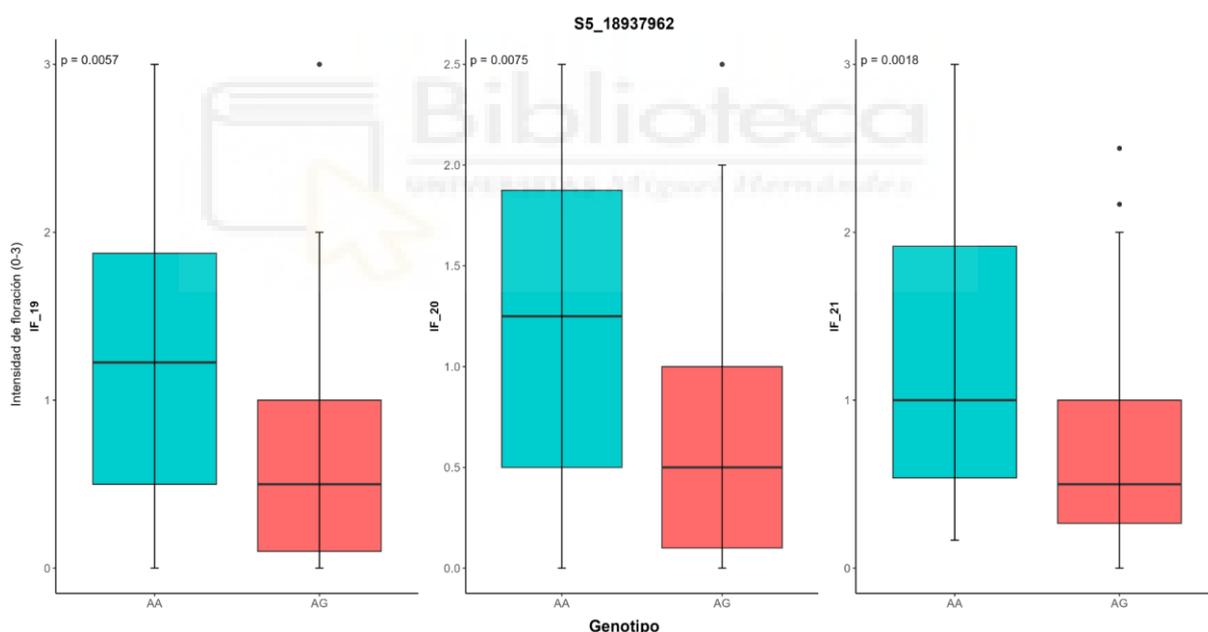


Figura 4.12. Efecto alélico del marcador SNP 'S5_18937962' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución para la intensidad de floración (IF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S5_18937962'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la intensidad de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Hasta la fecha, los estudios sobre identificación de QTLs asociados con la intensidad de floración en especies de *Prunus* ha sido limitada. En este estudio se ha revelado la presencia de QTLs vinculados a la intensidad de floración en distintas regiones genómicas, dependiendo de la población de estudio. Dentro de la población 'BS×PIO', se han identificado QTLs significativos en el parental 'PIO' en GL4, junto con el inicio de floración, así como en los dos

segmentos de GL7. En la población 'RB×BS', se han observado QTLs en GL1.1, GL2, GL4.2, GL6 y GL8.2, destacándose el GL2 del parental 'RB' donde se ha localizado el QTL más significativo, coincidiendo con caracteres de floración y productividad, mientras que los QTLs más importantes para 'BS' se han localizado en el GL1.2, junto con QTLs para productividad, y en el GL6 junto con QTLs de floración. En un estudio realizado previamente por Sánchez-Pérez *et al.* (2007b), se identificó un QTL para la intensidad de floración en almendro, específicamente en GL4, sin embargo, presentó valores de significancia muy bajos, pudiendo explicar únicamente menos del 12% de la varianza fenotípica, por lo que no fue considerado un QTL mayor.

4.4.5.1.3. Fecha de maduración y periodo de desarrollo del fruto

La fecha de maduración y el periodo de desarrollo del fruto son dos caracteres que se encuentran significativamente correlacionados entre sí, como se corroboró con los resultados obtenidos en el fenotipado de las familias (ver Apartado 3.4.3.1.). Debido a esta estrecha relación la mayoría de los QTLs de estos dos caracteres que se han detectado se encuentran localizados en las mismas regiones de los grupos de ligamiento como podremos ver a continuación.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO' se han identificado un total de seis QTLs vinculados a la fecha de maduración en distintos grupos de ligamiento, de los cuales cinco se muestran estables durante los tres años de fenotipado, mientras que para el carácter del periodo de desarrollo del fruto se han detectado ocho QTLs, todos ellos estables durante los tres años de estudio (Figura 4.5, Tabla S1).

En el parental femenino 'BS' destaca el grupo de ligamiento 4 como el único en el que se han detectado QTLs ligados a ambos caracteres fenológicos (Figura 4.5, Tabla S1). Se ha identificado un QTL vinculado a la fecha de maduración que abarca gran parte del grupo de ligamiento, presentando su nivel más alto de significancia ($p < 0,0001$) al final del mismo, entre las posiciones 114,05-124,64 cM, obteniendo un valor de K máximo en 2019 de 16,067, coincidiendo con el QTL más significativo de los tres obtenidos para el periodo de desarrollo del fruto. Además, para el periodo de desarrollo del fruto se han identificado dos QTLs más, uno al inicio del grupo de ligamiento 4, que también coincide en posición con un QTL significativo obtenido para la fecha de maduración durante 2020 (Tabla S1) y otro que se localiza al inicio del QTL de fecha de maduración, presentando su pico de mayor significancia entre las posiciones 47,72-75,38 cM (Figura 4.5, Tabla S1).

Los marcadores más significativos de cada QTL presentan un efecto alélico donde los individuos que poseen el SNP muestran una fecha de maduración tardía y un periodo de desarrollo del fruto más amplio en comparación con los genotipos que no lo presentan (Tabla 4.13). Este efecto se puede observar gráficamente en la Figura 4.13, donde se representa el efecto alélico del marcador SNP 'S4_5730378', donde los individuos que presentan el genotipo "GG" muestran una fecha de maduración significativamente más precoz a los individuos con genotipo "AG", por lo que se podría decir que el alelo "A" para este marcador presenta un efecto donde los individuos muestran una maduración más tardía.

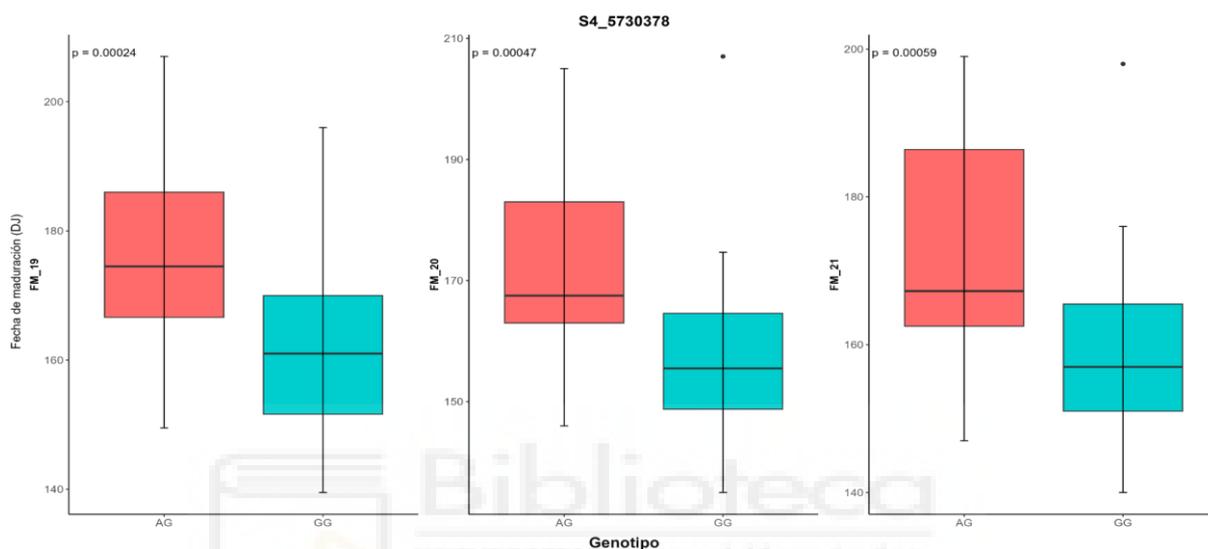


Figura 4.13. Efecto alélico del marcador SNP 'S4_5730378' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para fecha de maduración (FM) diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del marcador SNP 'S4_5730378'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de las fechas de inicio de floración entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

En cuanto al parental masculino '**PIO**' se han detectado cuatro QTLs vinculados a la fecha de maduración, todos ellos estables a lo largo de los tres años en los grupos de ligamiento 1.1, 1.2 y 2, encontrándose en las mismas regiones del genoma que tres de los cinco QTLs vinculados al periodo de desarrollo del fruto. Para el carácter periodo de desarrollo del fruto, también se han detectado QTLs en GL 7.2 y 8.2, todos ellos estables durante los tres años (Figura 4.5, Tabla S1)

Los marcadores SNPs más significativos de los QTLs localizados en el GL1.1 ('S1_39702792' para la fecha de maduración y 'S1_38993792' para el periodo de desarrollo del fruto) y en GL2 ('S2_33502837' para la fecha de maduración y 'S2_33499908' para el periodo de desarrollo del fruto) presentan un efecto alélico donde los individuos que poseen el SNP muestran una fecha de maduración temprana y un periodo de maduración más reducido en comparación con los genotipos que no lo presentan (Tabla 4.13). Sin embargo, el efecto alélico de los marcadores más significativos de los QTLs localizados en el grupo de ligamiento 1.2 para estos caracteres muestran un efecto alélico donde el SNP parece estar asociado a un

fenotipo de maduración significativamente más tardío y un periodo de desarrollo más largo (Tabla 4.13).

Por otro lado, los dos QTLs identificados para el periodo de desarrollo del fruto en los grupos de ligamiento 7.2 y 8.2 presentan un efecto alélico contrario entre sí, donde los marcadores más significativos del QTL detectado en GL7.2 tienen un efecto alélico donde los individuos que presentan el genotipo "GC" para el marcador 'S7_22233123' muestran un periodo de desarrollo del fruto significativamente más extenso en comparación con los genotipos "CC", mostrando que el alelo "G" para este marcador podría estar vinculado con un desarrollo del fruto más largo, mientras que los marcadores más significativos para el QTL detectado en GL8.2 presentan un efecto alélico donde los individuos que presentan en su genotipo el SNP muestran un desarrollo del fruto significativamente más corto que los genotipos que no lo tienen (Tabla 4.13).

Población 'Red Beaut × Black Splendor'

En la población 'RB×BS' se han identificado seis QTLs vinculados a la fecha de maduración y cinco QTLs al periodo de desarrollo del fruto, la mayoría de ellos localizados en las mismas regiones de los grupos de ligamiento en los que se han detectado (Figura 4.6, Tabla S2).

En el parental femenino '**RB**' se han detectado QTLs estables durante los tres años de estudio tanto para la fecha de maduración como para el periodo de desarrollo del fruto en los grupos de ligamiento 3 y 4.2 (Figura 4.6, Tabla S2), siendo los detectados en GL4.2 los que presentan un nivel más alto de significancia entre las posiciones 3,54-16,7 cM para ambos caracteres, siendo este de $p < 0,001$ con un valor de K máximo de 20,87 y 16,52 para la fecha de maduración y el periodo de desarrollo del fruto respectivamente (Tabla S2).

Como se puede observar en la Tabla 4.14, los SNPs más significativos de los QTLs detectados en 'RB' muestran un efecto alélico donde los individuos que muestran un genotipo "CG" para el marcador 'S3_25851543' y "AG" para los marcadores 'S3_26272370' y 'S4_25017134' presentan una fecha de maduración significativamente más temprana en comparación con los genotipos que no tienen el SNP.

En cuanto al periodo de desarrollo del fruto, los marcadores más significativos de los QTLs identificados en los grupos de ligamiento 3 ('S3_27200935') y 4 ('S4_26130483') presentan un efecto alélico donde los individuos que presentan el SNP con el alelo "G" muestran un periodo de desarrollo del fruto significativamente más corto que el resto de individuos tal y como se puede observar en la Figura 4.14.

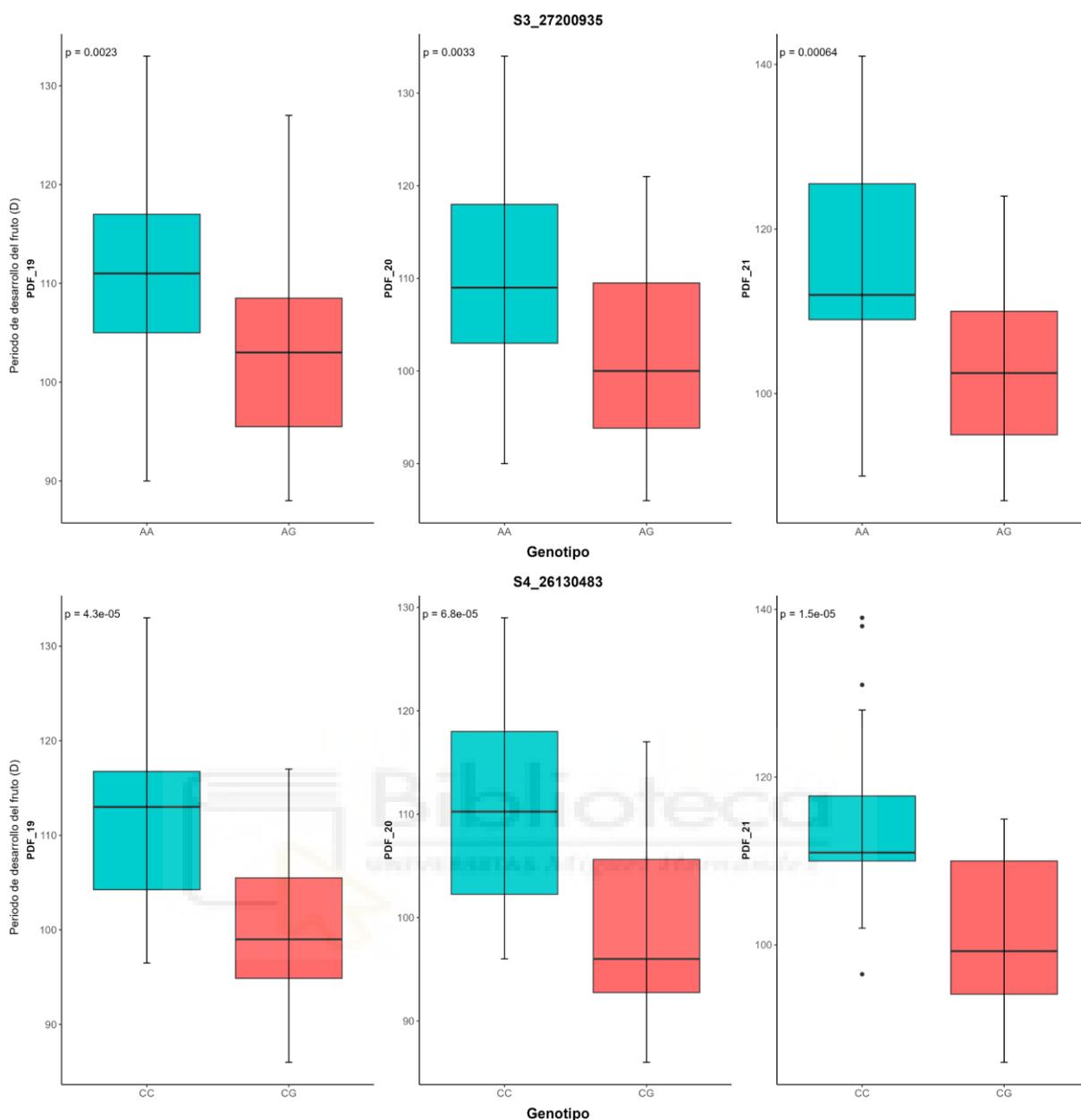


Figura 4.14. Efecto alélico de los marcadores SNP 'S3_27200935' (arriba) y 'S4_26130483' (abajo) de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días (D) para el periodo de desarrollo del fruto (PDF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S3_27200935' y "CC" y "CG" del marcador 'S4_26130483'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución ambos caracteres entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en cuanto al parental masculino 'BS' se ha identificado un único QTL para la fecha de maduración del fruto localizado en el grupo de ligamiento 5, presentando su nivel máximo de significancia entre las posiciones 74,33-78,43 cM y colocalizando con otro QTL obtenido para el periodo de desarrollo del fruto, del que también se ha identificado otro QTL en el grupo de ligamiento 3.3, todos ellos estables durante los tres años (Figura 4.6, Tabla S2).

Los marcadores más significativos de los QTLs localizados en el GL5, tanto para la fecha de maduración como para el periodo de desarrollo del fruto, presentan un efecto alélico donde los individuos que tienen el alelo "A" del SNP de cada marcador en el genotipo exhiben un fenotipo de fecha maduración temprano y un periodo de desarrollo corto (Tabla 4.14). En el caso del marcador más significativo para el QTL ligado al periodo de desarrollo del fruto detectado en GL3.3 ('S3_31551230'), existen diferencias significativas entre los individuos que presentan un genotipo "AA" respecto al genotipo "AG", por lo que el alelo "G" para este marcador parece estar asociado a un desarrollo del fruto más largo (Figura 4.15).

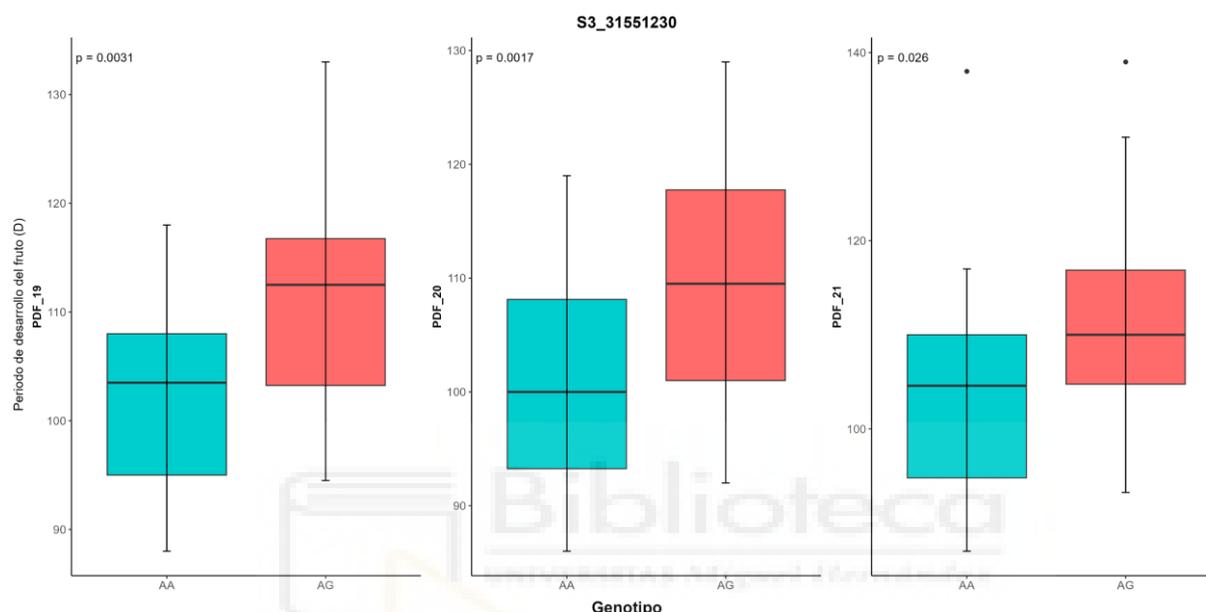


Figura 4.15. Efecto alélico del marcador SNP 'S3_31551230' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días (D) para el periodo de desarrollo del fruto (PDF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador SNP 'S3_31551230'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del periodo de desarrollo de fruto entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut × 'Santa Rosa Precoz'

En cuanto a la población 'RB×SRP', el parental 'RB' ha sido el único que ha mostrado un QTL altamente significativo ($p < 0,0001$), con un valor de K máximo de 19,48 en los tres años en el grupo de ligamiento 4, tanto para fecha de maduración como para el periodo de desarrollo del fruto, presentando ambos su pico de mayor significancia entre las posiciones 21-23,4 cM (Figura 4.7, Tabla S3).

El marcador 'S4_19494943' es el más significativo de los QTLs de ambos caracteres, presentando un efecto alélico tanto para la fecha de maduración como para el periodo de desarrollo del fruto (Figura 4.16). En este caso, el alelo "T" parece estar asociado a un fenotipo de maduración tardía y periodo de desarrollo del fruto largo, puesto que los individuos con genotipo "AT" muestran una maduración significativamente más retrasada y un periodo de desarrollo del fruto más amplio en comparación con aquellos individuos que presentan el genotipo "AA" para este marcador.

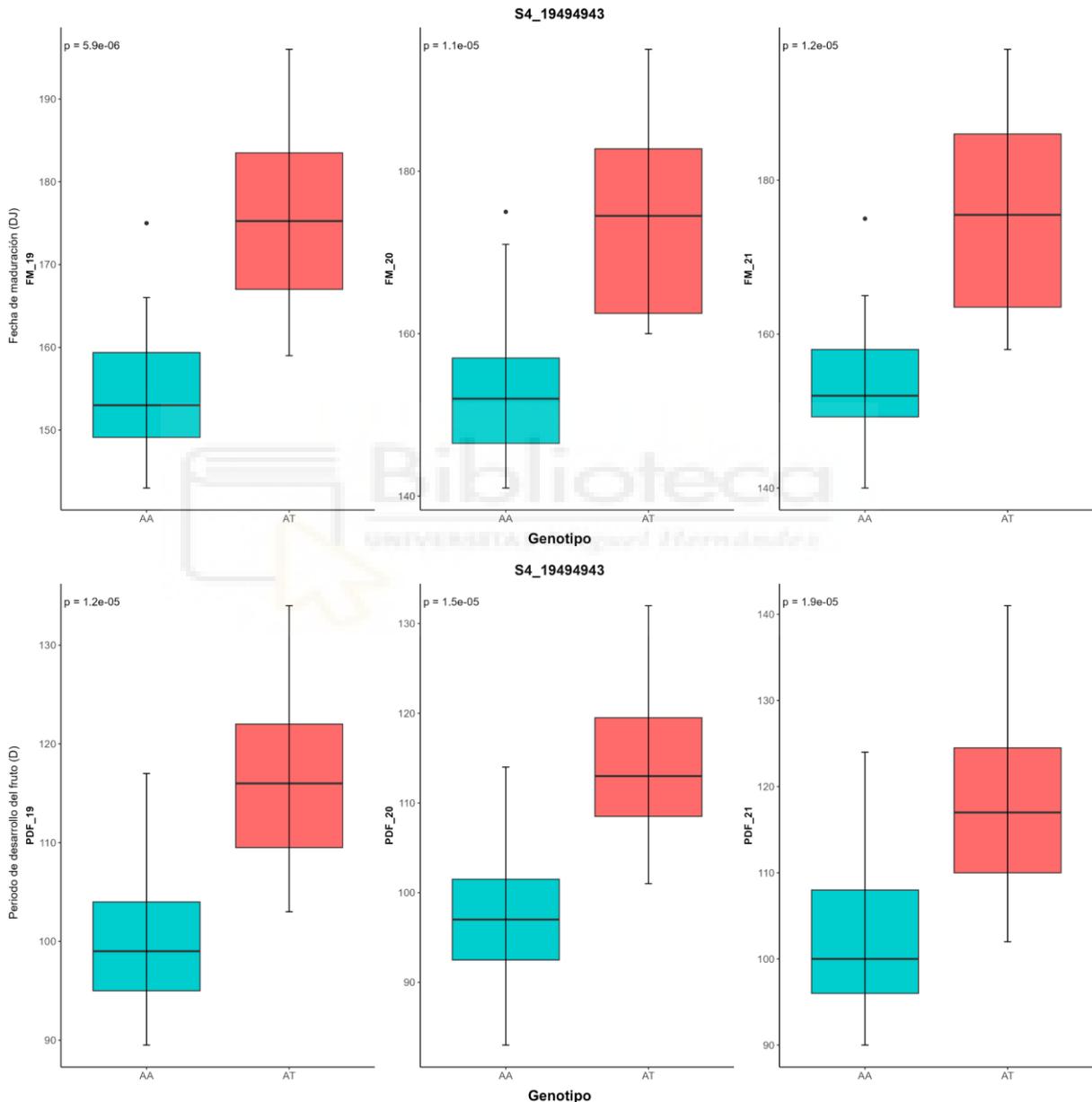


Figura 4.16. Efecto alélico del marcador SNP 'S4_19494943' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución en días julianos (DJ) para la fecha de maduración (FM) y en días (D) para el periodo de desarrollo del fruto (PDF) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AT" del marcador SNP 'S4_19494943'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, el parental masculino '**SRP**' únicamente presenta un QTL estable durante los tres años de fenotipado para la fecha de maduración en el grupo de ligamiento 1.1 con un nivel de significancia de $p < 0,01$ (Figura 4.7, Tabla S3), que colocaliza con un QTL identificado para el periodo de desarrollo del fruto únicamente en los años de fenotipado 2020 y 2021, pero no en 2019 (Tabla S3). En ambos QTLs el marcador 'S1_6571219' es el más significativo, mostrando un efecto alélico en el fenotipo, donde los individuos con un genotipo "AC" presentan una fecha de maduración significativamente más temprana que los genotipos "AA" (Tabla 4.15).

Cabe mencionar que, comparando los resultados de las tres poblaciones, el grupo de ligamiento 4 cobra una gran importancia, al ser el que presenta los QTLs más significativos en los parentales femeninos de las tres poblaciones ('BS' en 'BS×PIO', 'RB' en 'RB×BS' y 'RB×SRP') tanto para la fecha de maduración como para el periodo de desarrollo del fruto. Estos resultados coinciden con estudios previos realizados en ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2017; Salazar *et al.*, 2020) y en otras especies de *Prunus* como melocotonero, albaricoquero y ciruelo dulce (Dirlewanger *et al.*, 2012; Sánchez-Pérez *et al.*, 2012; Rawandoozi *et al.*, 2021), donde el GL4 ha sido identificado como una región genómica crucial que regula estos caracteres. Sin embargo, en los parentales masculinos sí que encontramos una mayor diversidad de grupos de ligamiento en los que se han identificado QTLs significativos, siendo los dos segmentos de GL1 (GL1.1 y GL1.2) y el GL2 los más significativos en 'PIO', el GL3.3 y GL5 en 'BS', y el GL1.1 en 'SRP'. Además, debemos destacar que en la mayoría de grupos de ligamiento, los QTLs asociados con estos caracteres a menudo muestran un solapamiento espacial, como demuestran sus intervalos de confianza coincidentes.

4.4.5.1.4. Productividad

La productividad es un atributo fundamental en toda variedad frutal. El nivel de productividad depende de múltiples factores, incluyendo la fenología y aspectos de biología floral como la intensidad de floración y el porcentaje de fructificación, pero también de factores ambientales y agronómicos. Por tanto, es esperable una naturaleza poligénica en la expresión de este carácter.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En cuanto al parental '**BS**' de la población 'BS×PIO', se han identificado QTLs vinculados con la productividad a lo largo de seis grupos de ligamiento distintos (GL1, GL3.1, GL4, GL5, GL6 y GL7.1), siendo únicamente cuatro QTLs estables durante los 3 años de fenotipado localizados en GL1, GL3.1, GL6 y GL7 (Figura 4.5, Tabla S1).

El QTL que presenta la mayor significancia ($p < 0,0001$) se encuentra localizado a lo largo de todo el grupo de ligamiento 1, mostrando su nivel más alto de significancia entre las posiciones 0,0-17,78 cM con un valor de K máximo de 18,88 en 2021 (Tabla S1).

Los marcadores más significativos de los QTLs localizados en GL1, GL3 y GL6 muestran un efecto alélico donde los individuos que presentan el SNP muestran una mayor productividad en comparación con los individuos que no lo presentan, mientras que en los marcadores con mayor significancia del QTL localizado en el GL7.1 el efecto alélico es contrario, presentando los individuos con un genotipo "AG" una productividad significativamente menor que los que poseen un genotipo "AA", por lo que el alelo "G" en este marcador parece estar asociado a una productividad menor (Tabla 4.13).

En cuanto al parental femenino 'PIO' se han detectado dos QTLs estables durante los tres años, a lo largo de GL5, uno al inicio del grupo de ligamiento y otro que presenta su nivel más alto de significancia entre las posiciones 16,84-29,6 cM, presentando un nivel de significancia máximo en 2021 de $p < 0,0001$ (Figura 4.5, Tabla S1).

Los marcadores más significativos de los dos QTLs identificados muestran un efecto alélico similar (Tabla 4.13). Como podemos observar en la Figura 4.17, donde se muestra el efecto alélico del marcador SNP más significativo del segundo QTL detectado en GL5 'S5_16796426', la productividad difiere significativamente entre genotipos, siendo el alelo "T" para este marcador el que parece estar asociado a un fenotipo con una mayor productividad, ya que los individuos con genotipo "AT" tienden a mostrar una mayor productividad en comparación con aquellos individuos que presentan el genotipo "AA".

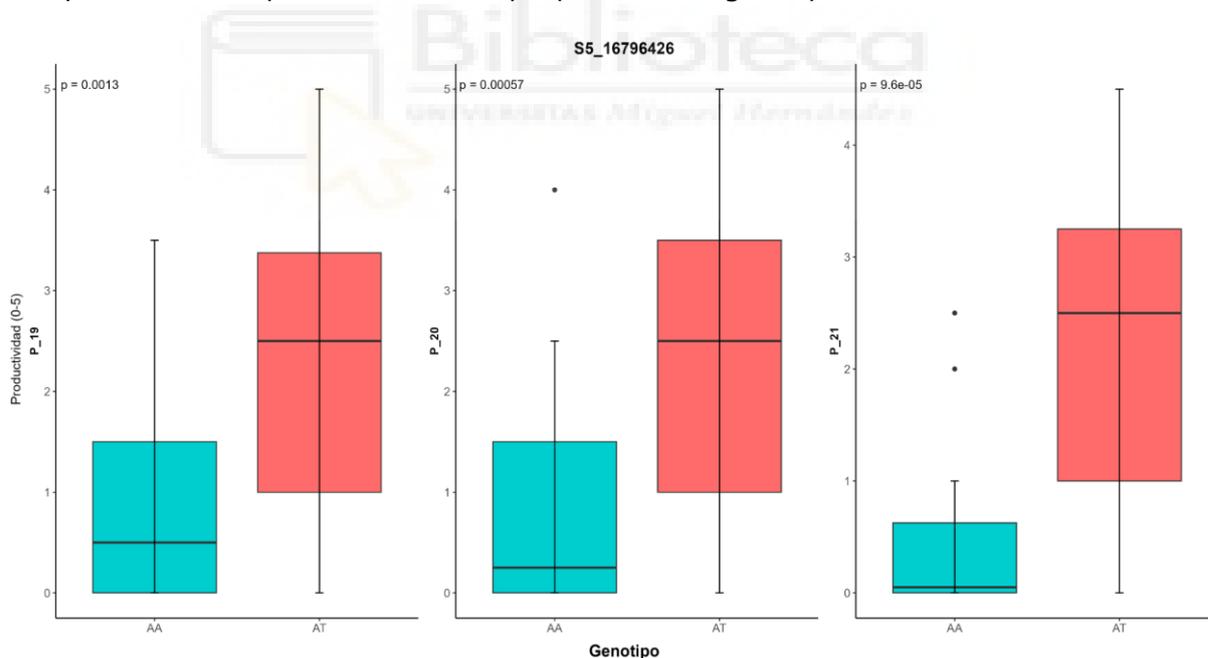


Figura 4.17. Efecto alélico del marcador SNP 'S5_16796426' de 'Pioneer'. Cada diagrama de caja representa la distribución para la productividad diferenciando entre los genotipos "AA" y "AT" del marcador SNP 'S5_16796426'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de la productividad entre los diferentes fenotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS' se han identificado un total de cuatro QTLs a lo largo de los grupos de ligamiento 2 y 4.1 en el parental 'RB' y dos QTLs en 'BS' en el grupo de ligamiento 1.2, todos ellos estables durante los tres años (Figura 4.6, Tabla S2).

Los dos QTLs identificados en GL2 de '**RB**' se encuentran localizados en una región donde también se han identificado otros QTLs vinculados a caracteres fenológicos como el inicio y plena floración, así como a la intensidad de floración (Figura 4.6, Tabla S2). Ambos QTLs presentan un nivel de significancia de $p < 0,001$, exhibiendo el QTL posicionado entre 22,78-44 cM el valor estadístico de K mayor de los dos, siendo de 10,41 (Tabla S2).

Por otro lado, los dos QTLs identificados en GL1.2 en el parental masculino '**BS**' muestran un mayor nivel de significancia, siendo este de $p < 0,0001$ para el que presenta el pico máximo de significancia en las posiciones 5,42-26,18 cM y de $p < 0,0005$ para el que muestra su máximo nivel de significancia entre las posiciones 44,7-48,08 cM. Este último QTL colocaliza con otro identificado para la intensidad de floración, siendo para ambos caracteres el marcador 'S1_32366422' el que presenta la mayor significancia de ambos. Este hecho se puede explicar debido a la gran correlación que existe entre la intensidad de floración y la productividad (ver Apartado 3.4.3.1.), presentando estos caracteres una gran vinculación entre sí.

Todos los marcadores que presentan la mayor significancia para todos los QTLs obtenidos en ambos parentales presentan un efecto alélico similar, donde los individuos que tienen el SNP exhiben diferencias significativas con respecto a los que no, mostrando una mayor producción (Tabla 4.14).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

Por último, en cuanto a la población 'RB×SRP', únicamente se han identificado QTLs vinculados a la producción en el parental masculino 'SRP', identificando un QTL en GL3 consistente en 2020 y 2021 en la posición 45,858 cM, cuyo marcador más significativo ($p < 0,01$) es 'S3_5842133', además de otro QTL en GL3 en 2021 y otro en GL2.3 en 2020 (Tabla S3), por lo que no se ha identificado ningún QTL estable a lo largo de los tres años de estudio en esta población.

En las poblaciones evaluadas se han identificado QTLs relacionados con la productividad en distintas zonas del genoma en función de la población. En la población 'BS×PIO' el grupo de ligamiento 1 ha presentado el QTL con mayor significancia mientras que en el parental 'PIO' los QTLs asociados a este carácter se han identificado en GL5. En la población 'RB×BS' los QTLs más significativos se han encontrado en GL2 y GL4.1 en 'RB', mientras que en 'BS' se han identificado en el segundo segmento del grupo de ligamiento 1, al igual que en la primera población. Por último, la población 'RB×SRP' ha sido la única en la que no se han encontrado QTLs consistentes durante los tres años. La variabilidad de localización de los QTLs en grupos de ligamiento también se ha encontrado en otros estudios. Sánchez-Pérez *et al.* (2007b) identificó un QTL asociado a productividad en GL4 en almendro,

sin embargo, su significancia mostró valores muy irregulares durante los tres años, explicando un porcentaje de la varianza fenotípica muy bajo. Por otro lado, en melocotonero se han reportado QTLs vinculados a la producción en distintos grupos de ligamiento como en GL8 (Zeballos *et al.*, 2016) y GL6 (Dirlewanger *et al.*, 1999).

4.4.5.2. Caracteres físicos

Dada la abundancia de resultados obtenidos, nos referiremos en este apartado a los resultados más significativos y consistentes, los cuales han sido estudiados en mayor profundidad. A continuación, se presentan las figuras que ilustran los QTLs identificados que exhiben una estabilidad durante los tres años de evaluación en relación con los caracteres físicos del fruto, así como las tablas que describen los efectos alélicos de los SNPs de mayor significancia asociados a dichos QTLs para las tres poblaciones evaluadas: 'BS×PIO' (Figura 4.18 y Tabla 4.16), 'RB×BS' (Figura 4.19 y Tabla 4.17) y 'RB×SRP' (Figura 4.20 y Tabla 4.18).

En el Anexo, se incorporan las tablas descriptivas que incluyen todos los QTLs identificados en las poblaciones 'BS×PIO' (Tabla S4), 'RB×BS' (Tabla S5) y 'RB×SRP' (Tabla S6), proporcionando información detallada acerca de la posición genética, el nivel de significancia de cada QTL, así como otras características.



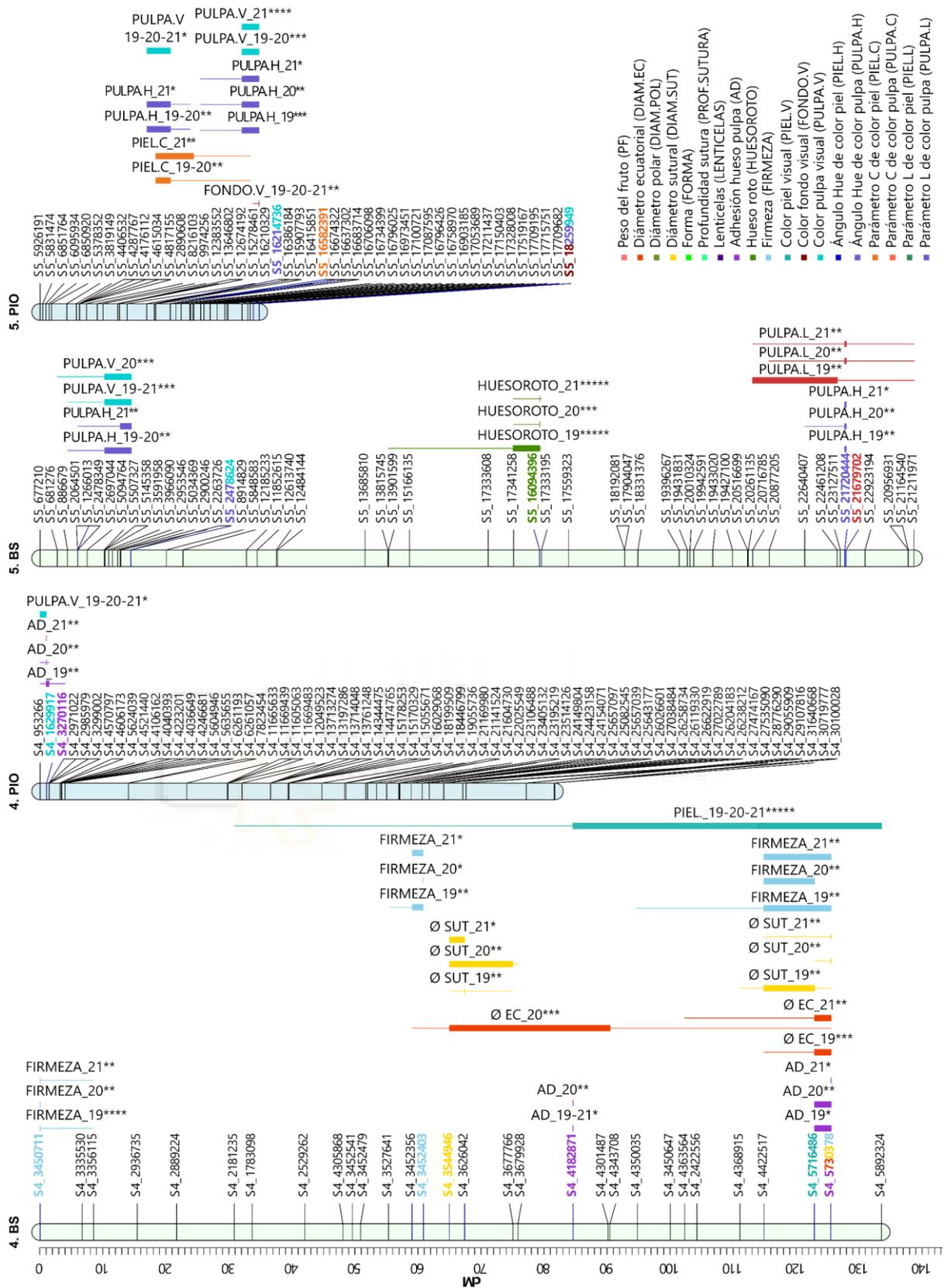


Figura 4.18 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

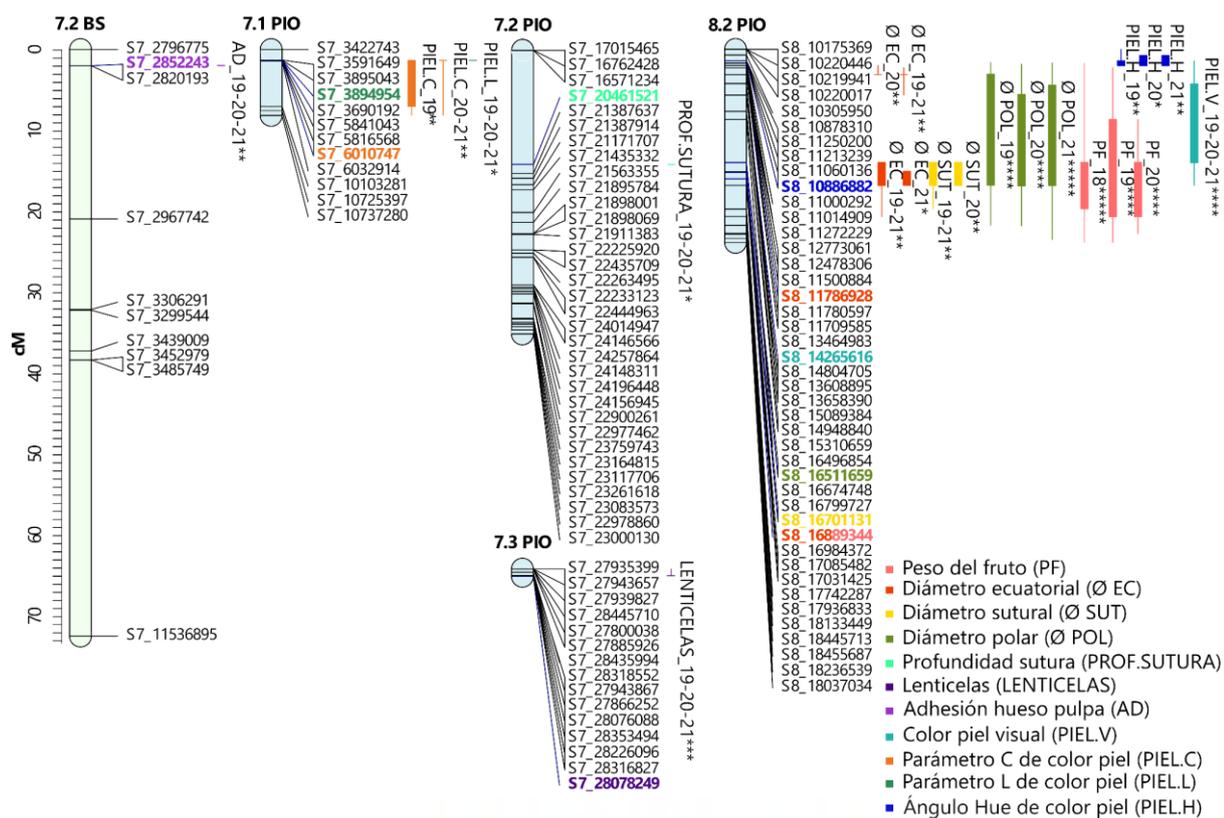


Figura 4.18 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Black Splendor' (BS) x 'Pioneer' (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.16. Genotipos parentales de la población formada por 'Black Splendor' × 'Pioneer' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Black Splendor	Pioneer	
Peso del fruto	S1_39002565	GG	AG	Menor
	S1_50028951	CC	GC	Mayor
	S8_16889344	CC	CT	Menor
Diámetro ecuatorial	S1_38993792	TT	CT	Menor
	S4_5730378	AG	GG	Mayor
	S8_11786928	AA	AT	Menor
	S8_16889344	CC	CT	Menor
Diámetro sutural	S1_39002565	GG	AG	Menor
	S4_3544946	AG	GG	Mayor
	S4_5730378	AG	GG	Mayor
	S8_16701131	CC	CT	Menor
Diámetro polar	S1_38993792	TT	CT	Menor
	S8_16511659	AA	AT	Menor
Forma del fruto	S3_22967767	CT	TT	Cordiforme/achatado
Lenticelas	S3_22785835	AG	AA	Menor
	S7_28078249	TT	CT	Menor
Adhesión hueso pulpa	S4_3270116	CC	AC	Menor
	S4_5730378	AG	GG	Menor
	S7_2852243	GT	GG	Mayor
Hueso roto	S5_16094396	AG	GG	Menor
Firmeza	S1_39702792	TT	GT	Menor
	S4_3450711	CT	TT	Mayor
	S4_3452356	CT	CC	Mayor
	S4_5730378	AG	GG	Mayor
Color fondo visual	S5_18259949	TT	CT	No visible
Color de piel visual	S1_38993792	TT	CT	Rojo claro
	S3_20860507	AG	AA	Violáceo/Negro
	S4_5716486	GT	GG	Rojo
	S8_14265616	GG	CG	Rojo claro
Ángulo Hue color piel	S1_28927521	TT	GT	Mayor
	S1_40132263	GG	AG	Mayor
	S3_21522917	GT	GG	Menor
Parámetro C color piel	S1_19079231	AG	GG	Menor
	S1_31717406	CC	CT	Mayor
	S1_39266193	CC	CT	Mayor
	S3_20860507	AG	AA	Menor
	S7_6010747	AA	AG	Mayor
Parámetro L color piel	S1_30607242	AA	AC	Mayor
	S1_40132263	GG	AG	Mayor
	S3_20860507	AG	AA	Menor
	S7_3894954	GG	AG	Mayor

Tabla 4.16 (Continuación). Genotipos parentales de la población formada por 'Black Splendor' × 'Pioneer' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Black Splendor	Pioneer	
Color de pulpa visual	S3_10518042	AG	AA	Rojo
	S3_15526069	AG	AA	Amarillo
	S5_2478624	CT	TT	Rojo
	S5_16214736	GG	AG	Rojo
	S5_18259949	TT	CT	Rojo
Ángulo Hue color pulpa	S3_10518042	AG	AA	Menor
	S3_15526069	AG	AA	Mayor
	S5_18259949	TT	CT	Menor
	S5_2478624	CT	TT	Menor
Parámetro C color pulpa	S3_15526069	AG	AA	Menor
	S3_21538674	GT	TT	Menor
Parámetro L color pulpa	S1_53967321	TT	CT	Mayor
	S3_10518042	AG	AA	Menor
	S3_15526069	AG	AA	Mayor
	S5_21679702	GT	GG	Menor



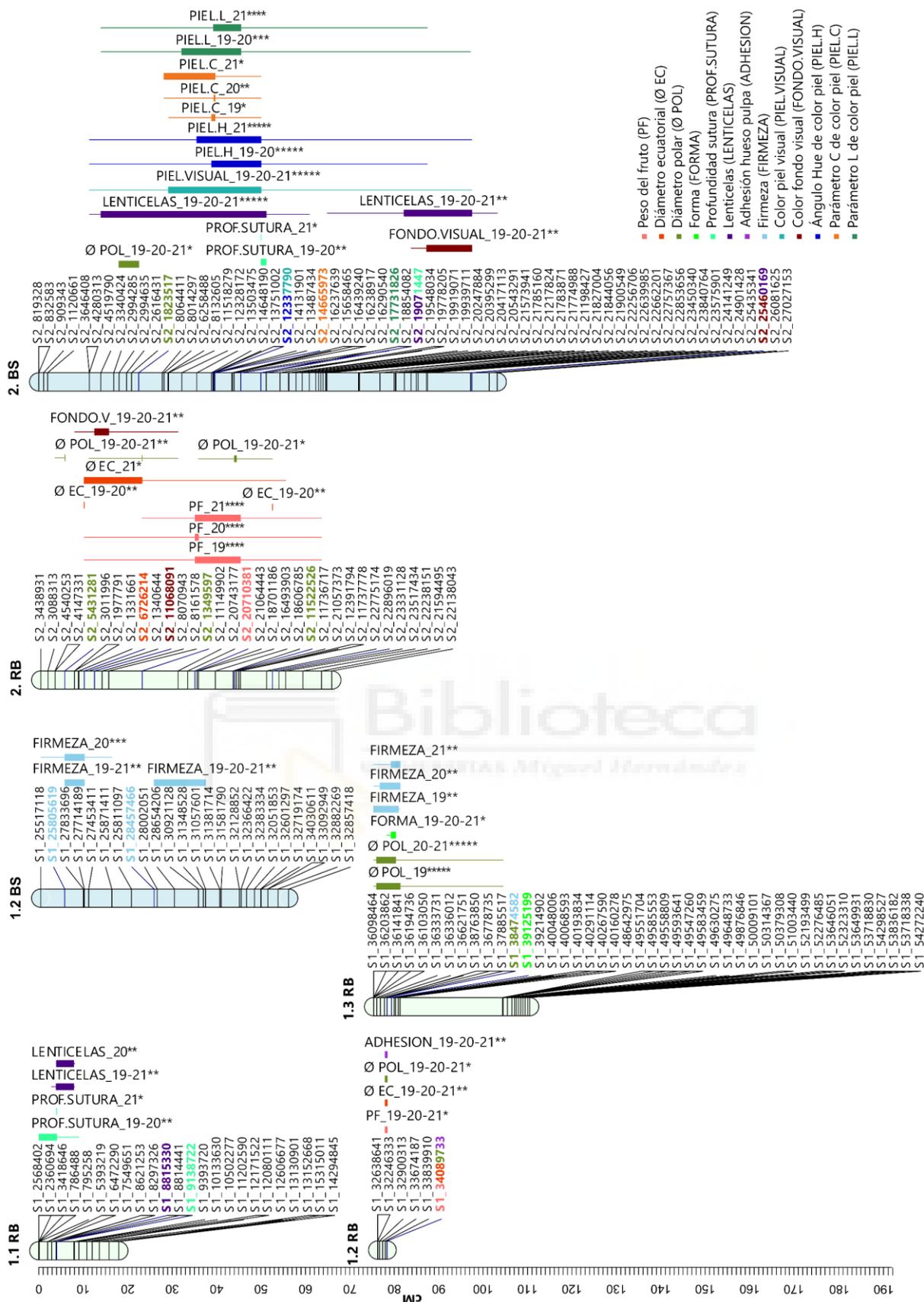


Figura 4.19. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Black Splendor' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

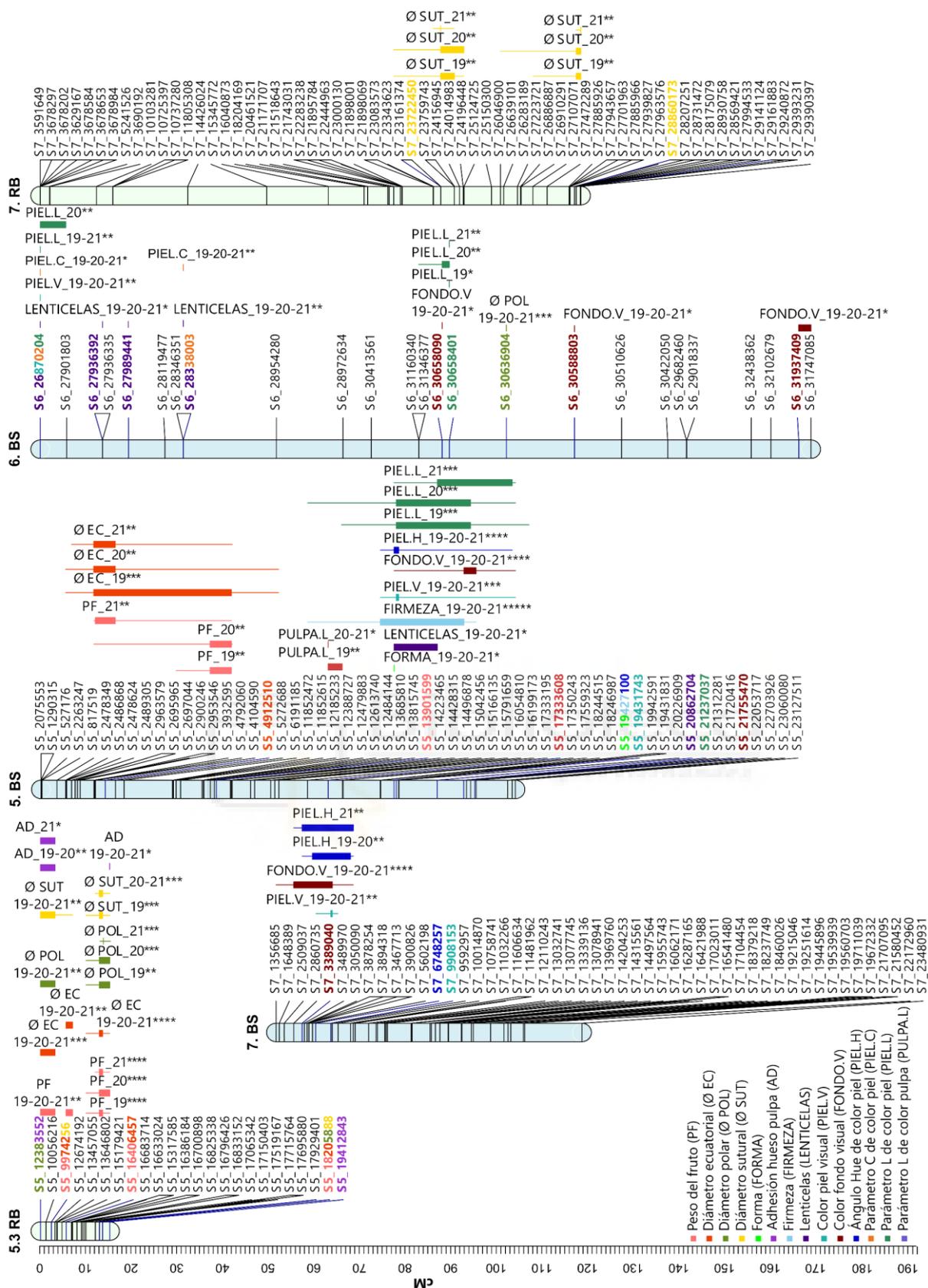


Figura 4.19 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.17. Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Black Splendor' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Black Splendor	
Peso del fruto	S1_34089733	AC	CC	Mayor
	S2_20710381	AT	TT	Mayor
	S3_2523481	GG	AG	Mayor
	S5_9974256	GT	TT	Mayor
	S5_13901599	CC	CT	Mayor
	S5_16406457	CT	TT	Mayor
	S5_18205888	CG	CC	Mayor
Diámetro ecuatorial	S1_34089733	AC	CC	Mayor
	S2_6726214	AG	GG	Mayor
	S3_2288940	TT	CT	Mayor
	S5_4912510	CC	CT	Mayor
	S5_9974256	GT	TT	Mayor
	S5_16406457	CT	TT	Mayor
	S5_18205888	CG	CC	Mayor
Diámetro sutural	S3_2523481	GG	AG	Mayor
	S5_9974256	GT	TT	Mayor
	S5_18205888	CG	CC	Mayor
	S7_23722450	CT	TT	Menor
	S7_28860173	CT	TT	Menor
Diámetro polar	S1_34089733	AC	CC	Mayor
	S1_38474582	AC	CC	Mayor
	S2_1349597	CT	TT	Mayor
	S2_1823517	TT	AT	Menor
	S2_5431281	CT	CC	Mayor
	S2_11522526	CT	TT	Mayor
	S3_4309125	AA	AG	Mayor
	S5_12383552	AT	TT	Mayor
	S5_18205888	CG	CC	Mayor
	S6_30636904	CC	AC	Mayor
Forma del fruto	S1_39125199	GT	GG	Cordiforme
	S5_19427100	AA	AG	Circular
Lenticelas	S1_8815330	CG	CC	Mayor
	S2_19071447	AA	AG	Mayor
	S2_25460169	AA	AG	Mayor
	S3_9140750	AC	CC	Mayor
	S3_22540873	CC	AC	Menor
	S3_22744305	CT	TT	Mayor
	S5_20862704	CC	CT	Mayor
	S6_26870204	GG	AG	Mayor
	S6_27936392	AA	AT	Mayor
	S6_27989441	AA	AG	Mayor
	S6_28338003	CC	CT	Mayor
Adhesión hueso pulpa	S1_34089733	AC	CC	Menor
	S3_26681289	AG	GG	Mayor
	S3_31551230	AA	AG	Menor
	S5_12383552	AT	TT	Menor
	S5_19412843	CT	CC	Menor

Tabla 4.17 (Continuación). Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Black Splendor' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Black Splendor	
Firmeza	S1_25805619	GG	CG	Menor
	S1_28457466	CC	AC	Menor
	S1_38474582	AC	CC	Mayor
	S3_24659471	TT	CT	Mayor
	S3_25174866	CT	TT	Menor
	S3_25851543	CG	GG	Menor
	S3_29272593	AA	AC	Mayor
	S3_31551230	AA	AG	Mayor
	S4_25017134	AG	GG	Menor
	S5_19427100	AA	AG	Menor
Profundidad sutura	S1_9138722	GT	GG	Menor
	S2_19071447	AA	AG	Menor
Color de fondo visual	S2_11068091	AG	GG	Amarillo
	S2_25460169	AA	AG	Amarillo
	S3_12468085	AG	GG	Amarillo
	S3_2523481	GG	AG	No visible
	S3_25851543	CG	GG	Amarillo
	S4_26258734	GT	TT	Amarillo
	S5_21755470	CC	AC	Amarillo
	S6_30588803	GG	GT	Amarillo
	S6_30658090	GG	AG	Amarillo
	S6_31937409	AA	AC	Amarillo
S7_3389040	GG	AG	Amarillo	
Color de piel visual	S2_12337790	CC	CT	Rojo claro
	S3_16074034	CT	TT	Rojo claro
	S3_22540873	CC	AC	Violáceo/Negro
	S4_26238212	GT	TT	Rojo claro
	S5_19431743	CC	AC	Rojo claro
	S6_26870204	GG	AG	Rojo claro
	S7_9908153	CC	AC	Rojo claro
	Ángulo Hue color piel	S2_12337790	CC	CT
S3_16326192		AG	AA	Mayor
S3_20860507		AA	AG	Menor
S3_22540873		CC	AC	Mayor
S3_31551230		AA	AG	Menor
S5_19427100		AA	AG	Mayor
S7_6748257		CC	CT	Mayor
Parámetro C color piel		S2_14665973	TT	CT
	S3_1426279	TT	AT	Menor
	S3_16074034	CT	TT	Mayor
	S3_22540873	CC	AC	Menor
	S3_31551230	AA	AG	Menor
	S6_26870204	GG	AG	Mayor
	S6_28338003	CC	CT	Mayor

Tabla 4.17 (Continuación). Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Black Splendor' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Black Splendor	
Parámetro L color piel	S2_17731826	AA	AG	Mayor
	S3_12196103	AG	AA	Mayor
	S3_22540873	CC	AC	Menor
	S5_21237037	TT	AT	Mayor
	S6_26870204	GG	AG	Mayor
	S6_30658401	CC	AC	Mayor
Color de pulpa visual	S3_6363950	AA	AG	Amarillo
	S3_12583945	CC	CT	Rojo
	S3_22540873	CC	AC	Amarillo
Ángulo Hue color pulpa	S3_6363950	AA	AG	Mayor
	S3_12583945	CC	CT	Menor
	S3_22540873	CC	AC	Mayor
Parámetro C color pulpa	S3_20085541	AA	AT	Mayor
	S3_7957720	TT	AT	Mayor
	S3_9061606	CG	GG	Menor
	S3_9140750	AC	CC	Menor
Parámetro L color pulpa	S3_8436608	TT	CT	Menor
	S3_6352245	AA	AG	Mayor
	S3_17871224	AA	AG	Menor
	S5_17333608	GG	CG	Menor

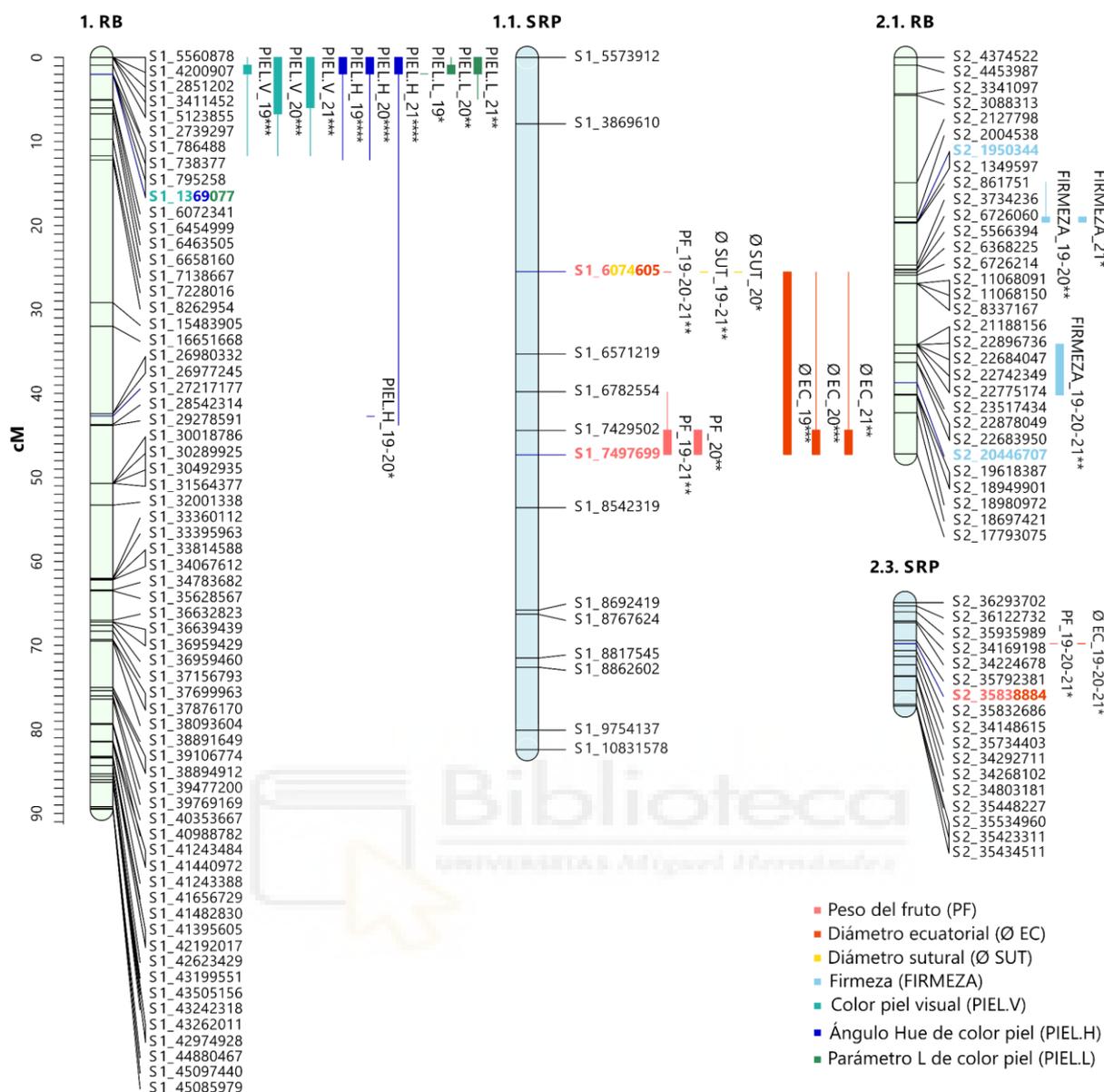


Figura 4.20. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

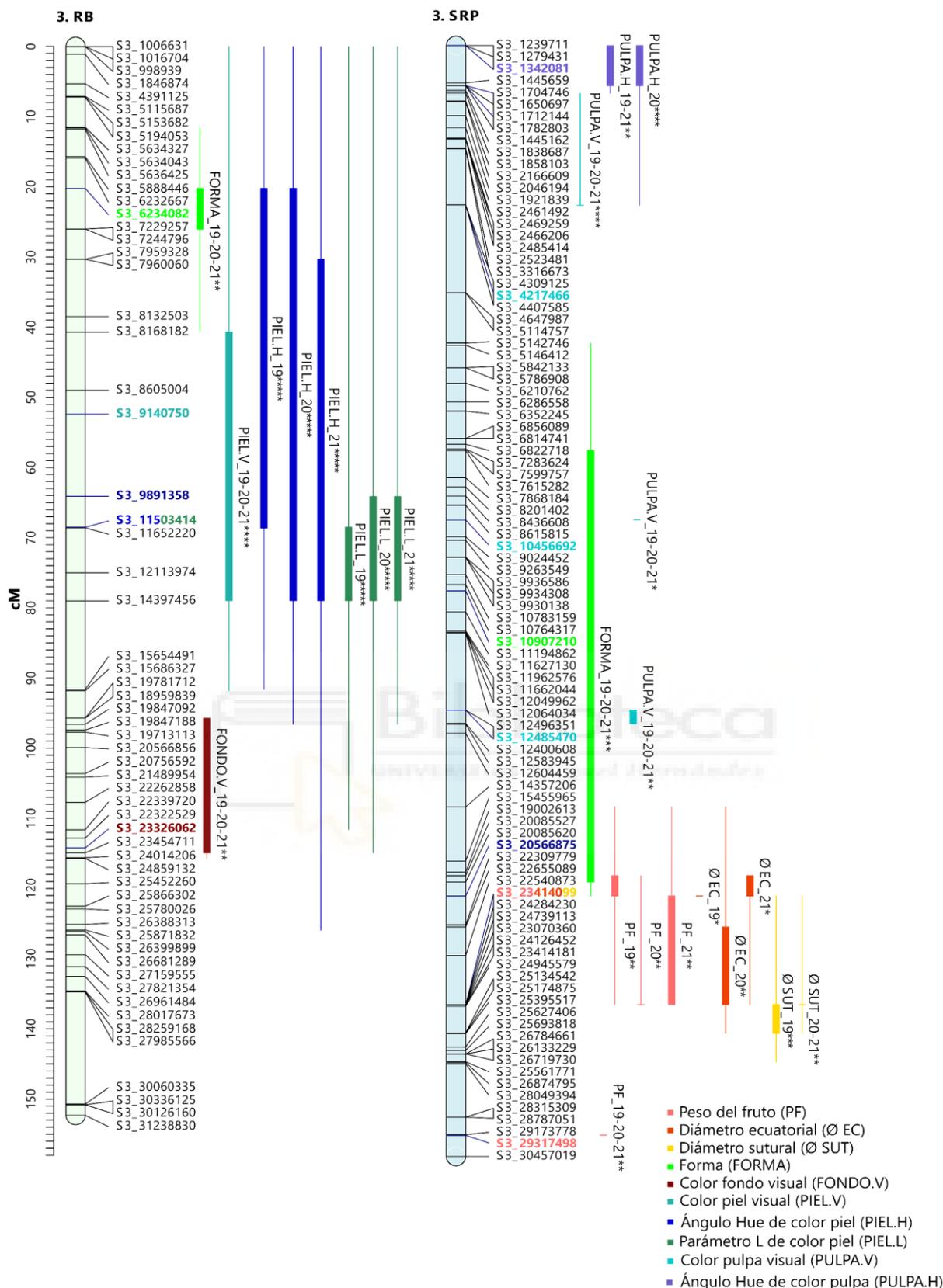


Figura 4.20 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

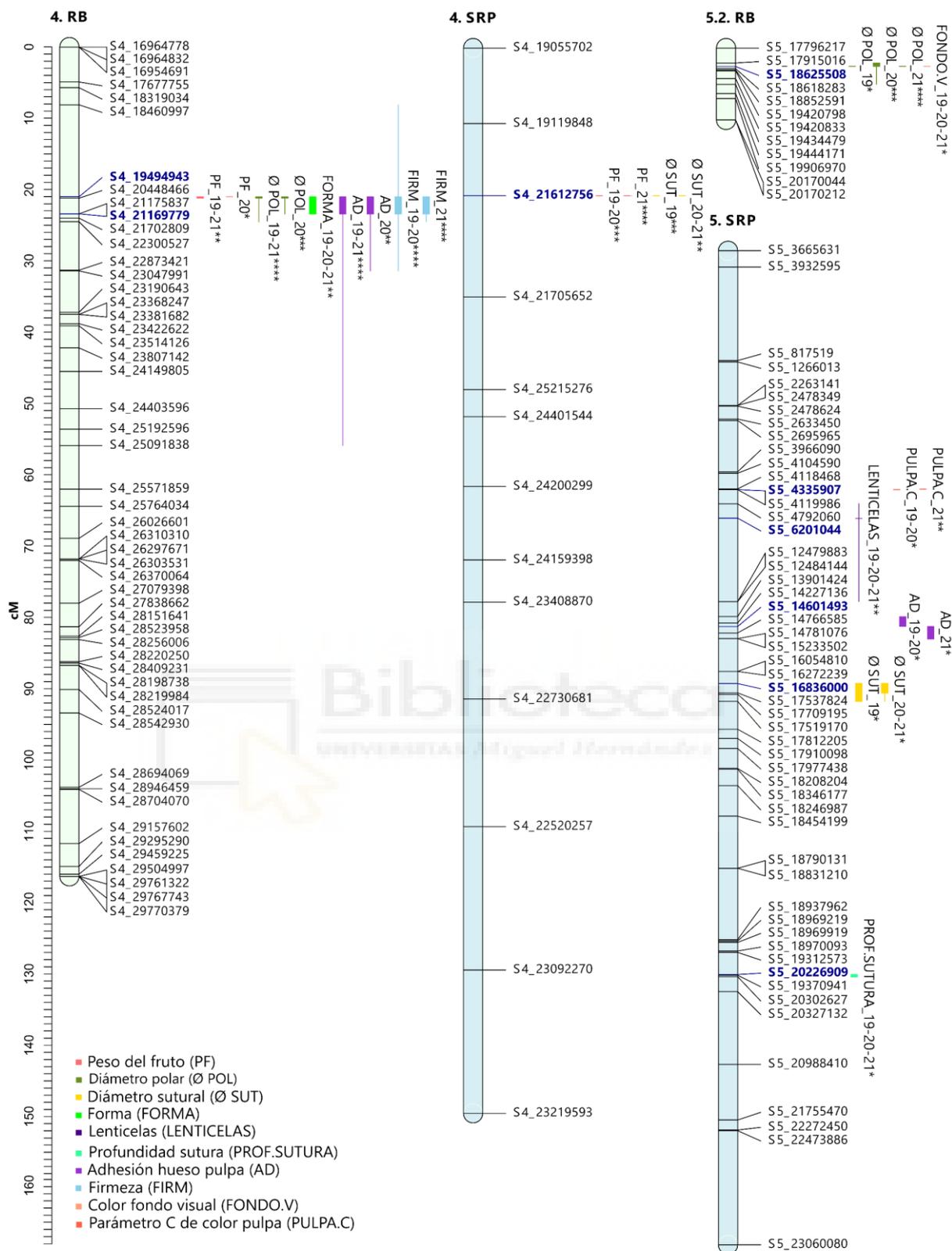


Figura 4.20 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beau' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

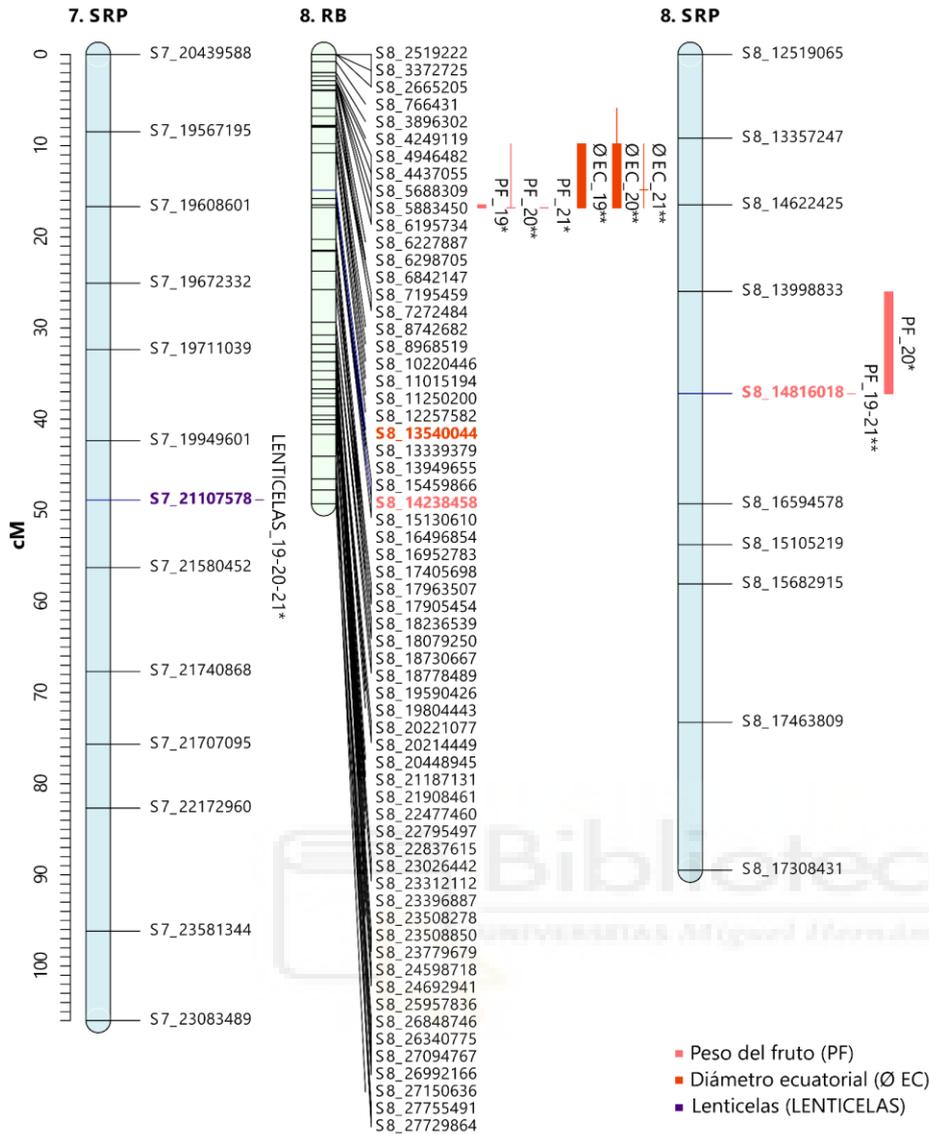


Figura 4.20 (Continuación). QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres físicos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los marcadores más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.18. Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres físicos del fruto y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Santa Rosa Precoz	
Peso del fruto	S1_6074605	TT	CT	Menor
	S1_7497699	AA	AG	Menor
	S2_35838884	AA	AG	Menor
	S3_23414099	CC	CT	Menor
	S3_29317498	TT	AT	Menor
	S4_19494943	AT	AA	Mayor
	S4_21612756	TT	CT	Mayor
	S8_14238458	CT	TT	Menor
	S8_14816018	CC	AC	Menor
Diámetro ecuatorial	S1_6074605	TT	CT	Menor
	S2_35838884	AA	AG	Menor
	S3_23414099	CC	CT	Menor
	S8_13540044	CT	TT	Menor
Diámetro sutural	S1_6074605	TT	CT	Menor
	S3_23414099	CC	CT	Menor
	S4_21612756	TT	CT	Mayor
	S5_16836000	AA	AC	Menor
Diámetro polar	S4_19494943	AT	AA	Mayor
	S5_18625508	AT	AA	Mayor
Forma del fruto	S3_6234082	GT	GG	Circular
	S3_10907210	TT	CT	Circular
	S4_19494943	AT	AA	Cordiforme
Lenticelas	S5_6201044	AA	AT	Mayor
	S7_21107578	CC	AC	Mayor
Adhesión hueso pulpa	S4_21169779	CT	CC	Menor
	S5_14601493	GG	AG	Mayor
Firmeza	S2_1950344	AC	CC	Menor
	S2_20446707	CT	TT	Menor
	S4_19494943	AT	AA	Mayor
Profundidad de sutura	S5_20226909	TT	AT	Menor
Color de fondo visual	S3_23326062	CT	TT	No visible
	S5_18625508	AT	AA	Amarillo
Color de piel visual	S1_1369077	AG	GG	Amarillo
	S3_9140750	AC	CC	Rojo oscuro/violáceo
Ángulo Hue color piel	S1_1369077	AG	GG	Mayor
	S3_11503414	CG	GG	Menor
Parámetro L color piel	S1_1369077	AG	GG	Mayor
	S3_11503414	CG	GG	Menor
Color de pulpa visual	S3_4217466	GG	GT	Bicolor
	S3_10456692	GG	AG	Bicolor
	S3_12485470	CC	CT	Bicolor
Ángulo Hue color pulpa	S3_1342081	TT	CT	Mayor
Parámetro C color pulpa	S5_4335907	AA	AG	Mayor

4.4.5.2.1. Peso y diámetro del fruto

El peso y el diámetro del fruto son caracteres estrechamente relacionados entre sí, tal y como ya se comentó en el Capítulo 3 de la presente tesis doctoral (ver Apartado 3.4.1), donde se observó una elevada correlación debido a que ambos caracteres están ligados al tamaño del fruto. Debido a ello, la gran mayoría de los QTLs identificados para dichos caracteres muestran una coincidencia notable en regiones genómicas similares en las tres poblaciones estudiadas, como se detalla a continuación.

En este trabajo, se ha logrado identificar con éxito QTLs vinculados al peso (PF) y diámetros ecuatorial (\emptyset EC), sutural (\emptyset SUT) y polar (\emptyset POL) del fruto, distribuidos en varios grupos de ligamiento en las tres poblaciones.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se identificaron el menor número de QTLs relacionados con el peso y diámetro del fruto en comparación con las demás poblaciones, sumando un total de 22 QTLs, de los cuales 14 muestran estabilidad a lo largo de los tres años de fenotipado (Tabla S4).

El parental femenino '**BS**' presenta el menor número de QTLs estables para estos caracteres, con solo tres QTLs en GL4. Para el peso del fruto (PF), se ha identificado un QTL en 2019 y 2021 con un nivel de significancia superior a $p < 0,01$ en ambos años al final del GL4, entre las posiciones 114,05 y 124,64 cM (Tabla S4). Este QTL coincide en posición con dos regiones estables durante los tres años de estudio vinculadas al \emptyset EC y \emptyset SUT, así como con la firmeza y adhesión del hueso a la pulpa (Figura 4.18, Tabla S4), lo que sugiere que esta región del grupo de ligamiento 4 puede ser importante para estos atributos físicos del fruto.

El diámetro ecuatorial y sutural han sido los únicos caracteres que han mostrado QTLs estables durante los tres años de evaluación (Figura 4.18, Tabla S4), presentando los SNPs más significativos para estos QTLs un efecto alélico similar (Tabla 4.16), donde los individuos con un genotipo "AG" exhiben un diámetro ecuatorial y sutural significativamente superior durante los tres años de evaluación en comparación con los individuos con genotipo "GG", sugiriendo así que el alelo "A" en estos SNPs podría estar vinculado con un mayor tamaño de fruto.

Por otro lado, en el parental masculino '**PIO**', se han detectado varios QTLs estables durante los tres años de fenotipado, tanto para PF como para los tres diámetros evaluados, la mayoría de los cuales colocan en regiones similares de los grupos de ligamiento GL1.1, GL1.2, GL2 y GL8, destacando el GL1.1 y GL8.2 por su mayor significancia (Figura 4.18, Tabla S4).

Los cuatro caracteres evaluados relacionados con el tamaño del fruto (PF, \emptyset EC, \emptyset SUT y \emptyset POL) presentan un QTL altamente significativo, con un nivel de significancia mínimo de $p < 0,001$ y un valor estadístico de K de 11,50 (para \emptyset EC) y un nivel de significancia máximo de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K máximo de 30,39 (para \emptyset POL) a lo largo de todo el grupo

de ligamiento 1.1 (Figura 4.18, Tabla S4), coincidiendo a su vez con QTLs relacionados con el color de la piel del fruto.

Asimismo, en el GL8.2, los cuatro caracteres presentan un QTL significativo solapado, siendo el QTL asociado al PF en 2019 el de mayor significancia ($p < 0,001$; K: 13,49) alrededor de las posiciones 13,90 y 19,57 cM (Figura 4.18, Tabla S4).

Por otro lado, también se han identificado QTLs significativos en el GL1.2, siendo PF el único carácter que ha mostrado estabilidad durante los tres años de evaluación, presentando su nivel de significancia máxima de $p < 0,0001$ en 2019 (Figura 4.18, Tabla S4). Para los demás caracteres, también se han identificado QTLs en la misma región del grupo de ligamiento 1.2, siendo consistentes en 2019 y 2021 en el caso de ØSUT y ØPOL, y solo en 2019 para ØEC (Tabla S4).

Es importante destacar que los SNPs más significativos de los QTLs detectados en el GL1.1 y GL8.2 presentan un efecto alélico similar, donde los individuos con polimorfismos en estos SNPs muestran un tamaño de fruto significativamente menor, en peso y diámetro, en comparación con los individuos que no los presentan. Sin embargo, los SNPs de los QTLs obtenidos en el GL1.2 muestran un efecto alélico contrario, donde los individuos con el SNP exhiben un tamaño significativamente mayor que los individuos que no lo presentan (Tabla 4.16). Estos resultados se ilustran gráficamente en la Figura 4.21, donde se representa un ejemplo de los SNPs más significativos de los QTLs asociados con el PF mencionados anteriormente. En ella, podemos observar como la mediana del PF difiere significativamente entre genotipos, según indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis en los tres años de estudio para cada marcador. Concretamente, la presencia de los alelos "A" y "T" en los SNPs 'S1_39002565' y 'S8_16889344', respectivamente, parece estar asociada a un fenotipo con un peso del fruto menor, ya que los individuos con genotipos "AG" y "CT" muestran, en general, una distribución de peso del fruto inferior a los individuos con genotipos "GG" y "CC". Sin embargo, los individuos que tienen el genotipo "GC" del marcador 'S1_50028951' muestran un mayor peso del fruto que los individuos con genotipo "CC", lo que podría indicar que el alelo "G" puede tener un efecto sobre el peso del fruto, aumentándolo.

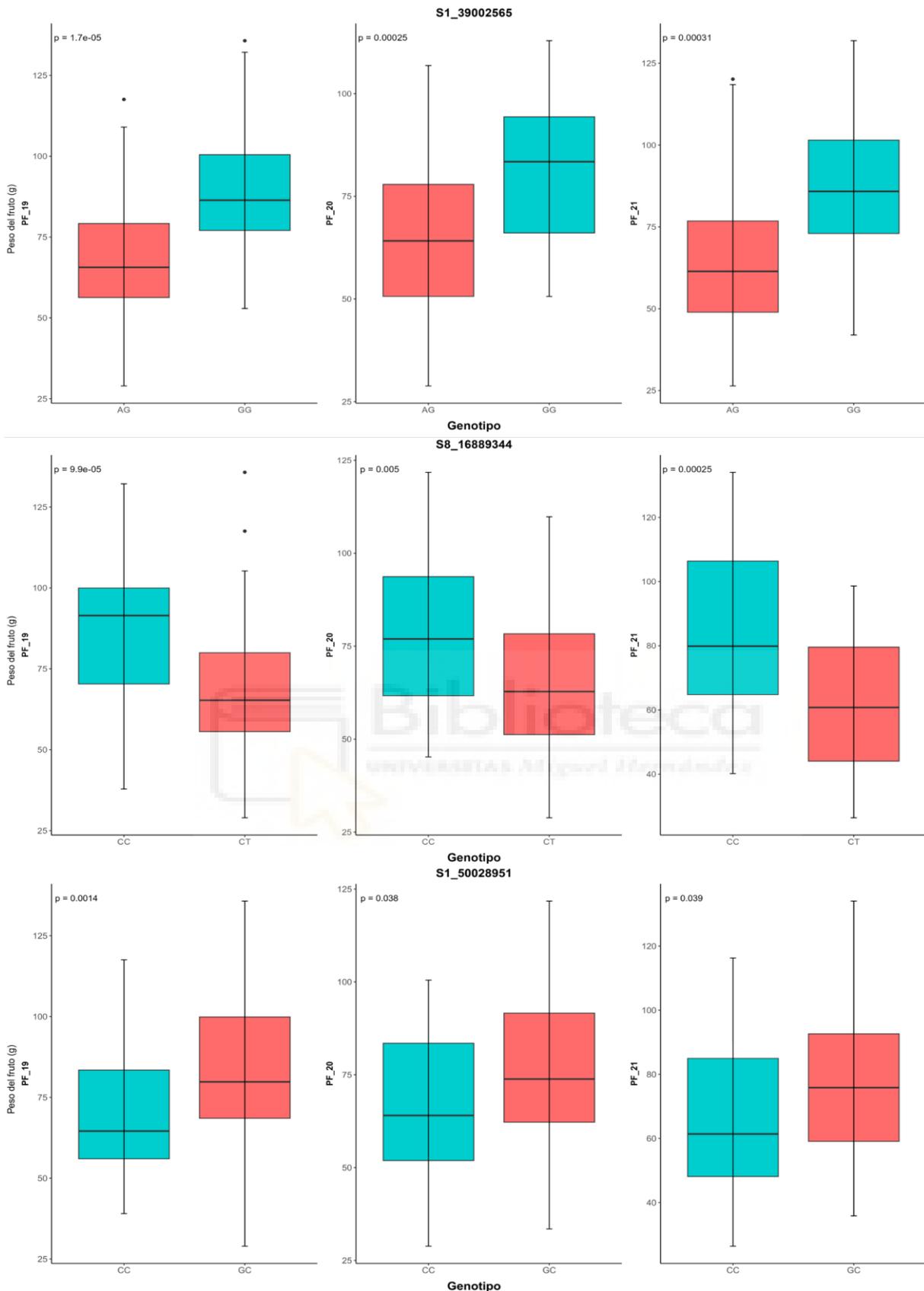


Figura 4.21. Efecto alélico de los marcadores SNPs 'S1_39002565', 'S8_16889344' y 'S1_50028951' de 'Pioneer' en el peso del fruto (PF). Cada diagrama de caja representa la distribución en gramos (g) del PF, diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del marcador 'S1_39002565', "CC" y "CT" del marcador 'S8_16889344', y "CC" y "GC" del marcador 'S1_50028951'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado el mayor número de QTLs relacionados con el tamaño del fruto, con un total de 34 QTLs (Tabla S5).

En el parental femenino '**RB**', se han detectado un total de 26 QTLs distribuidos en los siete grupos de ligamiento, siendo los identificados en GL1.2, GL2 y GL5.3 los más relevantes. En estos grupos, se han observado regiones estables durante los tres años de evaluación vinculadas tanto al peso del fruto (PF) como a los tres diámetros evaluados (Figura 4.19, Tabla S5).

En el GL1.2, se ha identificado un QTL estable durante los tres años de evaluación para PF, ØEC y ØPOL, entre 1,66-2,14 cM, con un nivel de significancia mínimo de $p < 0,01$. Sin embargo, para ØSUT, solo se ha detectado durante 2019 y 2020. Destaca el SNP 'S1_34089733' por su máxima significancia en los cuatro caracteres (Figura 4.19, Tabla S5).

El GL2 también presenta QTLs estables tanto para el PF, con un nivel de significancia máximo de $p < 0,0005$ y un valor estadístico de K máximo de 14,49 en 2019, como para el ØEC y ØPOL, en regiones similares. En el GL5.3, se han identificado tres regiones altamente significativas vinculadas a estos caracteres durante los tres años de estudio. El QTL más significativo ($p < 0,0005$ para PF y ØEC; $p < 0,001$ para ØSUT y ØPOL) fue observado entre las posiciones 12,86-15,17 cM, siendo el marcador 'S5_18205888' el más significativo para los cuatro caracteres (Figura 4.19, Tabla S5).

El efecto alélico de los SNPs más significativos de los QTLs identificados en todos los grupos de ligamiento anteriormente descritos para estos caracteres es similar, donde los individuos con el SNP muestran un fenotipo con un peso y calibre de fruto mayor en comparación con los individuos que no lo presentan (Tabla 4.17).

En cuanto al parental masculino de la población, '**BS**', se han identificado un total de 10 QTLs en los grupos de ligamiento 2, 3.1, 3.2, 5 y 6, de los cuales ocho presentan estabilidad durante los tres años de fenotipado. Los grupos de ligamiento más destacados son GL3.1 y GL5, ya que se han identificado QTLs tanto para PF como para los tres diámetros evaluados, que además de ser estables, se localizan en zonas muy similares de los grupos de ligamiento, (Figura 4.19, Tabla S5).

En el GL3.1, encontramos QTLs estables tanto para el PF como para los tres diámetros evaluados, presentando entre las posiciones 3,02 y 5,02 cM el nivel de significancia más elevado, siendo de $p < 0,005$ como mínimo para todos los caracteres (Figura 4.19, Tabla S5). Asimismo, entre las posiciones 5,39 y 52,06 cM del GL5 se han identificado dos QTLs estables vinculados al PF y ØEC, así como otro vinculado al ØSUT durante 2019 y 2020. Sin embargo, no se han identificado QTLs en dicho grupo de ligamiento asociados con ØPOL, aunque sí en el GL2 y GL6, además del obtenido en GL3.1, todos ellos estables durante los tres años de estudio.

Todos los SNPs más significativos de los QTLs detectados, excepto el localizado en el LG2 para ØPOL, presentan un efecto alélico donde los individuos que tienen el SNP en su genotipo muestran frutos con un tamaño y peso significativamente superior a los que no lo presentan (Tabla 4.17).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado un total de 31 QTLs, de los cuales son estables durante los tres años de fenotipado nueve QTLs vinculados al PF y 10 QTLs ligados a los distintos diámetros del fruto evaluados de forma estable (Figura 4.20, Tabla S6).

En el parental femenino '**RB**', se han identificado dos QTLs estables asociados con el PF en dos grupos de ligamiento distintos. El primero se encuentra en el GL4, con un nivel de significancia máximo de $p < 0,005$ en 2019 y 2021, específicamente en la posición 21,01 cM, coincidiendo con un QTL altamente significativo ($p < 0,0005$ en 2019 y 2021; Kmax: 14,51) vinculado al ØPOL y con otros QTLs relacionados con la forma del fruto, adhesión del hueso a la pulpa y la firmeza, sugiriendo que esta región podría ser un '*hotspot*' del genoma relacionado con estos caracteres. El segundo QTL asociado con el PF se encuentra en el GL8, presentando su nivel más alto de significancia ($p < 0,005$) en 2020 entre las posiciones 16,51 y 16,83 cM, colocalizando con otro QTL obtenido para el ØEC, cuyo nivel de significancia máximo es de $p < 0,005$ durante los tres años de estudio, y otro QTL asociado al ØPOL en 2020 (Figura 4.20, Tabla S6).

Por otro lado, para el ØPOL, también se ha identificado un QTL durante los tres años de estudio entre las posiciones 2,12 y 5,11 cM del GL5.2, que colocaliza con un QTL obtenido para el ØEC durante 2019 y 2020 (Figura 4.20, Tabla S6).

Los SNPs más significativos de los QTLs más consistentes, como son los identificados en los grupos de ligamiento 4 y 8, presentan un efecto alélico opuesto entre sí, donde los individuos con el SNP del GL4 muestran un peso del fruto y diámetro significativamente mayor que aquellos que no lo tienen, mientras que los individuos que presentan los SNPs más significativos de los QTLs localizados en el GL8 presentan un fenotipo de peso y diámetro significativamente menor que los individuos que no tienen el SNP en su genotipo (Tabla 4.18).

En el parental masculino de la población, '**SRP**', se han detectado siete QTLs asociados al PF, todos ellos estables durante los tres años de estudio, a lo largo de los grupos de ligamiento 1.1, 2.3, 3, 4 y 8, siendo GL1.1, GL2.3, GL3 y GL4 los más destacables, ya que también presentan regiones asociadas a los diámetros del fruto en zonas similares del genoma (Figura 4.20, Tabla S6).

En GL1.1 se han identificado un total de cuatro QTLs, de los cuales dos están asociados al PF, uno en la posición 25,55 cM, coincidiendo en la misma posición con otra región vinculada significativamente al ØSUT, y otro entre las posiciones 39,84 y 47,25 cM, ambos con un nivel de significancia de $p < 0,005$. A su vez, estos tres QTLs se encuentran solapados con otro QTL

asociado al ØEC localizándose entre la posición 25,547 y 47,253 cM durante los tres años de estudio (Figura 4.20, Tabla S6).

Por otro lado, en la posición 4,89 cM del GL2.3, donde se encuentra localizado el marcador 'S2_35838884', encontramos un QTL asociado tanto al PF como al ØEC, presentando ambos un nivel de significancia máxima de $p < 0,01$ durante los tres años de estudio (Figura 4.20, Tabla S6).

En la parte final del GL3 encontramos una región entre las posiciones 108,47 y 144,85 cM en la que se encuentran tres QTLs ligados al PF, ØEC y ØSUT, todos ellos estables durante los tres años de fenotipado, presentando un nivel de significancia máximo de $p < 0,0005$ para el ØSUT en 2019, así como otro QTL entre la posición 155,23 y 155,28 cM asociado al PF ($p < 0,005$) estable durante los tres años, que coincide a su vez con otro obtenido para el ØEC durante 2019 y 2021 (Figura 4.20, Tabla S6).

Finalmente, cabe destacar la posición 20,738 cM de GL4, donde se han identificado dos QTLs ligados al PF y ØSUT, presentando el QTL asociado con PF el nivel de significancia más elevado, siendo de $p < 0,0001$ con un valor de K máximo de 12,469 en 2021, mientras que el asociado con ØSUT es de $p < 0,001$ durante los tres años de fenotipado, con un valor de K máximo de 10,61 en 2020 (Figura 4.20, Tabla S6).

El efecto alélico de los SNPs más significativos de los QTLs obtenidos se muestra en la Tabla 4.18. Los SNPs identificados en los grupos de ligamiento 1.1, 2.3, 3, 5 y 8 presentan un efecto alélico donde los individuos que tienen el SNP en su genotipo exhiben un peso y diámetro del fruto significativamente inferior a los genotipos que no lo presentan. Sin embargo, el marcador más significativo de los QTLs relacionados con el PF y ØSUT identificados en el GL4, 'S4_21612756', muestra un efecto alélico donde la distribución del peso y diámetro sutural del fruto difiere significativamente en función del genotipo. El alelo "C" para este SNP parece estar asociado a un fenotipo de tamaño del fruto mayor, puesto que los individuos con genotipo "CT" muestran frutos con un tamaño superior, tanto por peso como por diámetro, en comparación con aquellos individuos con genotipo "TT" (Figura 4.22).

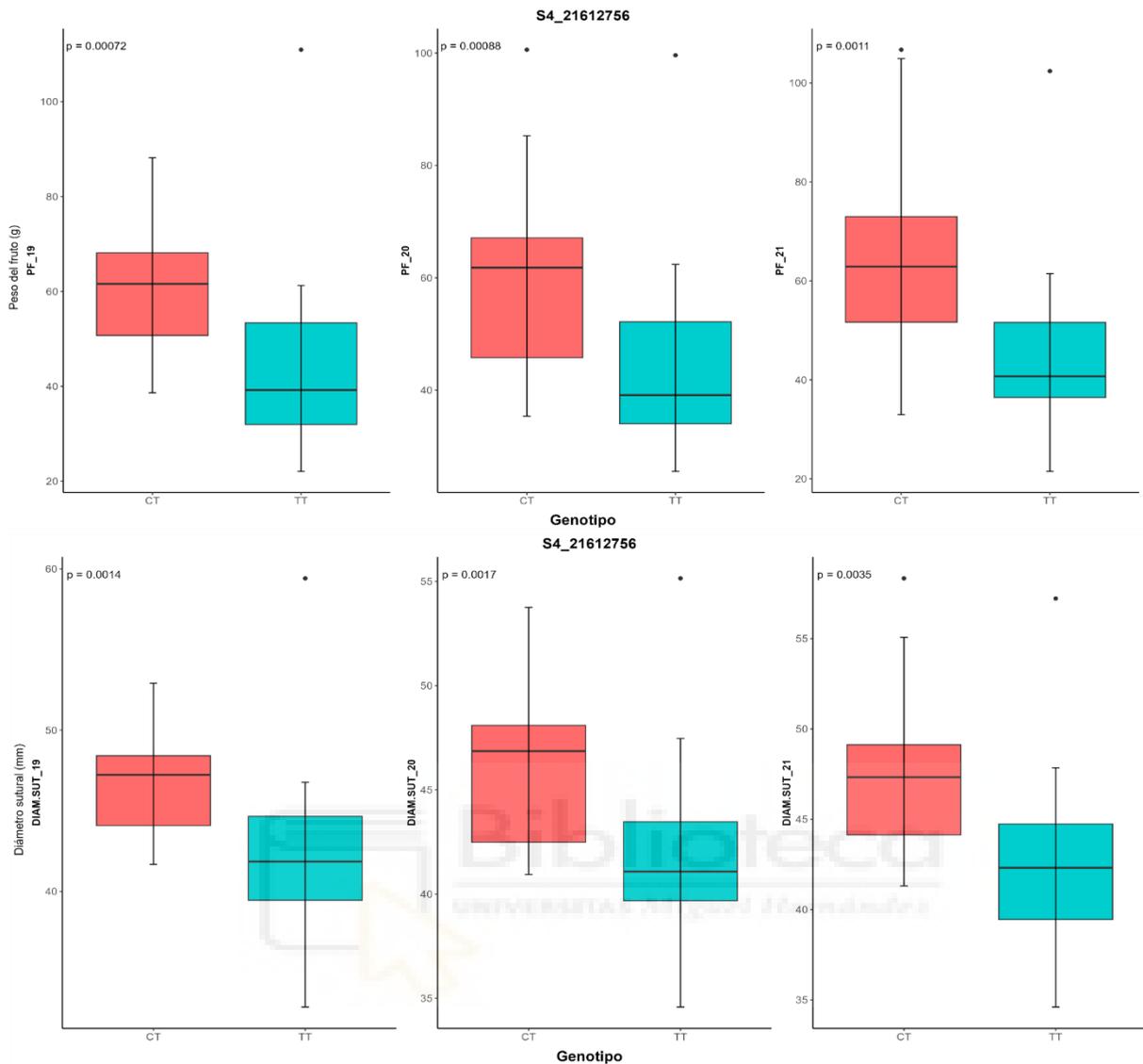


Figura 4.22 Efecto alélico del SNP 'S4_21612756' de 'Santa Rosa Precoz'. Cada diagrama de caja representa la distribución en gramos (g) para peso del fruto (PF) (arriba) y milímetros (mm) para el diámetro sutural (DIAM.SUT) (abajo), diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del marcador 'S4_21612756'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Al comparar los QTLs identificados para el peso del fruto y los diámetros evaluados en las tres poblaciones, a pesar de la amplia distribución a lo largo del genoma, destacan de forma general algunos grupos de ligamiento, con QTLs identificados en varios parentales de las tres poblaciones. Por ejemplo, en el GL1 se han identificado QTLs en los parentales 'PIO' de la población 'BS×PIO', 'RB' de la población 'RB×BS', y 'SRP' de la población 'RB×SRP', con SNPs con un efecto alélico similar en función del segmento del grupo de ligamiento en el que se localizan, independientemente del parental en el que se hayan identificado. Asimismo, se han identificado QTLs en el GL4 del parental 'BS' de la población 'BS×PIO', así como en ambos parentales de la población 'RB×SRP', en el GL5 de cada uno de los parentales de las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP', y en el GL8 en 'PIO' de la población 'BS×PIO', así como en ambos parentales de la población 'RB×SRP'.

Por tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos, la distribución de los QTLs relacionados con el peso y los diámetros del fruto no está restringida a un único grupo de ligamiento, sino que se extiende a lo largo de múltiples grupos de ligamiento en todas las poblaciones estudiadas. Este patrón de distribución genética refleja la compleja naturaleza poligénica y multifactorial de ambos caracteres del fruto, corroborado por investigaciones previas en otras especies de *Prunus*. Por ejemplo, en melocotonero, se ha observado una amplia presencia de QTLs asociados al peso y diámetro del fruto en casi todos los grupos de ligamiento, según han señalado diversos autores (Dirlewanger *et al.*, 1999; Yamamoto *et al.*, 2001; Quilot *et al.*, 2004; Cantín *et al.*, 2010; Eduardo *et al.*, 2011; Zeballos *et al.*, 2016). Del mismo modo, en el albaricoquero se han identificado QTLs en varios grupos de ligamiento, como los grupos 1, 3, 4 y 8 (Ruiz *et al.*, 2010b; Salazar *et al.*, 2013); en el cerezo agrio, en los grupos 2 y 4 (Wang *et al.*, 2000); y en el cerezo dulce en los grupos 1, 2, 3 y 6 (Zhang *et al.*, 2010; Rosyara *et al.*, 2013).

En lo que respecta al ciruelo japonés, hasta la fecha solo se han registrado dos QTLs en estudios previos, localizados en los grupos de ligamiento 2 y 7, específicamente en la población '98-99 × Angeleno' estudiada por Salazar *et al.* (2017, 2020). Estos QTLs, asociados al peso del fruto y diámetro polar, presentan el marcador más significativo ('S2_18489481') en el GL2 del parental '98-99', con un nivel de significancia de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K máximo de 19,80 (Salazar *et al.* 2020).

Si bien el peso y tamaño del fruto están regulados por numerosos loci (Aranzana *et al.*, 2019), lo que presenta un desafío para la selección asistida por SNPs, los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral ponen de manifiesto la notable estabilidad en la identificación de QTLs, así como el efecto alélico de sus SNPs más significativos a lo largo de los tres años en las tres poblaciones. Esta consistencia evidencia una marcada influencia del trasfondo genético en estos caracteres complejos, a pesar de las variaciones ambientales entre años, lo que potencialmente facilita su aplicabilidad en la selección asistida por SNPs.

4.4.5.2.2. Forma del fruto

La forma del fruto juega un papel importante en la preferencia del consumidor, ya que influye en aspectos como la apariencia, comodidad de consumo y la percepción de calidad, pudiendo asociar ciertas formas con características específicas de sabor o textura. Por tanto, la identificación de regiones genómicas asociadas con la forma del fruto es el primer paso para el desarrollo de SNPs moleculares que pudieran utilizarse en selección asistida, permitiendo una selección más precisa y eficiente de características morfológicas deseables en los nuevos genotipos.

En este trabajo, se ha logrado identificar con éxito QTLs asociados a la forma del fruto, distribuidos en varios grupos de ligamiento en las tres poblaciones.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se ha identificado un único QTL vinculado a la forma del fruto, ubicado entre las posiciones 4,62 y 7,32 cM del GL3.2 del parental femenino 'BS'. Este QTL exhibe un nivel de significancia de $p < 0,005$ y un valor estadístico de K de 8,04 a lo largo de los tres años de estudio, coincidiendo con otros QTLs estables asociados al nivel de lenticelas presentes en la piel, color de piel y color de pulpa del fruto.

El SNP del marcador más significativo del QTL ('S3_22967767') muestra un efecto alélico donde la forma del fruto varía significativamente en función del genotipo que presentan, como se ilustra en la Figura 4.23. Concretamente, la presencia del alelo "C" para este SNP reduce la probabilidad de que los individuos exhiban una forma del fruto circular, aumentando en cambio la probabilidad de que presenten frutos cordiformes (o acorazonados) y achatados. Por ejemplo, entre el 40-43% de la población con forma circular del fruto posee un genotipo "TT", disminuyendo hasta en el 25% al presentar un genotipo "CT". Del mismo modo, se observa un incremento en la proporción de individuos que presentan un fenotipo cordiforme y achatado del fruto en aquellos con genotipo "CT".

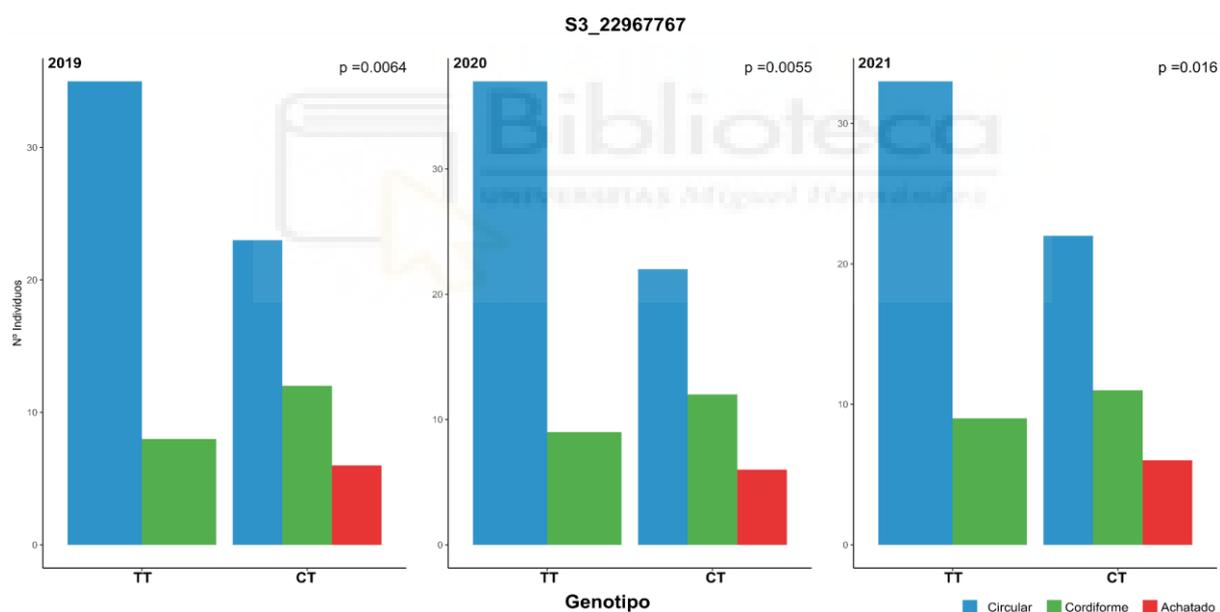


Figura 4.23. Efecto alélico del SNP 'S3_22967767' de 'Black Splendor' en la forma del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la forma del fruto diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S3_22967767'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se ha identificado un QTL estable durante los tres años de estudio en cada parental (Figura 4.19, Tabla S5).

En el parental femenino '**RB**', el QTL localizado en GL1.3, presenta un nivel de significancia relativamente bajo de $p < 0,01$ entre las posiciones 2,96 y 4,39 cM, coincidiendo con dos QTLs vinculados al diámetro polar y la firmeza del fruto (Figura 4.19, Tabla S5).

El SNP más relevante de este QTL ('S1_39125199') exhibe un efecto alélico donde la mayoría de los individuos con genotipo "GG" presentan una forma del fruto circular. En contraste, aquellos individuos que presentan el polimorfismo mostrando un genotipo "GT" tienden a tener en su mayoría un fenotipo de fruto cordiforme o acorazonado, disminuyendo considerablemente la proporción de individuos con frutos de forma circular (Tabla 4.17).

Por otro lado, en el parental masculino '**BS**', el QTL estable durante los tres años de estudio se ha identificado en la posición 77,34 cM del GL5, con un nivel de significancia de $p < 0,01$. Este QTL coincide con otros relacionados con la cantidad de lenticelas en la piel, así como con el color de fondo y la piel del fruto (Figura 4.19, Tabla S5).

El marcador más significativo de este QTL ('S5_19427100'), muestra un efecto alélico donde existen diferencias significativas en la distribución de la forma de fruto en función del genotipo que presentan, donde el 50,7% de la población que muestra un fenotipo de forma circular exhibe un genotipo "AG" frente al 28% de individuos que tienen un genotipo "AA", presentando la mayoría un fenotipo de fruto cordiforme, por lo que la presencia del alelo "G" en este marcador podría estar asociada a una forma del fruto circular (Tabla 4.17).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado tres QTLs estables durante los tres años de estudio, dos en el parental femenino 'RB' y uno en 'SRP' (Figura 4.20, Tabla S6).

En el caso de '**RB**', se ha identificado un QTL en el GL3 y otro en el GL4, ambos con un nivel de significancia de $p < 0,005$. En el GL3, la región más significativa se encuentra entre las posiciones 20,22 y 26,02 cM, siendo el SNP 'S3_6234082' el más relevante. Este QTL coincide con otros QTLs asociados al color de la piel del fruto. Por otro lado, en el GL4, el QTL ligado a la forma del fruto está posicionado entre 21,01 y 23,43 cM, colocalizando con las regiones más significativas de otros QTLs asociados al peso, diámetro, firmeza y adhesión del hueso a la pulpa (Figura 4.20, Tabla S6).

Los SNPs más significativos de ambos QTLs ('S3_6234082' y 'S4_19494943') muestran un efecto alélico donde se observan diferencias significativas en la distribución del fenotipo según el genotipo presentado (Figura 4.24). En la población 'RB×SRP', se encuentran únicamente dos formas de fruto: la circular y la cordiforme o acorazonada. La presencia del

polimorfismo del marcador 'S3_6234082' aumenta la proporción de individuos con forma circular del fruto, representando el 45,80% de la población con un genotipo "GT", frente al 16,70% de la población con genotipo "GG". Por otro lado, la presencia del alelo "T" del marcador SNP 'S4_19494943' disminuye la cantidad de individuos que muestran un fenotipo circular, pasando del 40% al 20%, y aumenta la proporción de individuos con forma cordiforme del fruto, siendo de un 8,90% cuando presentan un genotipo "AA" frente a un 31,10% al tener un genotipo "AT" (Figura 4.24).

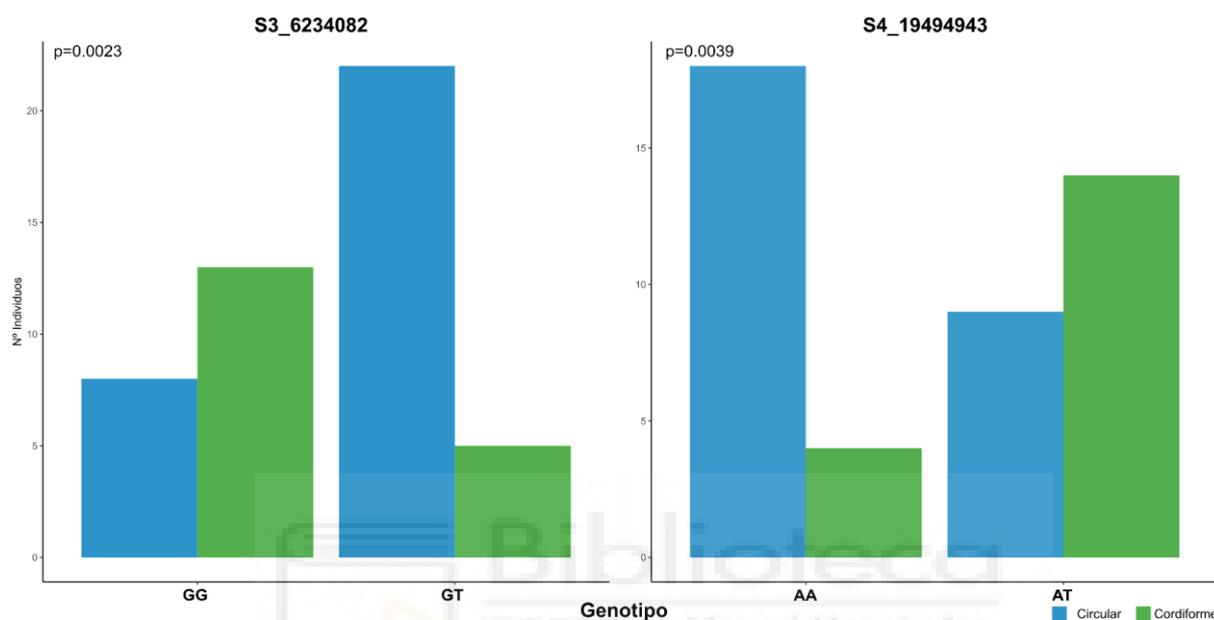


Figura 4.24. Efecto alélico de los SNPs 'S3_6234082' (izquierda) y 'S4_19494943' (derecha) de 'Red Beaut' en la forma del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la forma del fruto diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S3_6234082', y "AA" y "AT" del SNP 'S4_19494943'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de la forma del fruto entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en el parental masculino 'SRP', se ha identificado un QTL estable en el GL3, que presenta su nivel máximo de significancia de $p < 0,001$ entre las posiciones 57,67 y 119,19 cM durante los tres años de estudio, siendo el SNP 'S3_10907210' el más relevante. Este colocaliza con otros QTLs vinculados al peso y tamaño del fruto, así como al color de pulpa visual (Figura 4.20, Tabla S6).

Cabe destacar que el SNP del marcador más significativo de dicho QTL muestra un efecto alélico estable durante los tres años de estudio, presentando diferencias significativas en la forma del fruto en función del genotipo que presentan, tal y como muestra el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis, donde el 91% de los individuos que muestran el SNP exhibiendo un genotipo "CT" muestran una forma del fruto circular, mientras que al tener un genotipo "TT" aumenta considerablemente la proporción de individuos con genotipo cordiforme, llegando al 53%, disminuyendo a su vez los genotipos con fenotipo circular (Figura 4.25)

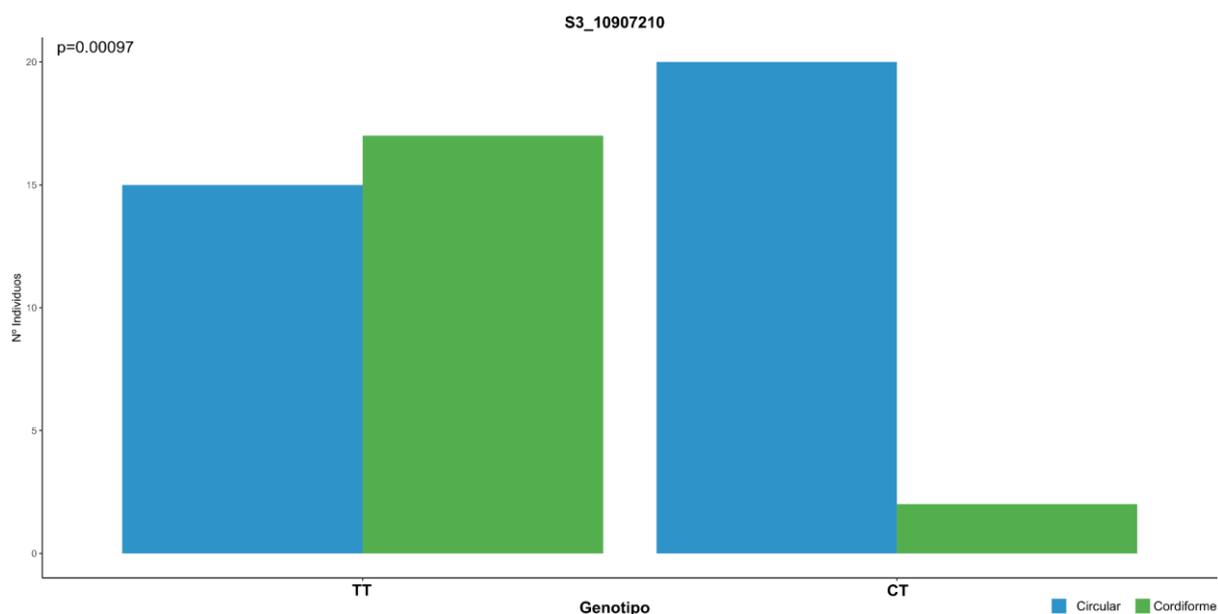


Figura 4.25. Efecto alélico del SNP 'S3_10907210' de 'Santa Rosa Precoz' en la forma del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la forma del fruto diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S3_10907210'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de la forma del fruto entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Al igual que ocurría con el peso y tamaño del fruto, la distribución de los QTLs asociados con la forma del fruto revela una elevada complejidad genética que refleja la herencia cuantitativa de este carácter, en contraste con la regulación monogénica observada en el ciruelo europeo (Okie & Hancock, 2008). Este hecho se alinea con investigaciones previas en diversas especies del género *Prunus*, como ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2017; 2020) y albaricoquero (Socquet-Juglard *et al.*, 2013) que han destacado la presencia de distintos loci implicados en la determinación de la forma del fruto.

En particular, en el melocotonero se ha centrado su estudio en su característica forma plana o achatada, rasgo mendeliano controlado por el locus S descrito por Lesley (1939) y mapeado con precisión en la parte distal del cromosoma 6 por numerosos autores (Dirlewanger *et al.*, 2006; López-Girona *et al.*, 2017; Cirilli & Rossini, 2021; Zhou *et al.*, 2021). Sin embargo, el conocimiento sobre otros factores genéticos que contribuyen a la variación de la forma en los frutos que no presentan este tipo de morfología es limitado. Cirilli *et al.* (2021) estudiaron una colección de accesiones y selecciones de melocotoneros de tipo no plano, identificando un locus relevante en el extremo proximal del cromosoma 6, el cual explica una proporción significativa de la variabilidad fenotípica de la forma longitudinal del fruto, es decir, cuán ovalado o alargado es (relación ancho/alto), así como otras regiones asociadas a ese carácter, aunque menos relevantes, en los grupos de ligamiento 1, 3, 4 y 8.

En albaricoquero, Socquet-Juglard *et al.* (2013), identificaron en la población F1 'Harostar × Rouge de Mauves' QTLs asociados a la forma del fruto, identificando un QTL en los dos años de estudio en el GL3 del parental 'Harostar'. Este QTL presentaba un nivel de

significancia de $p < 0,0001$ durante ambos años, sin embargo, se localizaba en diferentes zonas del grupo de ligamiento en función del año. Además, identificaron dos QTLs en los grupos de ligamiento 1 y 5 del parental masculino 'Rouges de Mauves' con un nivel de significancia de $p < 0,001$ durante un único año, por lo que no presentaban estabilidad.

En el contexto específico del ciruelo japonés, únicamente existen dos trabajos previos que han identificado QTLs relacionados con la forma del fruto, ambos en la población '98-99 × Angeleno'. En el primer estudio, Salazar *et al.* (2017) identificaron un QTL en el GL7 en ambos parentales, colocalizando con el peso del fruto, con un nivel de significancia de $p < 0,01$, sin embargo, únicamente fue detectado en uno de los años de estudio. Posteriormente, Salazar *et al.* (2020) identificaron un QTL en el GL8 en ambos parentales durante los tres años de estudio, alrededor de la posición 21 Mpb del genoma de referencia, con un nivel de significancia de $p < 0,0005$.

En el presente trabajo, se han identificado QTLs relacionados con la forma del fruto en las tres poblaciones. Aunque estos QTLs no se localizan en los mismos grupos de ligamiento que en estudios anteriores en la especie, todos muestran estabilidad durante los tres años de estudio y efectos alélicos estadísticamente significativos en el fenotipo. El QTL en el GL3 de 'SRP' de la población 'RB×SRP' es el que presenta el nivel de significancia más alto ($p < 0,001$). Es notable que de los seis QTLs identificados en total en las tres poblaciones, tres de ellos se encuentren en el GL3, por lo que hay que destacar este grupo de ligamiento entre los demás, identificando en este GL3 QTLs en el parental femenino 'BS' de la población 'BS×PIO' y en ambos parentales de la población 'RB×SRP'.

4.4.5.2.3. Profundidad de la sutura

En cuanto al carácter de profundidad de la sutura del fruto, son escasos los QTLs estables identificados en las poblaciones estudiadas. Hasta la fecha, no se ha documentado ninguna investigación científica que identifique regiones genéticas específicas asociadas a este carácter en el género *Prunus*, lo que destaca la relevancia de los resultados obtenidos.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', los QTLs asociados a la profundidad de la sutura del fruto se han detectado exclusivamente en el parental masculino '**PIO**', donde se han identificado tres QTLs estables durante los tres años de fenotipado, en los grupos de ligamiento 1.1, 1.2 y 7.2 (Figura 4.18, Tabla S4).

En el GL1, se han identificado QTLs en el primer y segundo segmento del grupo de ligamiento. El QTL identificado en el GL1.1 se encuentra entre las posiciones 3,40 y 16,94 cM, colocalizando con otros QTLs vinculados al peso, diámetro y color de piel del fruto, con un nivel de significancia de $p < 0,01$ durante los tres años de evaluación, mientras que el QTL localizado en el GL1.2 entre las posiciones 22,62 y 24,36 cM, presenta un nivel de significancia

mayor ($p < 0,005$), y no se localiza con ningún QTL, aunque si se encuentra en una zona muy cercana a otro QTL vinculado al peso del fruto (Figura 4.18, Tabla S4). En el GL7.2 se ha identificado un QTL en la posición 14,01 cM, cuya significancia es de $p < 0,01$ los tres años de evaluación (Figura 4.18, Tabla S4).

Cabe destacar que los SNPs más significativos de cada QTL ('S1_34881817', para el GL1.1, 'S1_54399353' para el GL1.2 y 'S7_20461521' para el GL7.2) no muestran un efecto alélico estable durante los tres años de fenotipado, por lo que no están incluidos en la Tabla 4.16, sugiriendo una influencia significativa de los factores ambientales y genético-ambientales en este carácter.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado cuatro QTLs vinculados a la profundidad de la sutura en el fruto, dos de los cuales presentan estabilidad durante los tres años de fenotipado (Figura 4.19, Tabla S5).

En el parental femenino '**RB**', se ha identificado un único QTL estable al inicio del GL1.1, presentando su nivel de significancia máximo ($p < 0,005$) entre las posiciones 0,05 y 4,01 cM, coincidiendo con otra región vinculada a la cantidad de lenticelas presentes en la piel del fruto (Figura 4.19, Tabla S5).

Por otro lado, en el parental masculino '**BS**', se han identificado tres QTLs en el GL2, entre 50,05 y 51,19 cM, en los tres años de fenotipado, con un nivel de significación máximo de $p < 0,005$ y un valor de K máximo de 8,932 (Figura 4.19, Tabla S5).

Los polimorfismos de los SNPs más significativos de los QTLs estables identificados en cada parental ('S1_9138722' para 'RB'; 'S2_1971447' para 'BS') muestran un efecto alélico similar, presentando diferencias significativas en la profundidad de la sutura del fruto en función del genotipo que presentan. Los individuos que exhiben un genotipo '*GT*' para el SNP 'S1_9138722' y '*AG*' para 'S2_1971447' muestran una profundidad de sutura significativamente inferior a los individuos con genotipos '*GG*' y '*AA*', por lo que los alelos '*T*' y '*G*' podrían estar asociados con una profundidad de sutura de fruto menor (Tabla 4.17).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se ha identificado un único QTL vinculado a la profundidad de la sutura del fruto en el GL5 del parental masculino '**SRP**'. Este QTL mostró estabilidad durante los tres años de estudio, con un nivel de significancia de $p < 0,01$ entre las posiciones 101,48 y 101,83 cM (Figura 4.20, Tabla S6).

Al igual que en la población 'RB×BS', los SNPs más significativos del QTL detectado muestran un efecto alélico donde la mayoría de los individuos que muestran el polimorfismo

del marcador presentan una sutura no marcada, mientras que los individuos que no lo presentan tienen una profundidad de sutura mayor (Tabla 4.18).

4.4.5.2.4. Presencia de lenticelas en la piel

Hasta la fecha, no se han realizado estudios que identifiquen regiones genómicas asociadas con la presencia o densidad de lenticelas en la piel del fruto. En este estudio, se han identificado con éxito QTLs altamente significativos y estables asociados a este carácter en las tres poblaciones evaluadas. Además, los SNPs más destacados han demostrado tener un efecto alélico en el fenotipo de los individuos, manteniéndose estable a lo largo de los tres años de estudio.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado dos QTLs asociados a la presencia de lenticelas en la piel del fruto, uno en cada parental de la población. Ambos mostraron estabilidad durante los tres años de estudio. (Figura 4.18, Tabla S4).

En el parental femenino '**BS**', el QTL identificado se localiza en los primeros 9,67 cM del GL3.2, con alta significancia estadística ($p < 0,0001$) y un valor estadístico de K de 15,85 durante los tres años, coincidiendo en posición con otros QTLs vinculados a la forma del fruto, color de la piel y pulpa. Por otro lado, en el parental masculino '**PIO**', el QTL identificado se localiza en los primeros 0,85 cM del GL7.3, presentando un nivel de significancia de $p < 0,001$ y un valor estadístico de K de 11,70 durante los tres años (Figura 4.18, Tabla S4).

Los SNPs más relevantes de ambos QTLs, 'S3_2785835' para 'BS' y 'S7_28078249' para 'PIO', muestran un efecto alélico similar (Tabla 4.16). La cantidad de lenticelas en la piel difiere significativamente según el genotipo que presentan para ambos SNPs, tal y como indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis (Figura 4.26).

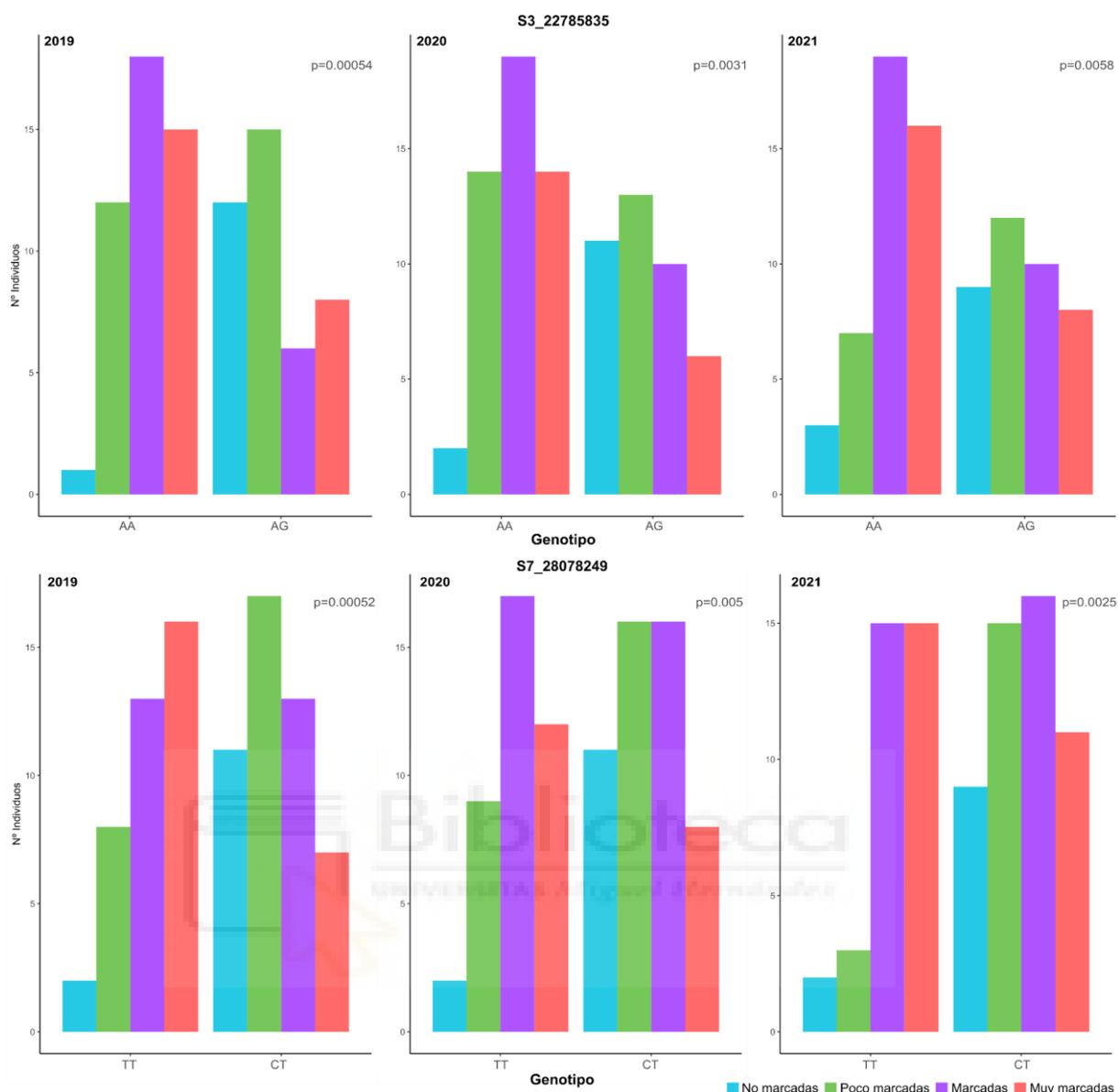


Figura 4.26. Efecto alélico de los SNPs 'S3_2785835' de 'Black Splendor' (arriba) y 'S7_28078249' de 'Pioneer' (abajo). Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la presencia de lenticelas en la piel del fruto, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador 'S3_2785835', y "TT" y "CT" del marcador SNP 'S7_28078249'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Concretamente, la presencia de los alelos "G" y "C" en los genotipos de los individuos para los SNPs 'S3_2785835' y 'S7_28078249', respectivamente, parece estar asociada a un fenotipo con una presencia de lenticelas en la piel menor. Así los individuos con genotipos "AG" (SNP 'S3_2785835') y "CT" (SNP 'S7_28078249') muestran, en general, una menor proporción de individuos con lenticelas marcadas y muy marcadas (Figura 4.26). Contrariamente, en los individuos con genotipo "AA" y "TT", entre el 70 y 86% según el año y marcador, presentan un fenotipo con lenticelas marcadas o muy marcadas en la piel del fruto.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se ha observado el mayor número de QTLs estables asociados a la cantidad de lenticelas presentes en la piel del fruto, presentando un total de 11 QTLs (Figura 4.19, Tabla S5).

En el parental femenino '**RB**', se han identificado tres QTLs distribuidos en dos grupos de ligamiento distintos: uno en el GL1.1 y dos en el GL3. El QTL localizado al inicio del GL3 es el que exhibió la máxima significancia ($p < 0,0001$; K: 17,99) entre la posición 6,64 y 17,44 cM, durante los tres años de fenotipado, colocalizando con otros QTLs asociados a la adhesión del hueso a la pulpa, firmeza, color de fondo, color de piel y pulpa del fruto. Por otro lado, los QTLs identificados entre las posiciones 2,85 y 8,04 cM del GL1.1 y 52,35 y 60,97 cM del GL3, mostraron una significancia inferior ($p < 0,005$) durante los tres años de estudio (Figura 4.19, Tabla S5).

Los SNPs más significativos de los tres QTLs identificados presentan un efecto alélico similar, exhibiendo diferencias significativas en el fenotipo en función del genotipo, donde los individuos que tienen el SNP muestran una cantidad de lenticelas en la epidermis significativamente superior en comparación con los individuos que no lo presentan (Tabla 4.17).

Por otro lado, en el parental '**BS**', se han identificado ocho QTLs estables a lo largo de los grupos de ligamiento 2, 3, 5 y 6 (Figura 4.19, Tabla S5). En el GL2 se han identificado dos QTLs asociados a este carácter, destacando uno de ellos por ser el más significativo en este parental, presentando un nivel de significancia de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K máximo de 16,29 entre las posiciones 14,02 y 51,18 cM del grupo de ligamiento, coincidiendo a su vez con otros QTLs vinculados a la profundidad de la sutura, diámetro polar y color de piel del fruto (Figura 4.19, Tabla S5).

Es importante señalar que los SNPs más significativos de los QTLs identificados en '**BS**' presentan un efecto alélico estable durante los tres años de estudio. En concreto, los SNPs más significativos de los QTLs detectados en los GL2, GL5 y GL6 mostraron un efecto alélico similar, donde los individuos que exhiben el SNP presentan una cantidad de lenticelas en la piel significativamente superior a los individuos que no lo presentan. Por otro lado, los SNPs más significativos del QTL obtenido en el GL3.3 presentan un efecto alélico contrario a los anteriores (Tabla 4.17).

En concreto, la presencia del alelo "G" para el SNP 'S2_19071447' en el genotipo parece estar asociado a una mayor presencia de lenticelas en la piel puesto que los individuos con genotipo "AG" presentan una mayor proporción de individuos con lenticelas marcadas y muy marcadas. Contrariamente, en los genotipos "AA", la mayoría de individuos no muestran lenticelas marcadas. Por el contrario, la presencia del alelo "A" para el SNP 'S3_22540873' en los genotipos parece estar asociada a una densidad de lenticelas menor en la piel del fruto, puesto que la mayoría de los individuos con genotipo "AC", presentan una menor cantidad de lenticelas en la piel en comparación con los genotipos "CC" (Figura 4.27).

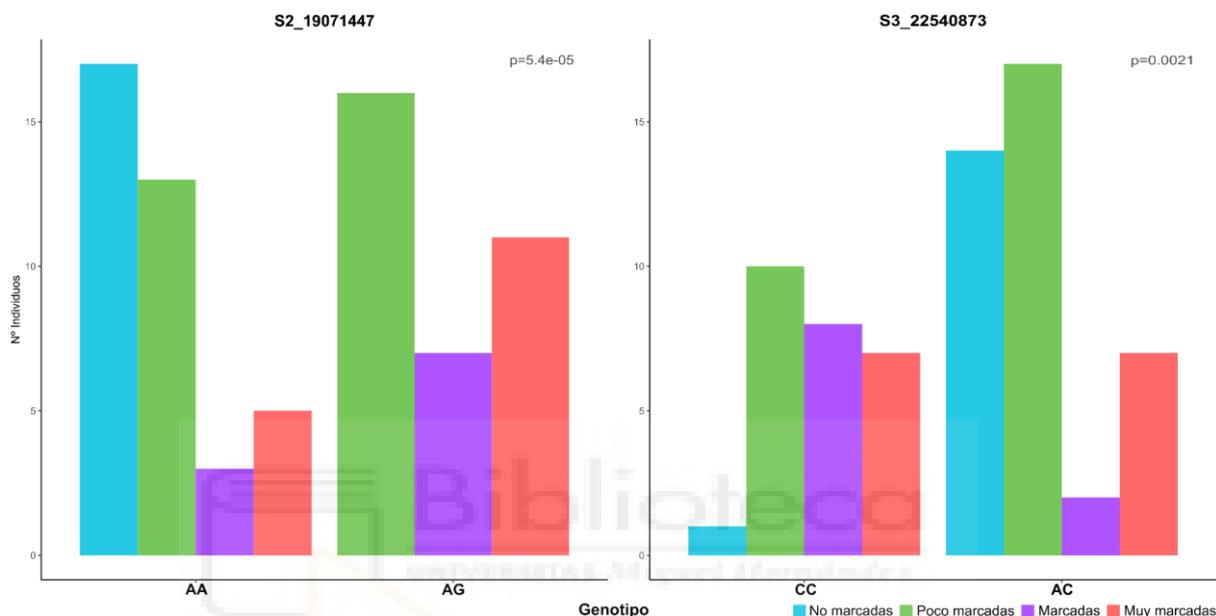


Figura 4.27. Efecto alélico de los SNPs 'S2_19071447' (izquierda) y 'S3_22540873' de 'Black Splendor' (derecha). Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para la presencia de lenticelas en la piel del fruto, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del marcador 'S2_19071447', y "CC" y "AC" del SNP 'S3_22540873'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado exclusivamente QTLs estables ligados a la cantidad de lenticelas presentes en la piel del fruto en el parental masculino 'SRP', donde se han detectado dos QTLs a lo largo de los grupos de ligamiento 5 y 7 (Figura 4.20, Tabla S6).

El QTL más destacado se ubica en el GL5, con un nivel de significancia máximo de $p < 0,005$ y un valor estadístico de K de 8,04 entre las posiciones 35,47 y 49,20 cM durante los tres años de fenotipado, mientras que el segundo QTL se localiza en la posición 48,90 cM del GL7, presentando una significancia menor ($p < 0,01$ durante los tres años) (Figura 4.20, Tabla S6).

Los SNPs más significativos de los QTLs identificados presentan un efecto alélico similar entre sí, y estable durante los tres años de estudio, donde los individuos que presentan el SNP

muestran una cantidad de lenticelas en la piel del fruto significativamente mayor en comparación con aquellos que no lo presentan (Tabla 4.18).

Al comparar los QTLs identificados en las tres poblaciones evaluadas, se observa una dispersión a lo largo del genoma, sin embargo, destacan algunos grupos de ligamiento donde se han identificado QTLs ligados a la densidad de lenticelas en varios parentales de las tres poblaciones. Por ejemplo, en el GL3 se han identificado QTLs en el parental 'BS' de la población 'BS×PIO', así como en ambos parentales de la población 'RB×BS', presentando un efecto alélico distinto en función del parental en el que se localizan. Asimismo, se han identificado QTLs en el GL5 del parental 'BS' de la población 'RB×BS', y 'SRP' de la población 'RB×SRP', mostrando un efecto alélico similar independientemente del parental en el que se han identificado. También, se han identificado QTLs en el GL7 del parental 'PIO' de la población 'BS×PIO', así como en el parental 'SRP' de la población 'RB×SRP'.

4.4.5.2.5. Adhesión del hueso a la pulpa

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado cuatro QTLs significativos y estables asociados a la adhesión del hueso a la pulpa durante los tres años de estudio (Figura 4.18, Tabla S4).

En el parental femenino 'BS' se han identificado tres QTLs, dos de ellos localizados en el GL4 y uno en GL7. La primera región vinculada a este carácter se encuentra en la posición 83,97 cM, y la segunda entre las posiciones 122,03 y 124,64 cM del GL4, colocalizando con otros QTLs vinculados a la firmeza y color de piel del fruto. Ambos QTLs presentan su nivel más alto de significancia ($p < 0,005$) en 2020. Por otro lado, el QTL detectado en el GL7.2, se localiza al inicio del grupo del ligamiento, concretamente entre las posiciones 1,96 y 1,98 cM presentando un nivel de significancia de $p < 0,05$ durante los tres años de evaluación (Figura 4.18, Tabla S4).

Cabe destacar que el efecto alélico para los SNPs más significativos de los QTLs identificados es distinto en función del grupo de ligamiento en el que se localizan. Como se puede observar en la Figura 4.28, existen diferencias significativas entre la distribución de individuos con adhesión del hueso a la pulpa en función del SNP más significativo de los QTLs localizados en el GL4 ('S4_5730378') y el GL7.2 ('S7_2852243').

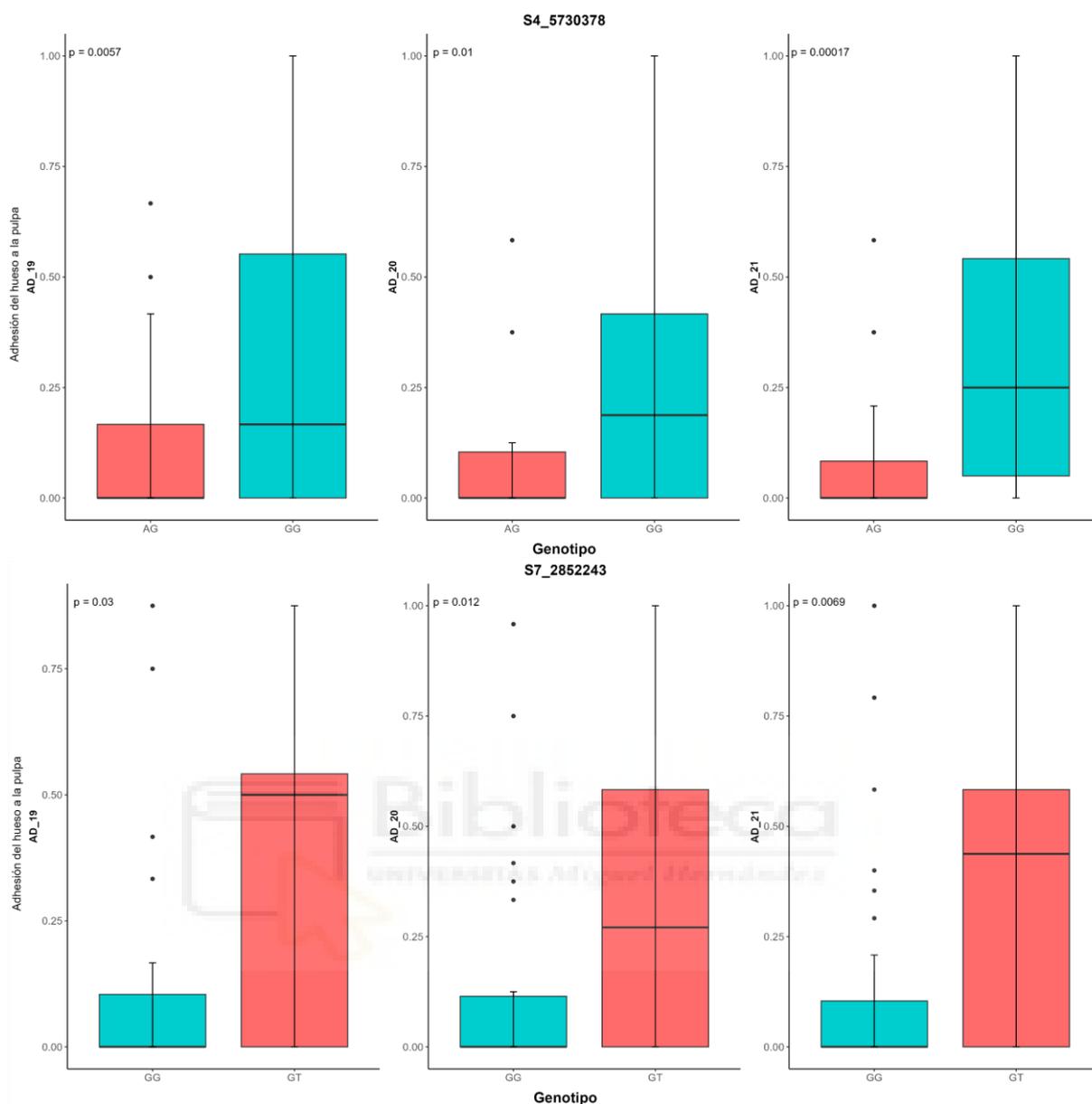


Figura 4.28. Efecto alélico de los SNPs 'S4_5730378' (arriba) y 'S7_2852243' (abajo) de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para la adhesión del hueso a la pulpa (AD), diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S4_5730378' y "GG" y "GT" del SNP 'S7_2852243'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Los individuos que presentan el alelo "A" exhibiendo un genotipo "AG" del SNP 'S4_5730378' (GL4) presentan una adhesión del hueso a la pulpa significativamente inferior a los genotipos "GG". En el caso del SNP 'S7_2852243' (GL7.2) los individuos que presentan el alelo "T", genotipo "GT", presentan una adhesión significativamente superior a los individuos con un genotipo "GG", en general con una adhesión muy baja (Figura 4.28).

Por último, en el parental masculino de la población, 'PIO', se ha identificado un QTL estable durante los tres años de estudio en los primeros 3,94 cM del GL4, colocalizando con otro QTL obtenido para el color de pulpa, presentando una significación de $p < 0,005$ durante

los tres años de estudio (Figura 4.18, Tabla S4). El SNP más significativo de este QTL, 'S4_3270116', presenta un efecto alélico consistente durante los tres años de estudio similar al presentado por los SNPs más significativos del QTL identificado en el GL4 en 'BS', donde los individuos que presentan el genotipo "AC", muestran una adhesión del hueso a la pulpa significativamente inferior en comparación con los individuos con genotipo "CC", por lo que el alelo "A" podría estar vinculado a una adhesión del hueso a la pulpa muy baja (Tabla 4.16).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado un total de nueve QTLs asociados al la adhesión del hueso a la pulpa, de los cuales cuatro de ellos presentan estabilidad durante los tres años de fenotipado (Figura 4.19, Tabla S5).

En el parental femenino '**RB**', se han identificado cuatro QTLs estables en los grupos de ligamiento 1.2, 3 y 5.3. El QTL identificado en el GL1.2 se encuentra al inicio de este, entre las posiciones 1,66 y 2,14 cM, con un nivel de significancia de $p < 0,005$ durante los tres años de estudio. Este QTL colocaliza con otros QTLs relacionados con el peso y diámetro del fruto, al igual que las dos regiones asociadas al carácter en el GL5.3. En el GL5.3 destaca la región posicionada en los primeros 3,19 cM por presentar una mayor significancia ($p < 0,005$) en comparación con la localizada en la posición 15,17 cM ($p < 0,01$). Por otro lado, entre las posiciones 37,501 y 57,53 cM del GL3 se ha identificado un QTL con un nivel de significancia de $p < 0,005$, colocalizando con otros QTLs asociados a la firmeza del fruto, cantidad de lenticelas presentes en la piel, así como al color de fondo, piel y pulpa (Figura 4.19, Tabla S5).

Los SNPs más significativos de los QTLs localizados en el GL1.2 y GL5.3 muestran un efecto alélico similar, donde los individuos que tienen el SNP exhiben una adhesión del hueso a la pulpa significativamente inferior a los individuos que no lo presentan. Sin embargo, los SNPs más significativos del QTL del GL3 tienen un efecto alélico contrario, donde los individuos que presentan el alelo "A" del marcador 'S3_26681289' muestran una adhesión del hueso a la pulpa mayor en comparación con los que tienen un genotipo "GG" (Tabla 4.17).

Por otro lado, en el parental masculino de la población, '**BS**', se ha identificado un QTL estable y altamente significativo a lo largo del GL3.3, presentando su máximo nivel de significancia ($p < 0,0001$) entre las posiciones 38,00 y 42,53 cM, con un valor estadístico de K máximo de 20,66 en 2021 (Figura 4.19, Tabla S5).

El SNP más significativo del QTL identificado, 'S3_31551230', presenta un efecto alélico altamente significativo, tal y como se puede observar en la Figura 4.29. Se observa una diferencia altamente significativa en el fenotipo de los individuos en función del genotipo que presentan. Concretamente, los individuos que tienen un genotipo "AG" muestran una adhesión del hueso a la pulpa inferior a los individuos con genotipo "AA", por lo que la presencia del alelo "G" podría estar estrechamente asociada a una adhesión baja del hueso a la pulpa.

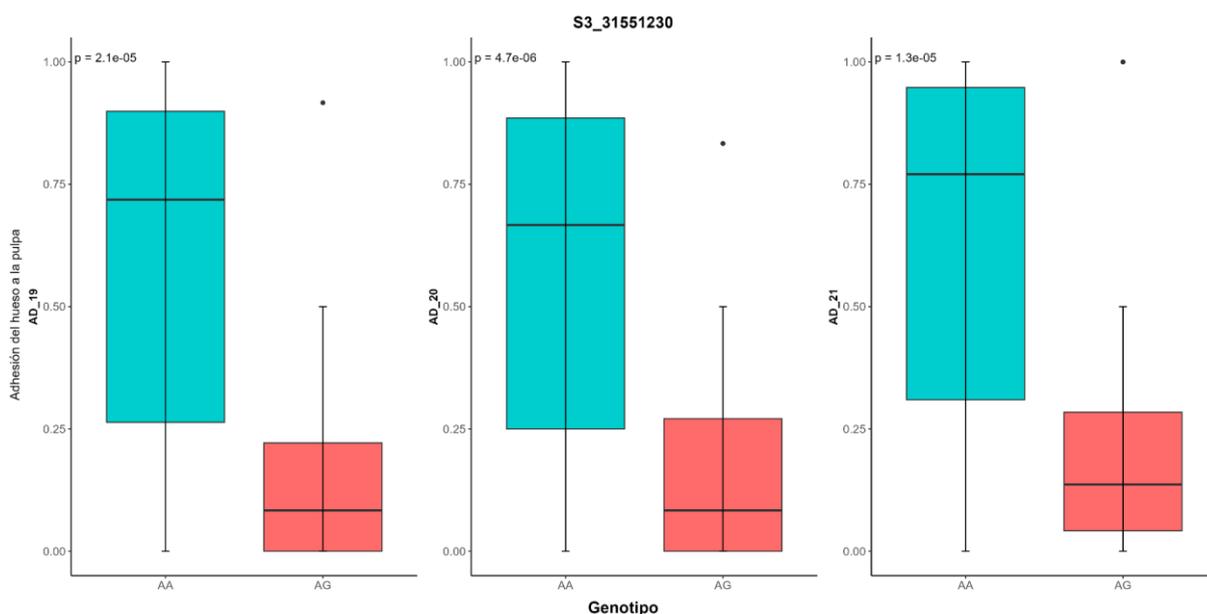


Figura 4.29. Efecto alélico del SNP 'S3_31551230' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para la adhesión del hueso a la pulpa (AD), diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_31551230'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado un total de cuatro QTLs ligados a la adhesión del hueso a la pulpa, de los cuales únicamente dos han presentado una estabilidad durante los tres años de fenotipado (Figura 4.20, Tabla S6).

En el parental femenino 'RB', el QTL estable identificado se localiza en el GL4, presentando su nivel más alto de significancia ($p < 0,0005$ en 2019 y 2021; $p < 0,005$ en 2020) entre 21,01 y 23,43 cM, coincidiendo con las zonas más significativas de QTLs asociados al peso, diámetro, forma y firmeza del fruto (Figura 4.20, Tabla S6).

Por otro lado, en el parental masculino 'SRP', un QTL estable se localiza entre las posiciones 51,34 y 54,44 cM del GL5, con un nivel de significancia de $p < 0,01$ durante los tres años de estudio y un valor de K máximo de 7,746 en 2019 (Figura 4.20, Tabla S6).

El efecto alélico de los SNPs más significativos de estos dos QTLs es contrario entre sí (Tabla 4.18). Como se puede observar en la Figura 4.30, existen diferencias significativas en el fenotipo en función del genotipo que presentan, tal y como indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis para ambos marcadores.

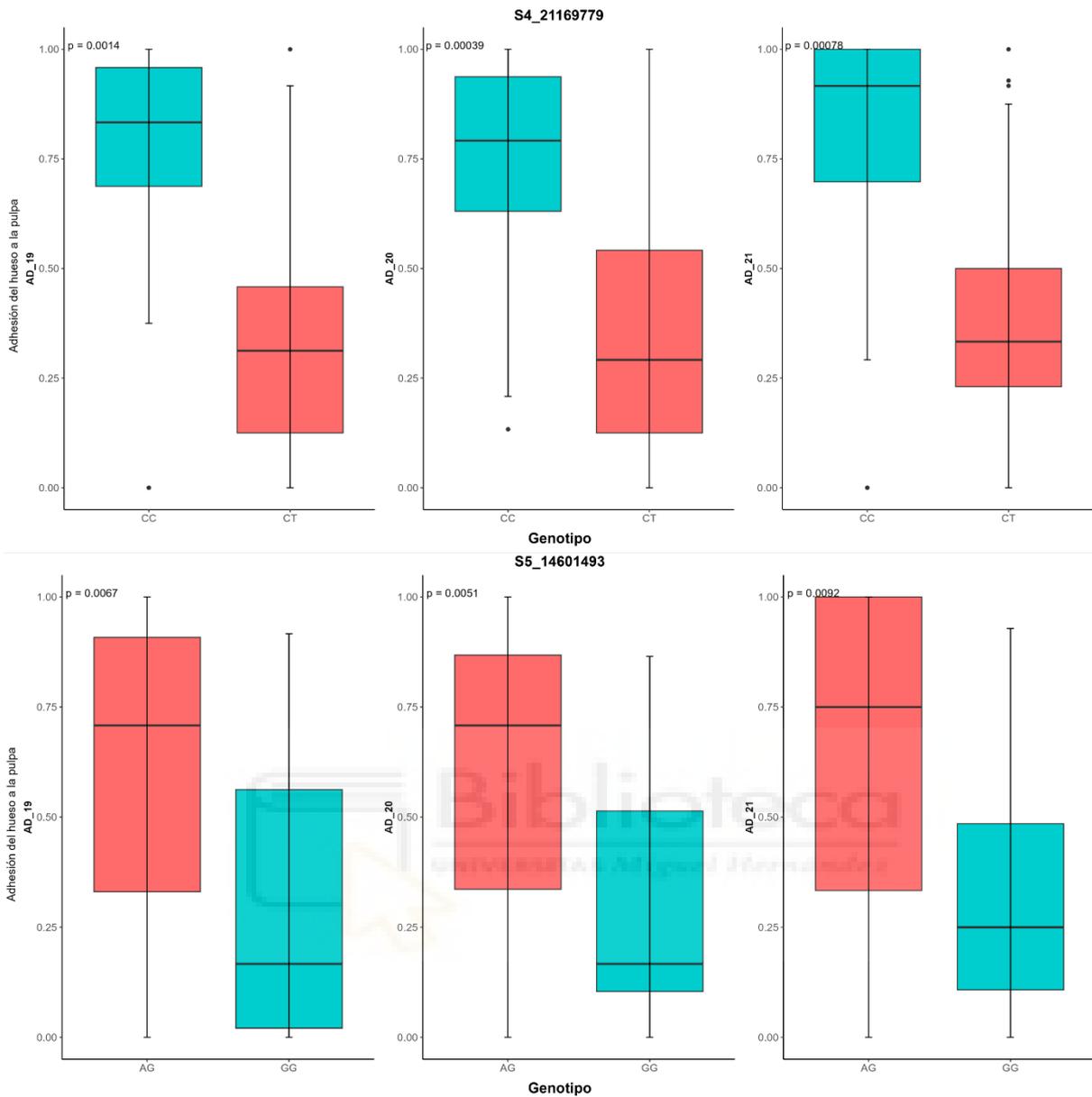


Figura 4.30. Efecto alélico de los SNPs 'S4_21169779' de 'Red Beaut' (arriba) y 'S5_14601493' de 'Santa Rosa Precoz' (abajo). Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para la adhesión del hueso a la pulpa (AD), diferenciando entre los genotipos "CC" y "CT" del SNP 'S4_21169779' y "AG" y "GG" del SNP 'S5_14601493'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

El marcador más significativo del QTL identificado en el parental 'RB', 'S4_21169779', presenta un efecto donde la mayoría de los individuos que tienen el alelo "T" en el genotipo, en torno al 75%, mostrando un genotipo "CT", presentan una adhesión del hueso a la pulpa inferior. Por otro lado, el marcador más significativo del QTL identificado en 'SRP', 'S5_14601493', presenta un efecto alélico donde los individuos con el alelo "A", exhibiendo un genotipo "AG" del marcador, tienden a presentar una adhesión mayor en comparación con los individuos con genotipo "GG" (Figura 4.30).

Hasta la fecha, excepto en el caso del melocotonero, no se han identificado regiones genómicas relacionadas con la adhesión del hueso a la pulpa en frutales del género *Prunus*. En melocotonero se ha identificado un *loci* mapeado en la parte inferior del grupo de ligamiento 4, denominado *Freestone Loci*, donde la base genética de la diversidad en la adhesión del hueso a la pulpa se debe al número de copias, así como a la presencia o ausencia de dos genes de endopoligalacturonasa (*PpendoPGF* y *PpendoPGM*) (Peace *et al.*, 2005; Gu *et al.*, 2016; Lambert *et al.*, 2016; Veerappan *et al.*, 2021). En el presente trabajo también destaca la identificación de QTLs en el grupo de ligamiento 4, con mayor nivel de significación que en el resto de los grupos de ligamiento en los que se han identificado QTLs asociados al carácter (GL3 y GL5). En este GL4 se han identificado QTLs asociados a la adhesión del hueso a la pulpa en ambos parentales de la población 'BS×PIO' y en el parental femenino 'RB' de la población 'RB×SRP', presentando los SNPs más significativos de dichos QTLs el mismo efecto alélico independientemente del parental en el que se han identificado.

4.4.5.2.6. Hueso roto

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado un total de tres QTLs asociados al hueso roto del fruto, siendo la única población de las tres evaluadas que ha presentado algún QTL estable durante los tres años de fenotipado (Tabla S4). El QTL localizado en el GL5 del parental femenino 'BS' muestra estabilidad durante los tres años de fenotipado, presentando su nivel más alto de significancia ($p < 0,0001$) en 2019 y 2021 entre las posiciones 74,53 y 78,74 cM. (Figura 4.18, Tabla S4).

El SNP más significativo de este QTL, 'S5_16094396', presenta un efecto alélico donde se observan diferencias significativas en el fenotipo de los distintos genotipos tal y como podemos observar en la Figura 4.31. Así, los individuos que presentan el genotipo "AG" muestran un porcentaje de hueso roto inferior a los individuos con genotipo "GG", por lo que el alelo "A" podría estar asociado a una presencia menor de huesos rotos en el fruto.

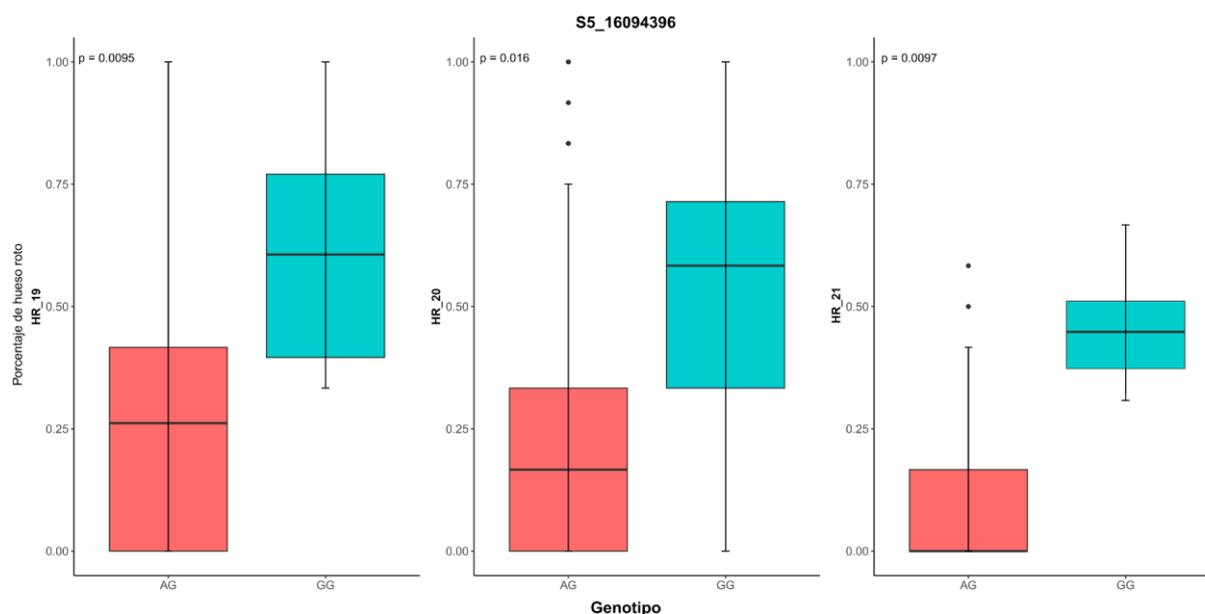


Figura 4.31. Efecto alélico del SNP 'S5_16094396' de 'Black Splendor'. Cada diagrama de caja representa la distribución en porcentaje de 0 a 100% para el hueso roto del fruto (HR), diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S5_16094396'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en el parental masculino '**PIO**', se han identificado dos QTLs en los grupos de ligamiento 1.2 y 5, presentando un nivel de significancia máxima en 2019 de $p < 0,005$ y $p < 0,0005$ respectivamente, sin embargo, dichos QTLs no presentan estabilidad durante los tres años de estudio, identificándose únicamente durante 2019 y 2020 (Tabla S4).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', no se ha identificado ningún QTL estable durante los tres años de estudio en ninguno de los parentales. En el caso del parental femenino '**RB**' se han identificado cuatro QTLs a lo largo del primer y segundo segmento del GL4, y en el parental masculino '**BS**' otros 4 QTLs en los grupos de ligamiento 1.1, 2 y 7, todos ellos detectados únicamente en un año de los tres de estudio y con un nivel de significancia de $p < 0,01$ (Tabla S5).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', únicamente se ha identificado un QTL durante 2019 y 2020 en el GL1 del parental femenino '**RB**', presentando un nivel de significancia máxima de $p < 0,005$ en 2020 (Tabla S6).

Cabe destacar que hasta la fecha no se han identificado QTLs relacionados con el hueso roto en frutales del género *Prunus*, por lo que el QTL estable durante los tres años de fenotipado identificado en el GL5 del parental '**BS**' de la población 'BS×PIO', es el primero estable en ser asociado a este desorden fisiológico.

La incidencia de hueso roto o "Split-pit", está influenciada por factores tanto ambientales como genéticos. En melocotonero se han identificado dos genes, *PPERSHP* y *PPERFUL*, ubicados en los cromosomas 3 y 5, respectivamente, que son homólogos de los genes *SHATTERPROFF* y *FRUITFULL*, que causan la dehiscencia de la vaina en el caso de *Arabidopsis thaliana*. Las variedades de melocotonero que son resistentes a este desorden presentan una expresión significativamente menor del gen *PPERSHP* que aquellas que son sensibles. Además, presentan una menor expresión de *PPERFUL* en los momentos finales del crecimiento y desarrollo del fruto, por lo que la regulación de estos genes parece estar involucrada en la formación de la capa de separación teniendo efecto en el proceso de división del hueso (Tani *et al.*, 2007, 2011; Bianchi *et al.*, 2015; Kritzinger, 2015; Malik *et al.*, 2021).

4.4.5.2.7. Color visual de fondo

Dentro de los cultivos de la familia de las rosáceas, el ciruelo japonés se distingue por su notable variación en el color del fruto, tanto en términos de tonalidad como de patrón. La pigmentación de la piel no necesariamente cubre de manera uniforme la superficie del fruto, creando patrones que revelan el color de fondo. Este fenómeno da lugar a una coloración final en la fruta madura que es el resultado de una compleja red de regulación genética. Esta complejidad, combinada con la alta heterocigosidad del ciruelo japonés, ha generado una variación extremadamente amplia en los colores del fruto (Okie, 2008; Fiol *et al.*, 2021). Por esta razón, se considera el color de fondo como un carácter de gran importancia en los programas de mejora de esta especie.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', únicamente se ha identificado una región asociada al color de fondo del fruto en el GL5 del parental masculino '**PIO**'. Esta región se encuentra entre las posiciones 33,58 y 34,47 cM, con un nivel de significancia de $p < 0,005$ y un valor estadístico de K de 7,94 a lo largo de los tres años de estudio (Figura 4.18, Tabla S4).

En la Figura 4.32 se ilustra el efecto alélico del marcador más destacado del QTL, 'S5_18259949'. Se pueden observar diferencias significativas en la distribución del color de fondo visual del fruto según el genotipo, como indica el valor p obtenido de la prueba de Kruskal-Wallis durante los tres años de fenotipado. La mayoría de los individuos que muestran un genotipo "TT", presentan un color de fondo de piel amarillo, mientras que aquellos que tienen el SNP, mostrando un genotipo "CT", exhiben en su mayoría un color de fondo no visible.

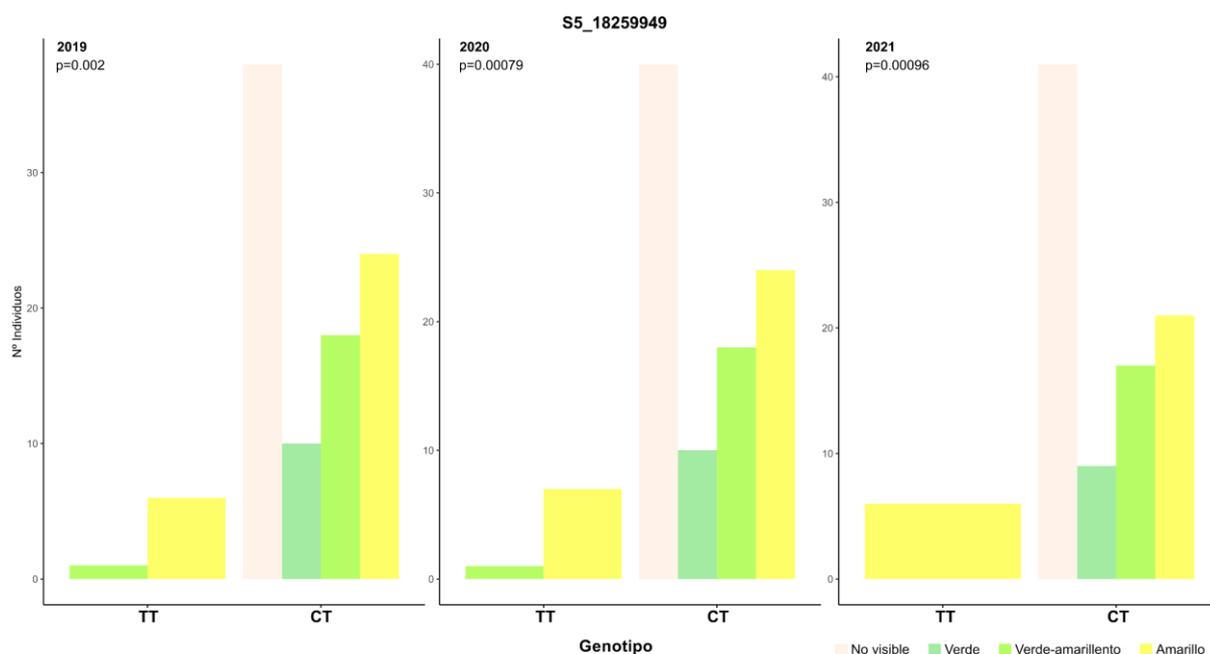


Figura 4.32. Efecto alélico del SNP 'S5_18259949' de 'Pioneer' en el color visual de fondo del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de fondo diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S5_18259949'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se ha observado el mayor número de QTLs relacionados con el color de fondo visual, con un total de 11 QTLs identificados, todos ellos estables durante los tres años de estudio (Tabla S5).

En el parental femenino 'RB', se han identificado cuatro QTLs distribuidos en los grupos de ligamiento 2, 3 y 4.2. En el GL2 se ha identificado un QTL al inicio del grupo de ligamiento, con un nivel de significancia máximo de $p < 0,005$ en los tres años de estudio, entre las posiciones 12,12 y 15,28 cM, colocalizando con otros QTLs asociados al tamaño del fruto. En el GL4.2, el QTL identificado también mostró un nivel de significancia de $p < 0,005$, coincidiendo en posición con QTLs vinculados al color de piel visual y firmeza. Por último, en el GL3 se han identificado dos regiones vinculadas al carácter, siendo la situada entre las posiciones 12,33 y 17,44 cM la que presenta el nivel de significancia más alto ($p < 0,0001$), con un valor estadístico de K de 14,82, coincidiendo en posición con QTLs asociados a numerosos caracteres físicos como la cantidad de lenticelas, la adhesión del hueso a la pulpa, la firmeza, así como otros vinculados con el color de piel y pulpa (Figura 4.19, Tabla S5).

Es importante destacar que los SNPs más significativos de cada QTL identificado presentan un efecto alélico similar, donde la presencia del SNP en el genotipo de los individuos conduce al aumento de la presencia de un color de fondo amarillo en su fenotipo, en comparación con otros colores de fondo (Tabla 4.17).

Este hecho se ilustra en la Figura 4.33, donde se representa el efecto alélico del SNP más significativo de los QTLs identificados, 'S3_12468085'. Específicamente para este marcador, se observan diferencias altamente significativas en la distribución del fenotipo de color de fondo según el genotipo, como se evidencia en el valor p obtenido de la prueba de Kruskal-Wallis. El 86% de los individuos que tienen un genotipo "GG" muestran un color de fondo no visible, con una proporción muy baja de individuos que exhiben un color verde-amarillento y amarillo de fondo. En el caso de los individuos con genotipo "AG" se observa una mayor probabilidad de presentar un color de fondo amarillento, ya que el 48% de ellos muestran ese color de fondo, disminuyendo a su vez la cantidad de individuos que muestran un color de fondo no visible, lo que sugiere que la presencia del alelo "A" para este marcador podría estar asociada a un color de fondo amarillento.

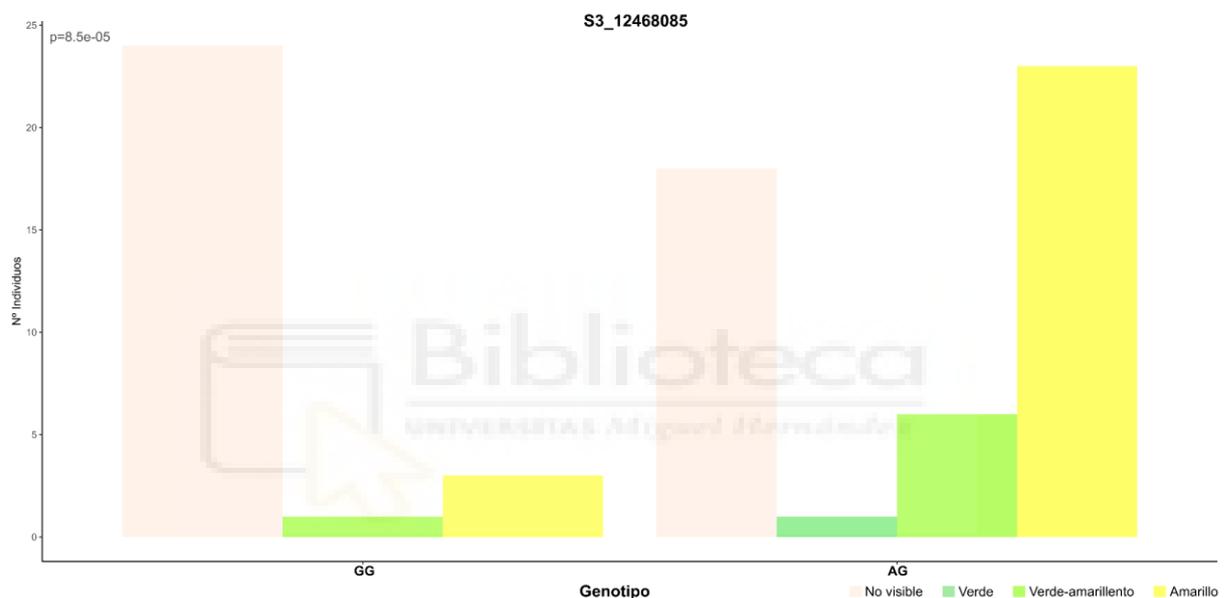


Figura 4.33. Efecto alélico del SNP 'S3_12468085' de 'Red Beaut' en el color visual de fondo de fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de fondo diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S3_12468085'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en el parental masculino de la población, 'BS', se han identificado un total de siete QTLs estables durante los tres años de estudio, distribuidos en los grupos de ligamiento, 2, 3.1, 5, 6 y 7 (Figura 4.19, Tabla S5).

En el GL2, se ha identificado un QTL con un nivel de significancia estable ($p < 0,005$) entre las posiciones 83,84 y 97,47 cM, coincidiendo con otros QTLs vinculados a la cantidad de lenticelas presentes en la piel, así como con todos los caracteres evaluados de color de piel del fruto (Figura 4.19, Tabla S5). En los grupos de ligamiento 3.1 y 6, se han identificado uno y tres QTLs vinculados al carácter respectivamente, todos con un nivel de significancia de $p < 0,01$ durante el periodo de estudio. El QTL localizado en la posición 3,02 cM del GL3.1 coincide con

otras regiones vinculadas al tamaño del fruto, color de piel y pulpa. Por otro lado, de las tres regiones identificadas en el GL6 únicamente la identificada en la posición 88,03 cM se encuentra solapada con otro QTL estable, en este caso vinculado al parámetro L de color de piel del fruto (Figura 4.19, Tabla S5).

En los grupos de ligamiento 5 y 7 se han identificado los QTLs más significativos, ambos con un nivel de significancia de $p < 0,0005$ durante los tres años de estudio y un valor estadístico de K de 15,06 y 12,64 respectivamente (Figura 4.19, Tabla S5). El QTL localizado en el GL5 se ubica al final, concretamente entre las posiciones 77,34 y 103,94 cM, coincidiendo con otras regiones relacionadas con la forma del fruto, cantidad de lenticelas, firmeza y color de piel, mientras que el localizado al inicio del GL7, durante los primeros 17 cM, únicamente coincide con una región asociada al color de piel (Figura 4.19, Tabla S5).

Los SNPs más significativos de los QTLs detectados en los grupos de ligamiento 2, 5, 6 y 7 muestran un efecto alélico similar, donde los individuos que exhiben el SNP en su genotipo tienen una mayor probabilidad de presentar un color de fondo amarillento. Sin embargo, el SNP del marcador más significativo del QTL identificado en el GL3.1 presenta un efecto alélico distinto a los anteriores, donde los individuos que muestran el SNP presentan una mayor probabilidad de tener un color de fondo no visible (Tabla 4.17).

En el caso del marcador más significativo del GL3.1 ('S3_2523481'), el 50% de los individuos con genotipo "GG" muestran un color de fondo amarillento, mientras que la mayoría de los que presentan un genotipo "AG", concretamente el 68%, tienen un color de fondo no visible, por lo que la presencia del alelo "A" para este marcador en el genotipo podría estar vinculada a un color de fondo que no es amarillo. Sin embargo, la presencia del alelo "A" del marcador 'S5_21755470' aumenta la probabilidad de color de fondo amarillento, puesto que el 90% de los individuos que tienen un genotipo "CC" muestran un color de fondo no visible y solo el 5% un color amarillo, en comparación con el 48% de los individuos con genotipo "AC", que muestran un color de fondo amarillo (Figura 4.34).

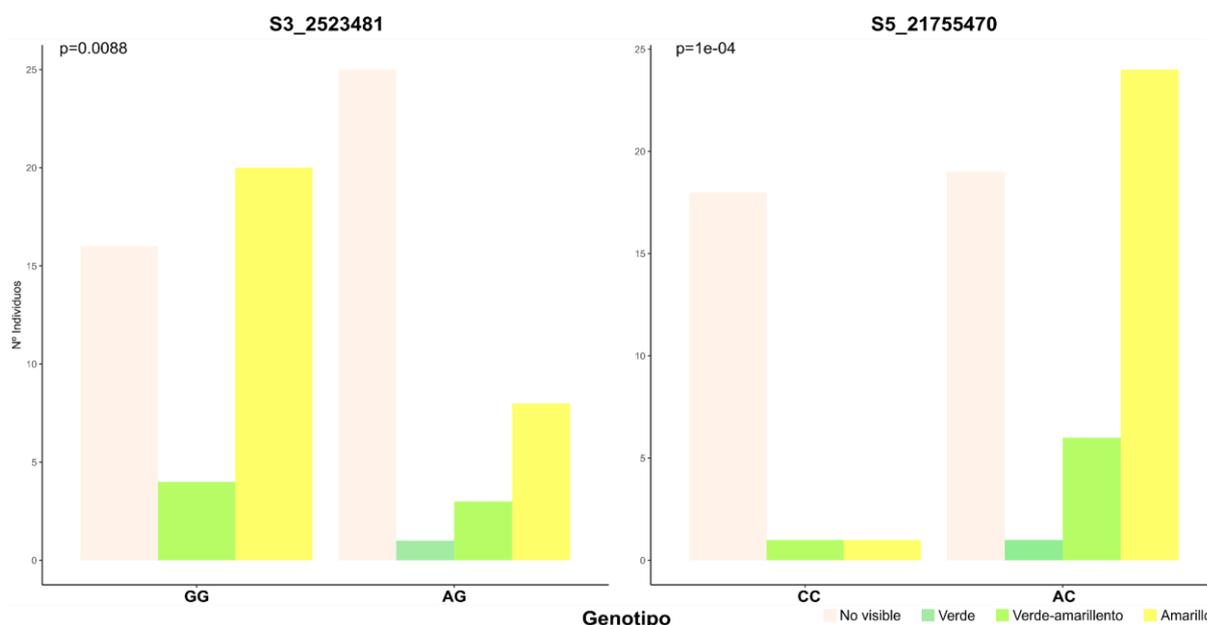


Figura 4.34. Efecto alélico de los SNPs 'S3_2523481' (izquierda) y 'S5_21755470' (derecha) de 'Black Splendor' en el color de fondo. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de fondo fruto diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S3_2523481', y "CC" y "AC" del SNP 'S5_21755470'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado únicamente dos regiones asociadas al color de fondo visual del fruto en el parental femenino 'RB' en los grupos de ligamiento 3 y 5 (Figura 4.20, Tabla S6).

En el GL3 se ha identificado un QTL estable con un nivel de significancia de $p < 0,005$ entre las posiciones 95,71 y 115,91 cM, coincidiendo con otros QTLs vinculados al color de piel, mientras que el QTL identificado en la posición 2,57 cM del GL5.2, presenta un nivel de significancia menor ($p < 0,01$) y únicamente colocaliza con un QTL vinculado al diámetro polar del fruto (Figura 4.20, Tabla S6).

El efecto alélico de los SNPs más significativos de estos QTLs es distinto entre sí, como se muestra en la Tabla 4.18. La presencia del SNP 'S3_23326062' en el fenotipo aumenta la probabilidad de presentar un color de fondo no visible, mientras que si presentan el SNP 'S5_18625508', la proporción de individuos con fondo amarillo es la que aumenta (Tabla 4.18). Este patrón también se observa en los SNPs de los QTLs ubicados en los grupos de ligamiento 3.1 y 5 identificados en el parental 'BS' de la población 'RB×BS' (Tabla 4.18).

Al comparar los QTLs identificados para el color de fondo visual del fruto en las tres poblaciones, destacan los grupos de ligamiento 3 y 5, ya que en ellos se han detectado QTLs en tres de los cuatro parentales además de presentar el mayor nivel de significancia. Por ejemplo, en el GL5 se han identificado QTLs en los parentales 'PIO' de la población 'BS×PIO',

siendo este el único identificado en toda la población, en 'BS' de la población 'RB×BS', siendo el más significativo de todos los identificados en 'BS', y en 'RB' de la población 'RB×SRP'. Asimismo, se han identificado QTLs en el GL3 de ambos parentales de la población 'RB×BS', siendo el más significativo de todos los identificados en 'RB', y en 'RB' de la población 'RB×SRP'.

En ciruelo japonés no se han identificado previamente QTLs asociados con el color de fondo de la piel del fruto; sin embargo, los resultados obtenidos concuerdan con estudios previos en diferentes especies de *Prunus* donde se señala que los QTLs más significativos relacionados con el color de piel se encuentran en el GL3, lo que sugiere que este carácter podría estar altamente conservado dentro de las especies de este género (Sooriyapathirana *et al.*, 2010; Socquet-Juglard *et al.*, 2013; Frett *et al.*, 2014; Salazar *et al.*, 2017; García-Gómez *et al.*, 2021). Específicamente para el color de fondo, Socquet-Juglard *et al.* (2013) observaron que, cuando este carácter se evaluaba como un rasgo cualitativo, el locus Sc en melocotonero se podía mapear en el GL6. En albaricoquero, diversos estudios han identificado QTLs asociados al color de fondo en los grupos de ligamiento 2, 3 y 6 (Ruiz *et al.*, 2010b; Salazar *et al.*, 2013). Sin embargo, en ciruelo japonés el único estudio que ha contemplado el color de fondo en esta especie lo realizó Salazar *et al.* (2017), donde evaluaron el porcentaje de color que cubría el fruto, donde el 100% podría equipararse a un color de fondo no visible, identificando QTLs en los grupos de ligamiento 3 y 4.

4.4.5.2.8. Color de piel

Los caracteres analizados relacionados con el color de la piel del fruto muestran una elevada correlación entre sí, como se expone en el Apartado 3.4.1 del Capítulo 3 de la presente tesis doctoral. De ahí que la gran mayoría de los QTLs identificados en relación con el color de piel, tanto con la evaluación visual, como con los parámetros cromáticos resultantes del sistema de coordenadas empleado en la determinación analítica del color, que miden la luminosidad (parámetro L), la intensidad (parámetro C) y la tonalidad de color (ángulo Hue, °H), coincidan en regiones similares del genoma en las tres poblaciones estudiadas, tal y como muestran los resultados que se detallan a continuación. En consecuencia, y con el fin de sintetizar y mejorar la comprensión de los resultados, se ha optado por referirnos en mayor profundidad a los resultados relativos a la evaluación visual del color de la piel del fruto y al ángulo de tonalidad de color (°H), por ser éste el parámetro cromático más representativo resultante de la determinación analítica del color.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado un total de 21 QTLs asociados al color de la piel del fruto, de los cuales 18 muestran estabilidad a lo largo de los tres años de fenotipado (Tabla S4).

En el parental femenino 'BS', se han identificado seis QTLs estables localizados en los grupos de ligamiento 1, 3.2 y 4, destacando particularmente el GL3.2. En este GL, se han

encontrado QTLs con un nivel de significancia elevado asociados a los cuatro caracteres evaluados para el color de la piel del fruto, así como otros relacionados con el color de la pulpa, la cantidad de lenticelas en la piel y la forma del fruto (Figura 4.18, Tabla S4).

Los QTLs asociados al color visual de piel y a la tonalidad de color evaluada mediante el ángulo Hue identificados en el GL3.2 presentan un nivel de significancia de $p < 0,0001$ con un valor estadístico de K máximo de 24,27 y 18,15, respectivamente (Figura 4.18, Tabla S4). Los SNPs más significativos de ambos QTLs, ('S3_20860507' para color visual de piel y 'S3_21522917' para °H) muestran un efecto alélico similar, donde los individuos que presentan el SNP en su genotipo presentan un color de piel más oscuro (Tabla 4.16).

Este efecto alélico se puede observar gráficamente en las Figuras 4.35 y 4.36, donde se representa la distribución del color de la piel en función del genotipo para los SNPs más significativos de ambos QTLs, observándose diferencias significativas entre genotipos para el color de piel, tal y como indica el valor p obtenido de la prueba de Kruskal-Wallis.

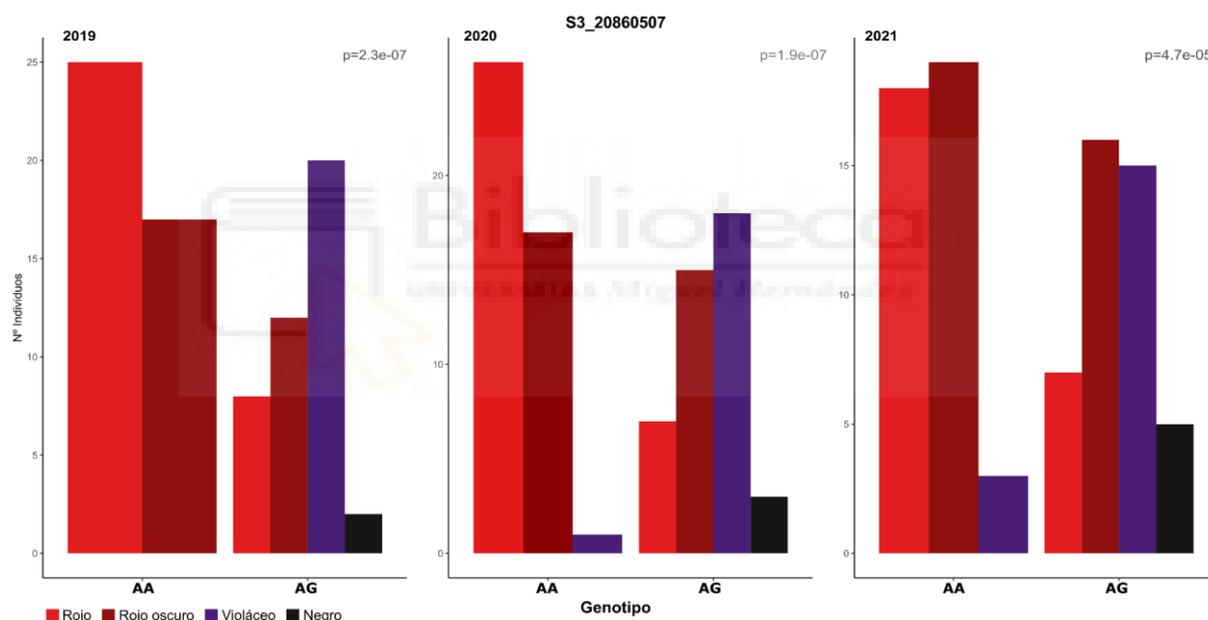


Figura 4.35. Efecto alélico del SNP 'S3_20860507' de 'Black Splendor' en el color visual de la piel del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_20860507'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del color visual de la piel del fruto entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

En el caso del marcador más significativo para el QTL asociado al color visual de piel, 'S3_20860507', la presencia del alelo "G" en el genotipo, heterocigótico "AG", provoca un aumento en el número de individuos con color de piel violáceo y negro, en comparación con los individuos homocigóticos "AA", donde la mayoría presenta un color de piel rojo y rojo oscuro, por lo que la presencia del alelo "G" podría estar asociada a una coloración de piel violácea y negra (Figura 4.35).

Este efecto alélico también se observa en el marcador más significativo para el QTL vinculado a la tonalidad del color de piel evaluada mediante el ángulo Hue, 'S3_21522917', donde la presencia del alelo "T" provoca que los frutos de los individuos heterocigóticos "GT" presenten valores de °H más bajos, asociados a colores más oscuros, frente a los valores más altos de °H dentro de los tonos rojizos que presentan los individuos homocigóticos "GG" (Figura 4.36).

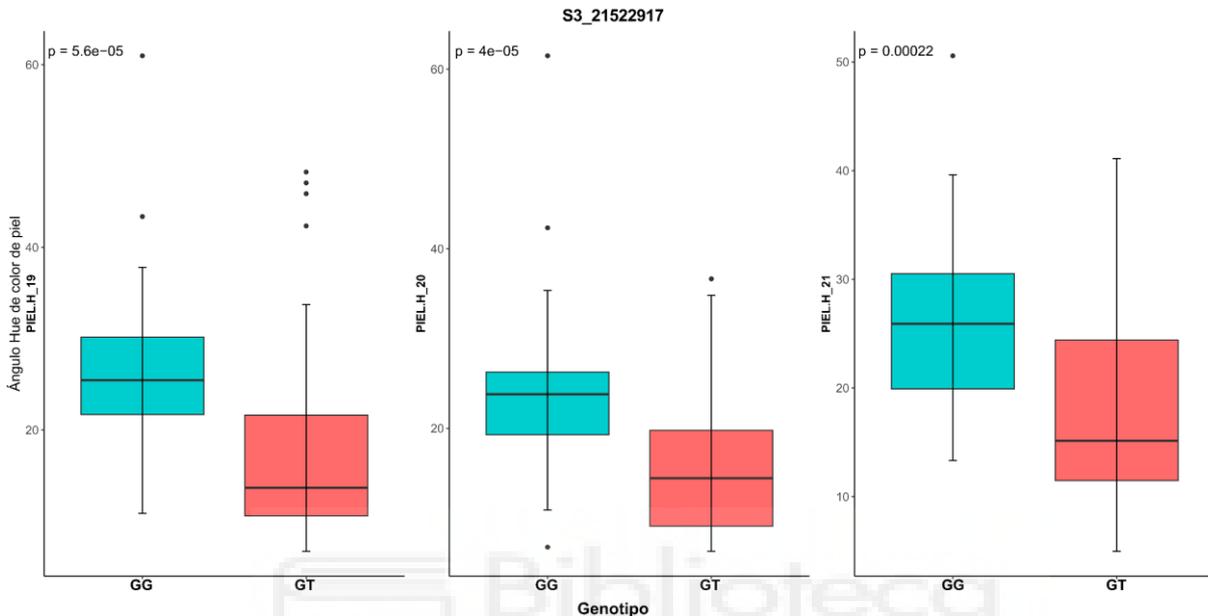


Figura 4.36. Efecto alélico del SNP 'S3_21522917' de 'Black Splendor. Cada diagrama de caja representa la distribución para ángulo Hue de color de piel del fruto (PIEL.H), diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S3_21522917'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en el GL4 también se ha identificado un QTL estable asociado al color visual de piel durante los tres años de fenotipado, con un nivel de significancia elevado de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K de 25,45, presentando su nivel máximo de significancia entre las posiciones 83,96 y 132,61 cM, coincidiendo con otros QTLs asociados a caracteres físicos como el diámetro, la adhesión del hueso a la pulpa y la firmeza del fruto (Figura 4.18, Tabla S4).

Los SNPs más significativos de este QTL presentan un efecto alélico distinto al descrito anteriormente, donde la presencia del SNP en el genotipo provoca un aumento del porcentaje de individuos caracterizados por color rojo en la piel del fruto (Tabla 4.16). El efecto alélico del SNP 'S4_5716486' se muestra en la Figura 4.37, donde se observan diferencias significativas en la distribución del fenotipo del color de piel visual en función del genotipo durante los tres años de estudio, tal y como indica el valor p obtenido de la prueba de Kruskal-Wallis.

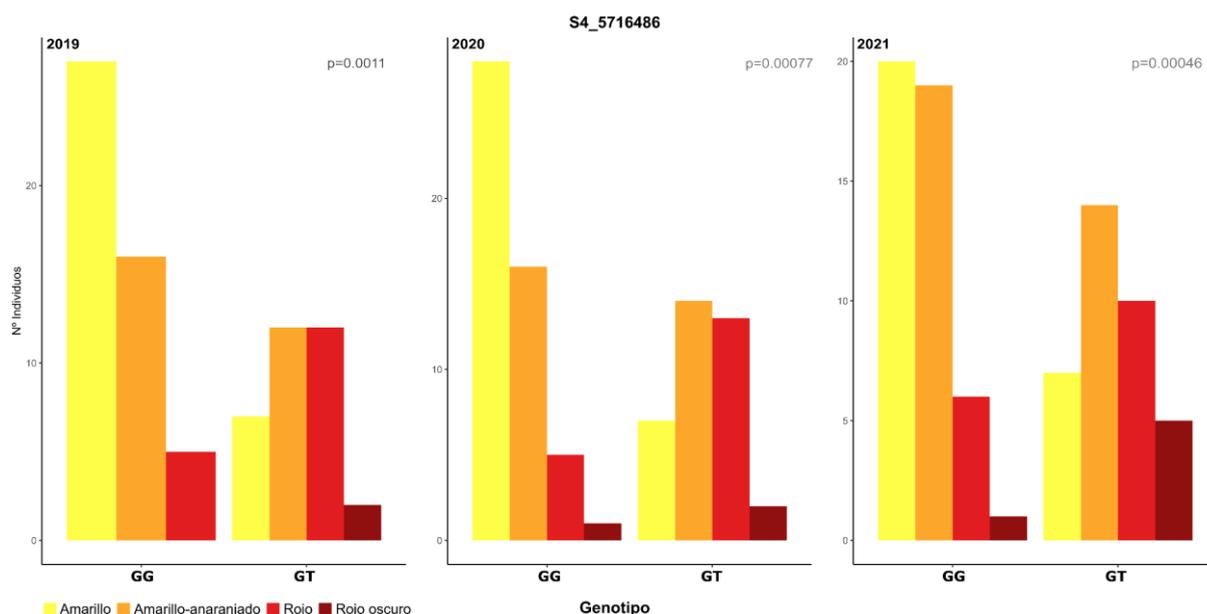


Figura 4.37. Efecto alélico del SNP 'S4_5716486' de 'Black Splendor' en el color visual de la piel del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S4_5716486'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

El genotipo heterocigótico "GT" está asociado a una mayor proporción de individuos con un color de piel rojo y rojo oscuro, mientras que el genotipo homocigótico "GG" indica una mayor probabilidad, 50-56% de la población, de piel amarilla. Por tanto, la presencia del alelo "T" en este SNP podría estar asociada a un color rojizo del fruto (Figura 4.37).

Por otro lado, en el parental masculino 'PIO', se han identificado 12 QTLs estables distribuidos a lo largo de los grupos de ligamiento 1.1, 5, 7.1 y 8.2. El GL1.1 es el más destacado, ya que en él se localizan QTLs asociados a los cuatro caracteres evaluados para el color de piel, identificándose en dos regiones diferenciadas: al inicio del GL1.1, durante los primeros 8 cm, y al final del grupo de ligamiento. Ambas regiones coinciden con otros QTLs vinculados al tamaño del fruto (Figura 4.18, Tabla S4).

Los dos QTLs asociados a la tonalidad de color representada por el ángulo Hue ($^{\circ}$ H), identificados en el GL1.1, presentan los niveles de significancia más altos, con valores de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K máximo de 17,74 y 17,00 en 2021 (Figura 4.18, Tabla S4).

Por otro lado, en el GL8.2 se han detectado dos QTLs asociados al color de piel visual y al ángulo Hue, localizándose en posiciones similares del grupo de ligamiento, siendo el QTL asociado al color de piel visual el que presenta una mayor significancia ($p < 0,0001$) durante los tres años, con un valor estadístico de K de 12,45 (Figura 4.18, Tabla S4).

Los SNPs más significativos de todos los QTLs detectados muestran un efecto alélico similar entre sí, donde la presencia del SNP, es decir individuos heterocigóticos, provoca un aumento en la frecuencia de individuos con color de piel rojo y una disminución de los tonos

más oscuros, como rojo oscuro, violáceo y negro (Tabla 4.16). En la Figura 4.38 se representa el efecto alélico del marcador más significativo de todos los QTLs identificados asociado al color de piel del fruto, 'S1_28927521'. El polimorfismo de este marcador muestra que la mayoría de los individuos que presentan un genotipo heterocigótico "GT" se caracterizan por valores de °H más elevados, asociado a tonalidades rojizas, como también lo corroboran los resultados del color visual, mientras que los individuos que presentan un genotipo homocigótico "TT", tienen una mayor probabilidad de valores de °H más bajos, asociados a colores más oscuros de rojo, así como a tonos violáceos e incluso negros. Este efecto alélico se aprecia muy gráficamente en el carácter 'color visual de piel' (Figura 4.38).

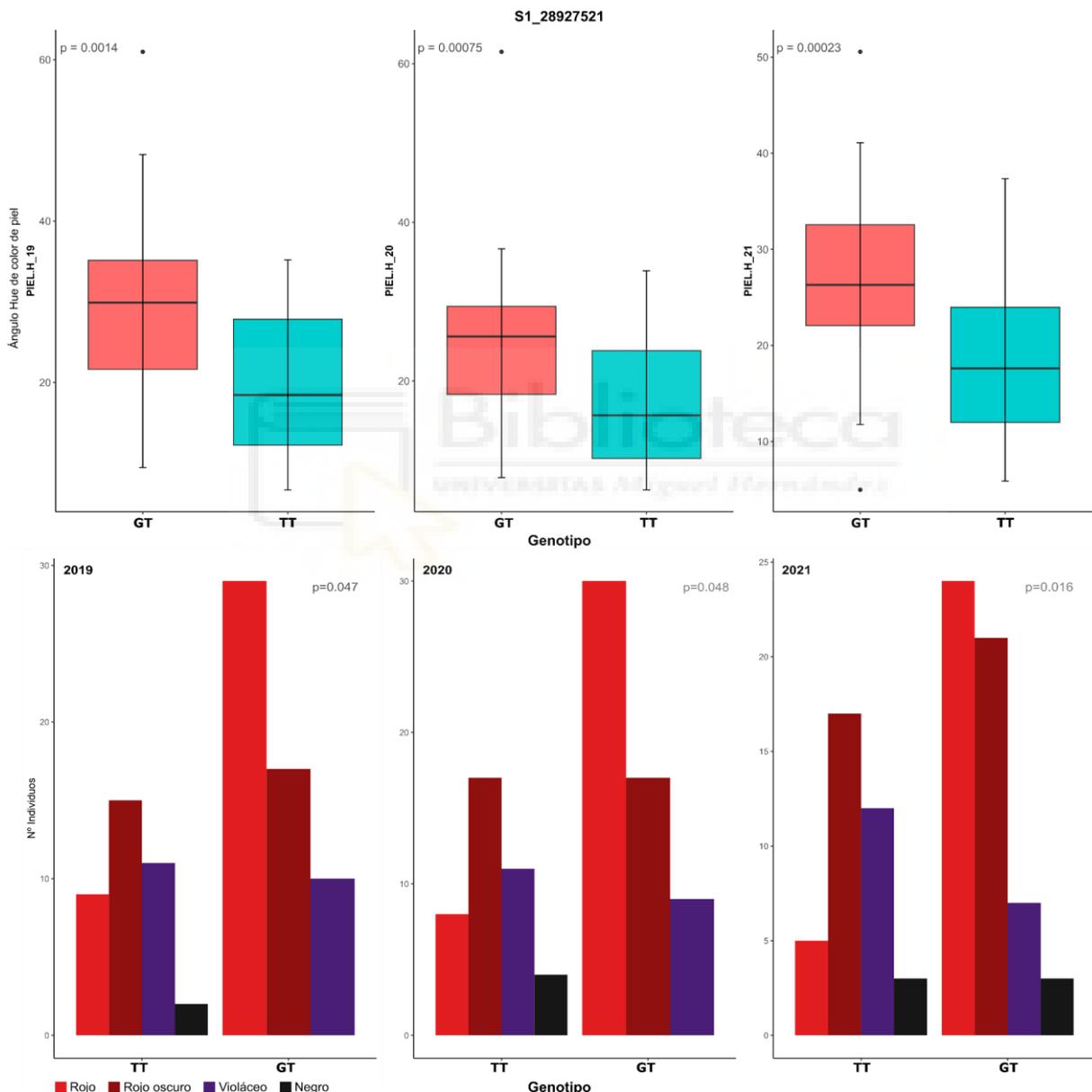


Figura 4.38. Efecto alélico del SNP 'S1_28927521' de 'Pioneer' para el color de piel del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución ángulo Hue de color de piel del fruto (PIEL.H) (arriba) y los diagramas de barras representan la distribución de los individuos para el color de piel visual (abajo), diferenciando entre los genotipos "TT" y "GT" del SNP 'S1_28927521'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado un total de 35 QTLs asociados a los caracteres evaluados del color de piel, de los cuales 29 muestran estabilidad durante los tres años de estudio (Tabla S5).

En el parental femenino, '**RB**', se han identificado cinco QTLs estables en los grupos de ligamiento 3 y 4.2, destacando especialmente el GL3. En él se localizan cuatro QTLs altamente significativos a lo largo de la mayor parte del grupo de ligamiento, desde el inicio hasta la posición 60,97 cM, colocalizándose entre sí y con otros QTLs asociados a caracteres físicos del fruto, como la cantidad de lenticelas, la adhesión del hueso a la pulpa, la firmeza, el color de fondo y el color de pulpa (Figura 4.19, Tabla S5).

Los QTLs más significativos del GL3 están asociados al color visual de piel y a la tonalidad de color evaluada mediante el ángulo Hue, presentando ambos un nivel de significancia de $p < 0,0001$ con valores estadísticos de K de 24,20 y 22,32, respectivamente (Figura 4.19, Tabla S5).

Por otro lado, en el GL4.2 se ha detectado un QTL asociado al color de piel visual, con un nivel de significancia de $p < 0,005$ durante los tres años de estudio, entre las posiciones 14,88 y 17,50 cM, coincidiendo con otro QTL vinculado al color de fondo y la firmeza del fruto (Figura 4.19, Tabla S5).

Los SNPs más significativos de todos los QTLs detectados muestran un efecto alélico similar, presentando diferencias significativas en la distribución del color de piel en función del genotipo que presentan (Tabla 4.17).

Este efecto alélico se puede apreciar gráficamente en la Figura 4.39, donde se representa el marcador más significativo del QTL obtenido para el color de piel visual en el GL3, 'S3_16074034'. Este marcador es el más significativo de todos los QTLs detectados, mostrando que la mayoría de los individuos heterocigóticos "CT", concretamente el 55%, presentan un color de piel rojo, en comparación con el 8% de los individuos que no presentan el SNP. Por otro lado, la mayoría de los individuos homocigóticos "TT", concretamente el 54%, presentan un color de piel violáceo, e incluso algunos presentan una coloración negra de la piel. Esto indica que la presencia del alelo "C" en el genotipo podría provocar un aumento en la proporción de colores más claros en la piel, disminuyendo la cantidad de individuos con piel violácea y aumentando los de piel rojiza, incluso con la posibilidad de que aparezcan tonos amarillos.

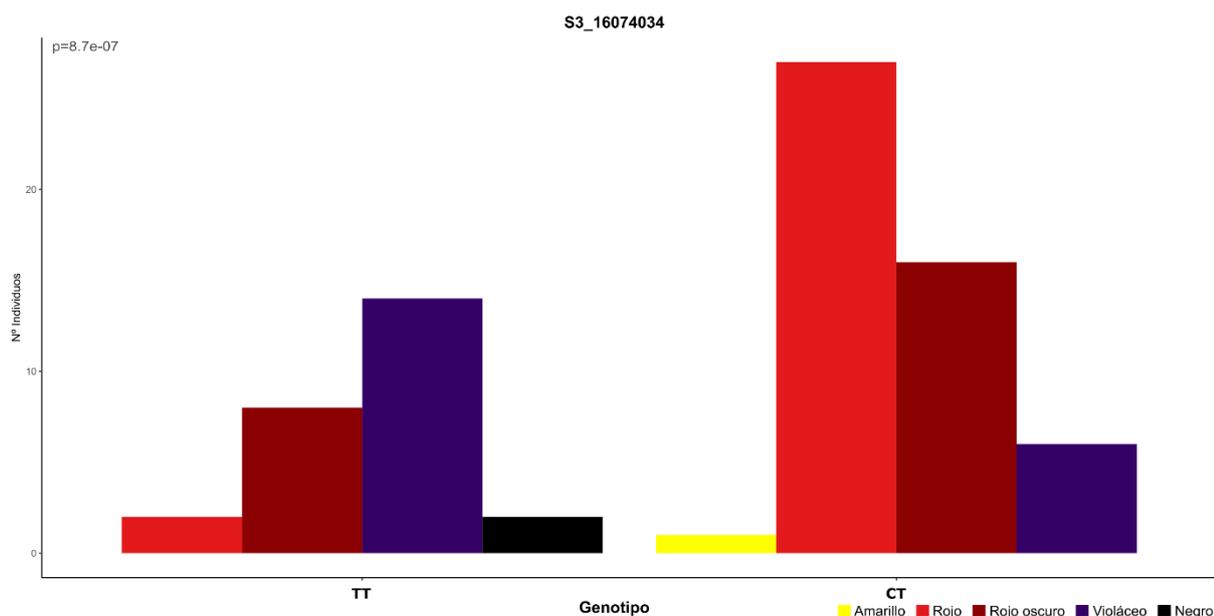


Figura 4.39. Efecto alélico del SNP 'S3_16074034' de 'Red Beaut' en el color visual de la piel del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S3_16074034'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en el parental masculino 'BS' se han identificado 24 QTLs estables durante los tres años de fenotipado a lo largo de los grupos de ligamiento 2, 3.2, 3.3, 5, 6 y 7 (Figura 4.19, Tabla S5), siendo los grupos de ligamiento 2, 3.3 y 5 los más destacables por albergar en ellos la mayoría de los QTLs más significativos relacionados con el color de la piel.

En el GL2 se han identificado cuatro QTLs correspondientes a los caracteres evaluados del color de la piel del fruto, a lo largo de la mayor parte de todo el grupo de ligamiento, presentando sus niveles más altos de significancia entre las posiciones 29,25 y 50,05 cM. Los QTLs asociados al color de piel visual y al ángulo Hue son los más significativos, presentando un nivel de significancia máximo de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K máximo de 15,74 y 18,12, respectivamente (Figura 4.19, Tabla S5).

En el GL3.3 se han identificado seis QTLs correspondientes también a los cuatro parámetros evaluados, distribuidos en dos regiones distintas. La primera se encuentra en los 8,90 cM iniciales, donde se localiza un QTL de cada carácter evaluado, junto con otros asociados al color de pulpa, firmeza y cantidad de lenticelas en la piel. La segunda región se encuentra entre las posiciones 15,24 y 42,53 cM, donde se localizan dos QTLs: uno vinculado al ángulo Hue y otro al parámetro C de color de piel (Figura 4.19, Tabla S5).

En el GL5 se han identificado tres QTL asociados al color visual de piel, ángulo Hue y parámetro C de color de piel, en una región que va desde los 74,34 cM hasta 103,94 cM, siendo el QTL asociado al ángulo Hue el más significativo, con un nivel de significancia de $p < 0,005$ y un valor estadístico de K máximo de 12,94 (Figura 4.19, Tabla S5).

Cabe destacar que los SNPs de los QTLs identificados en este parental han mostrado un efecto alélico distinto en función del grupo de ligamiento en el que se localizan. Los SNPs más significativos de los QTLs identificados en los grupos de ligamiento 2, 5, 6 y 7 presentan un efecto alélico similar entre sí, donde el color de la piel del fruto de los individuos heterocigóticos que exhiben el SNP, tiende a colores rojizos más claros frente a los homocigóticos que muestran una coloración roja más oscura, incluso violácea y negra. Sin embargo, los SNPs más significativos de los QTLs presentes en los grupos de ligamiento 3.2 y 3.3 muestran el efecto contrario, donde los individuos heterocigóticos tienden a presentar una coloración de piel más oscura (Tabla 4.17).

Este hecho se puede observar en la Figura 4.40, donde se representa el efecto alélico de los SNPs más significativos del GL2 ('S2_12337790') y GL3 ('S3_22540873') que muestran un efecto distinto. La distribución del color de piel difiere significativamente entre genotipos, según indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis en los tres años de estudio para ambos SNPs.

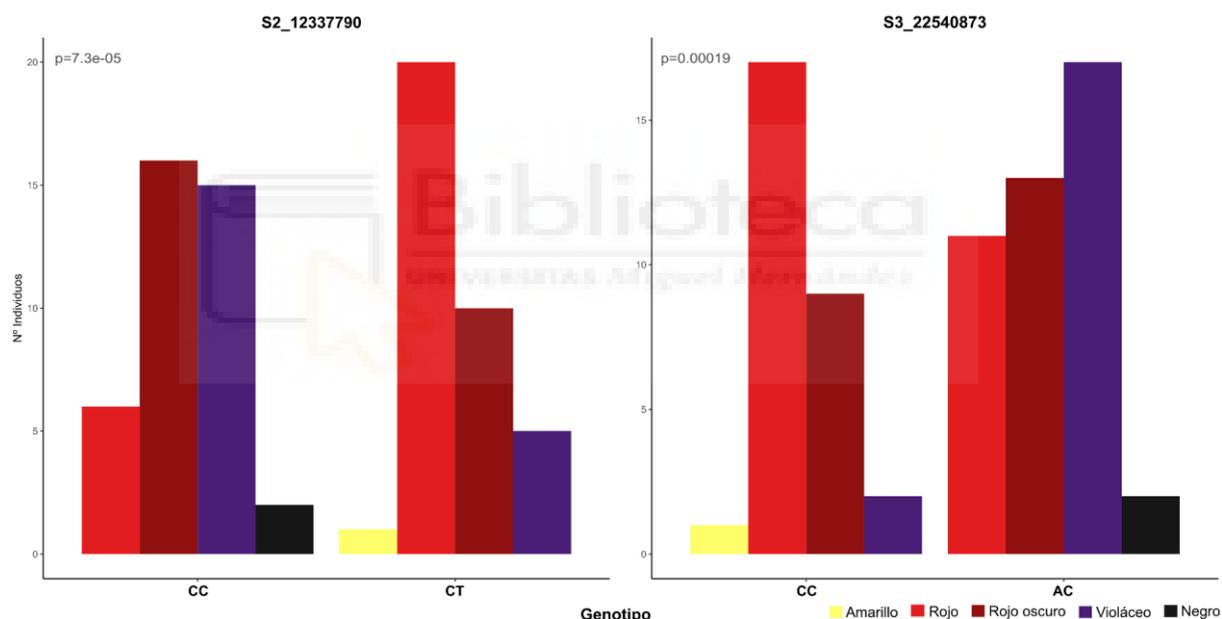


Figura 4.40. Efecto alélico de los SNPs 'S2_12337790' (izquierda) y 'S3_22540873' (derecha) de 'Black Splendor' en el color de la piel. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de la piel del fruto diferenciando entre los genotipos "CC" y "CT" del SNP 'S2_12337790', y "CC" y "AC" del SNP 'S3_22540873'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

En concreto, para el marcador 'S2_12337790', el 56% de los heterocigóticos "CT" muestran un color de piel rojo claro, en comparación con el 15% de los homocigóticos "CC". Además, los individuos con genotipo "CC" presentan, en su mayoría, tonalidades de color más oscuras como rojo oscuro (41%), violáceo (38%) e incluso negro (5%), lo que indica que la presencia del alelo "T" podría estar vinculada a tonalidades de color rojo más claras (Figura 4.40).

Por el contrario, en el marcador 'S3_22540873', la presencia del alelo "A" podría estar asociada a colores de piel más oscuros. En los individuos con genotipo heterocigótico "AC" se observa un aumento del número de individuos con un color de piel rojo oscuro, violáceo e incluso negro, y a su vez una disminución en la cantidad de individuos con colores de piel rojo y amarillo en comparación con los individuos con genotipo "CC", de los cuales el 59% muestran un color de piel rojo claro, frente al 26% de los individuos con genotipo "AC" (Figura 4.40).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

La población 'RB×SRP' ha sido la que ha presentado el menor número de QTLs estables durante los tres años de fenotipado en relación con el color de la piel, en comparación con el resto de las poblaciones evaluadas. Esto puede deberse a que es la familia menos segregante en cuanto a este carácter, ya que los dos parentales presentan un color de piel similar. En esta población, únicamente el parental '**RB**' ha mostrado QTLs, presentando un total de seis QTLs en los grupos de ligamiento 1 y 3 (Figura 4.20, Tabla S6).

En el GL1 se han identificado tres QTLs al inicio del grupo de ligamiento, presentando su nivel más alto de significancia en los primeros 6,70 cM. El QTL asociado con la tonalidad de color, representado por el ángulo Hue, es el que presenta el mayor nivel de significancia, con un valor de $p < 0,0005$ y un valor estadístico de K máximo de 16,90 en 2021 (Figura 4.20, Tabla S6).

Por otro lado, en el GL3, se han identificado tres QTLs altamente significativos a lo largo de prácticamente todo el grupo de ligamiento, coincidiendo con otras regiones asociadas al color de fondo y forma del fruto. Al igual que en el GL1, el QTL asociado al ángulo Hue es el más significativo, con un $p < 0,001$ y un valor estadístico de K máximo de 19,82 en 2021 (Figura 4.20, Tabla S6).

Los SNPs más significativos de los QTLs detectados en los GL1 y GL3 presentan un efecto alélico distinto en función del grupo de ligamiento en el que se encuentran (Tabla 4.18). Como se observa en las Figura 4.41 y Figura 4.42, que representan el efecto alélico de los SNPs más significativos de los QTLs más relevantes, existen diferencias significativas en la distribución del fenotipo de color de piel, tanto en el ángulo de Hue de color de piel (Figura 4.41) como en el color visual (Figura 4.42) en función del genotipo para ambos SNPs, tal y como indica el valor p obtenido mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

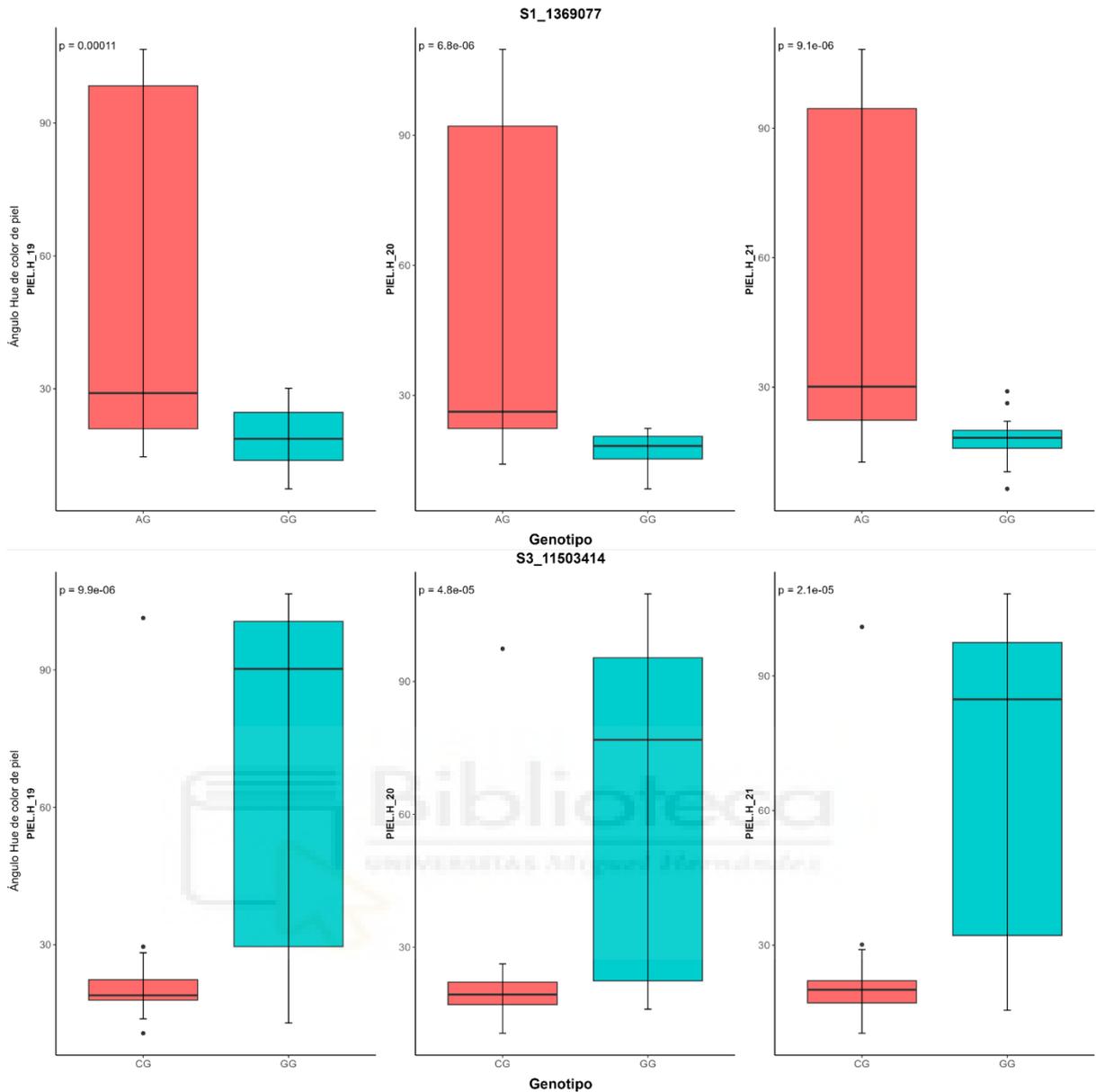


Figura 4.41. Efecto alélico de los SNPs 'S1_1369077' (arriba) y 'S3_11503414' (abajo) de 'Red Beaut' en el color de la piel del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución para ángulo Hue de color de piel del fruto (PIEL.H), diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S1_1369077', y "GG" y "CG" del SNP 'S3_11503414'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

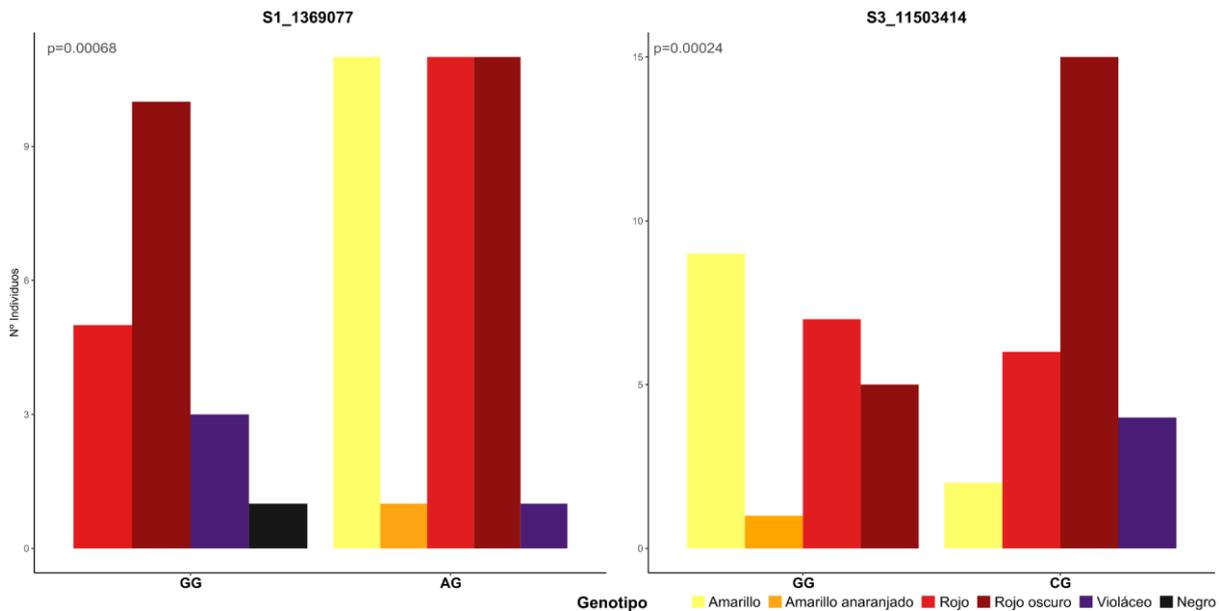


Figura 4.42. Efecto alélico de los SNPs 'S1_1369077' (izquierda) y 'S3_11503414' (derecha) de 'Red Beaut' en el color de piel. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de piel del fruto visual diferenciando entre los genotipos "GG" y "AG" del SNP 'S1_1369077', y "GG" y "CG" del SNP 'S3_11503414'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Concretamente, para el marcador 'S1_1369077', todos los individuos homocigóticos "GG" presentan un ángulo Hue de color igual o inferior a 30 (Figura 4.41), lo que corresponde a una coloración de piel que varía entre rojo y negro, presentando en su mayoría un color de piel rojo oscuro (Figura 4.42). En cambio, en los individuos heterocigóticos "AG" el color de piel abarca una gama más amplia. Aunque la mayoría de estos individuos presentan colores de piel dentro del rango rojo (valores de $^{\circ}H$ inferiores a 30) (Figura 4.41), con un 31% mostrando piel roja y otro 31% piel rojo oscuro, también aparecen genotipos con coloración amarillo anaranjada y un alto porcentaje, concretamente un 31%, con piel amarilla, categorías que no aparecen cuando los individuos son homocigóticos "GG" (Figura 4.42), lo que sugiere que la presencia del alelo "A" podría estar vinculada a una coloración más clara de la piel, incluyendo tonos amarillos.

Por otro lado, en cuanto al marcador más significativo de los QTLs obtenidos en el GL3, 'S3_11503414', los individuos heterocigóticos "CG", muestran en su mayoría una coloración roja oscura, correspondiente a valores de $^{\circ}H$ inferiores a 30 (Figura 4.41). Concretamente, el 56% presenta una coloración de piel rojo oscuro, y algunos individuos muestran incluso una coloración violácea de acuerdo al carácter 'color visual de piel' (Figura 4.42), mientras que la mayoría de los individuos homocigóticos "GG" presentan un color amarillo, correspondiente a valores de $^{\circ}H$ superiores a 60 (Figura 4.41, Figura 4.42), lo que sugiere que la presencia del alelo "C" en el genotipo podría estar asociada a un color de piel rojo oscuro.

Al comparar los QTLs identificados para el color de la piel del fruto en las tres poblaciones estudiadas, observamos que se han detectado QTLs estables y significativos en todos los grupos de ligamiento, lo que subraya la naturaleza poligénica de este carácter. Sin embargo, destaca especialmente el grupo de ligamiento 3, donde se han identificado las regiones más significativas en la mayoría de los parentales de las tres poblaciones objeto de estudio.

Estudios previos han identificado QTLs relacionados con el color de piel en diversos grupos de ligamiento: en melocotonero en los grupos 2, 3, 4, 5, 6 y 7 (Quarta *et al.*, 1998; Verde *et al.*, 2002; Quilot *et al.*, 2004; Donoso *et al.*, 2009; Eduardo *et al.*, 2011); en albaricoquero en el GL1, 3 y 7 (Ruiz *et al.*, 2010b; Socquet-Juglard *et al.*, 2013; García-Gómez *et al.*, 2019); en cerezo en el 3, 4 y 6 (Sooriyapathirana *et al.*, 2010; Calle *et al.*, 2021); y en ciruelo japonés en el GL3 y 4 (Salazar *et al.*, 2017; Valderrama-Soto *et al.*, 2021). Sin embargo, el GL3 parece tener un efecto mayor que el resto, ya que numerosos estudios han identificado QTLs mayores en este grupo de ligamiento en distintas especies de *Prunus* (Quilot *et al.*, 2004; Sooriyapathirana *et al.*, 2010; Socquet-Juglard *et al.*, 2013; Frett *et al.*, 2014; Salazar *et al.*, 2017; García-Gómez *et al.*, 2019; García-Gómez *et al.*, 2020; Calle *et al.*, 2021). Esto concuerda con los resultados obtenidos en las poblaciones estudiadas, sugiriendo que los QTLs detectados en otros grupos de ligamiento pueden estar asociados con pequeñas variaciones de color por epistasis al QTL principal del GL3, corroborando así modelos genéticos previos que afirman que el color está determinado por un gen principal, dominante para el color oscuro, probablemente con genes menores que muestran efectos epistáticos (Fogle, 1958; Schmidt, 1998).

Recientemente, Calle *et al.* (2021) localizaron un QTL importante en cerezo para el color de piel en el GL3, entre 9 y 14 Mpb del genoma de referencia, con un porcentaje máximo de varianza fenotípica explicada (PEV) de 34,9%. En ciruelo japonés, Salazar *et al.* (2017) identificaron un QTL asociado al color de la piel en una población mayoritariamente de piel roja o morada, asignando los rasgos de color de piel rojo/purpúreo a los grupos de ligamiento 3 y 4, siendo localizado entre 10 y 15 Mpb del genoma de referencia del GL3, con un PEV máximo del 85%, un nivel de significancia máximo de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K máximo de 25,81.

Estos resultados se asemejan a los obtenidos en los QTLs del GL3 identificados en las tres poblaciones de este estudio, presentando un nivel de significancia máximo de $p < 0,0001$ y valores estadísticos de K máximos de entre 18,19 ('BS' población 'RB×BS') y 24,27 ('BS' población 'BS×PIO') según el parental de la población. Además, las regiones identificadas colocalizan con la región *MYB10*, asociada con la variabilidad del color de los frutos en las especies de *Prunus*, ya que regula la biosíntesis de antocianinas mediante factores de transcripción MYB que se correlacionan con el color rojo de la piel del fruto (Fiol *et al.*, 2021).

4.4.5.2.9. Color de pulpa

Los caracteres evaluados en este trabajo que están relacionados con el color de la pulpa también muestran una fuerte correlación entre ellos, similar a lo observado con el color de la piel del fruto, como se menciona en el Apartado 3.4.1 del Capítulo 3 de la presente tesis doctoral. Esto explica que la mayoría de los QTLs identificados, tanto los relacionados con el color visual de pulpa como los QTLs asociados a los parámetros cromáticos que evalúan la luminosidad (parámetro L), la intensidad (parámetro C) y la tonalidad de color (Ángulo Hue, °H), se localicen en regiones similares del genoma en las tres poblaciones estudiadas, como muestran los resultados detallados a continuación. Por lo tanto, para simplificar y mejorar la comprensión de los resultados, nos centraremos en los resultados obtenidos para el ángulo de la tonalidad de color (°H) y la evaluación visual del color de la pulpa del fruto.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado un total de 23 QTLs vinculados al color de la pulpa, de los cuales 16 muestran estabilidad durante los tres años de fenotipado (Tabla S4). En el parental femenino 'BS', se han identificado 11 QTLs estables, localizados en los grupos de ligamiento 3.1, 3.2 y 5 (Figura 4.18, Tabla S4). En el GL3.1 se han detectado tres QTLs estables, asociados al color de pulpa visual, ángulo Hue y luminosidad (parámetro L). Estos QTLs presentan su nivel de significancia más elevado entre las posiciones 18,50 y 24,60 cM, siendo los QTLs asociados al color visual y tonalidad de color los más significativos, con niveles de significancia de $p < 0,001$ y $p < 0,0005$ respectivamente (Figura 4.18, Tabla S4).

El GL3.2 ha sido el más destacable en este parental, al igual que para el color de piel, ya que en él se localizan con un mayor nivel de significancia los QTLs asociados a los cuatro caracteres evaluados para el color de pulpa, así como para el color de piel y otros QTLs asociados a caracteres físicos como la cantidad de lenticelas en la piel y la forma del fruto (Figura 4.18, Tabla S4). Los QTLs más significativos son los asociados al color de pulpa visual y ángulo Hue, con niveles de significancia de $p < 0,0001$ y valores estadísticos de K máximo de 35,38 y 36,61 respectivamente (Figura 4.18, Tabla S4).

Por otro lado, en el GL5 se han localizado dos regiones asociadas al color de pulpa: una al inicio del grupo de ligamiento, entre las posiciones 4,31 y 14,34 cM, y otra al final, entre las posiciones 112,26 y 137,75 cM. La región inicial es la que muestra mayor significancia, presentando los QTLs de los caracteres de color de pulpa visual y ángulo Hue un nivel de significancia de $p < 0,001$ y $p < 0,005$, respectivamente (Figura 4.18, Tabla S4).

En función del grupo de ligamiento en el que se han detectado los QTLs, sus SNPs más significativos presentan efectos alélicos distintos. Los SNPs de los QTLs obtenidos en los grupos de ligamiento 3.1 y 5 muestran un efecto alélico similar entre sí, donde los individuos heterocigóticos presentan una gama más amplia de color de pulpa, aumentando significativamente la probabilidad de tener pulpa roja en comparación con los individuos

homocigóticos, los cuales mayoritariamente tienen una pulpa de color amarillo. En contraste, los SNPs más significativos de QTLs detectados en el GL3.2 presentan un efecto alélico opuesto (Tabla 4.16).

En las Figuras 4.43 y 4.44 se ilustra el efecto alélico de los SNP 'S3_10518042' y 'S3_15526069', siendo los más significativos entre los QTLs identificados y que presentan efectos alélicos distintos, identificados en los grupos de ligamiento 3.1 y 3.2, respectivamente.

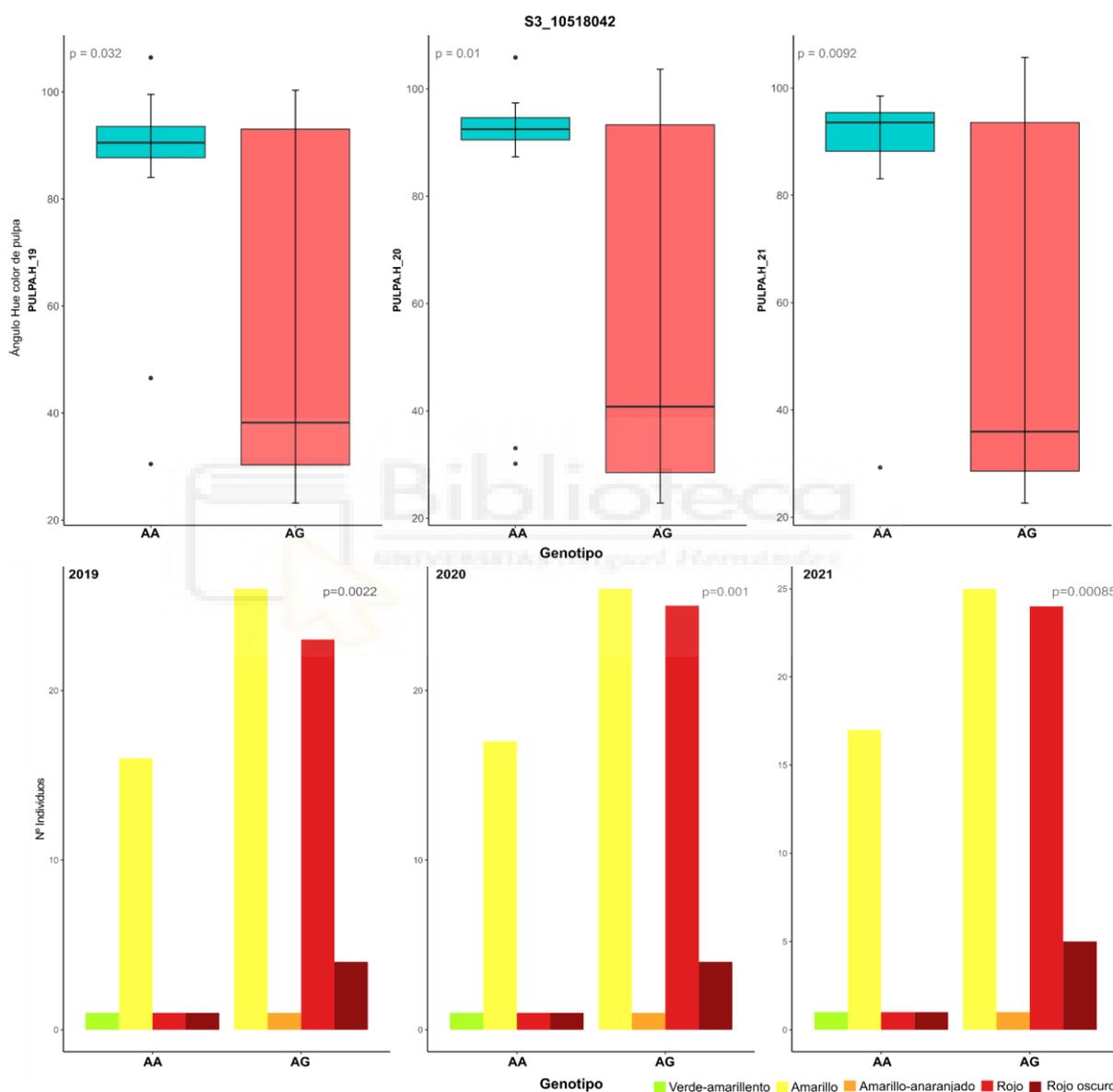


Figura 4.43. Efecto alélico del SNP 'S3_10518042' de 'Black Splendor' para el color de pulpa del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución ángulo Hue de color de pulpa del fruto (PULPA.H) (arriba) y los diagramas de barras representan la distribución de los individuos para el color de pulpa visual (abajo), diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_10518042'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

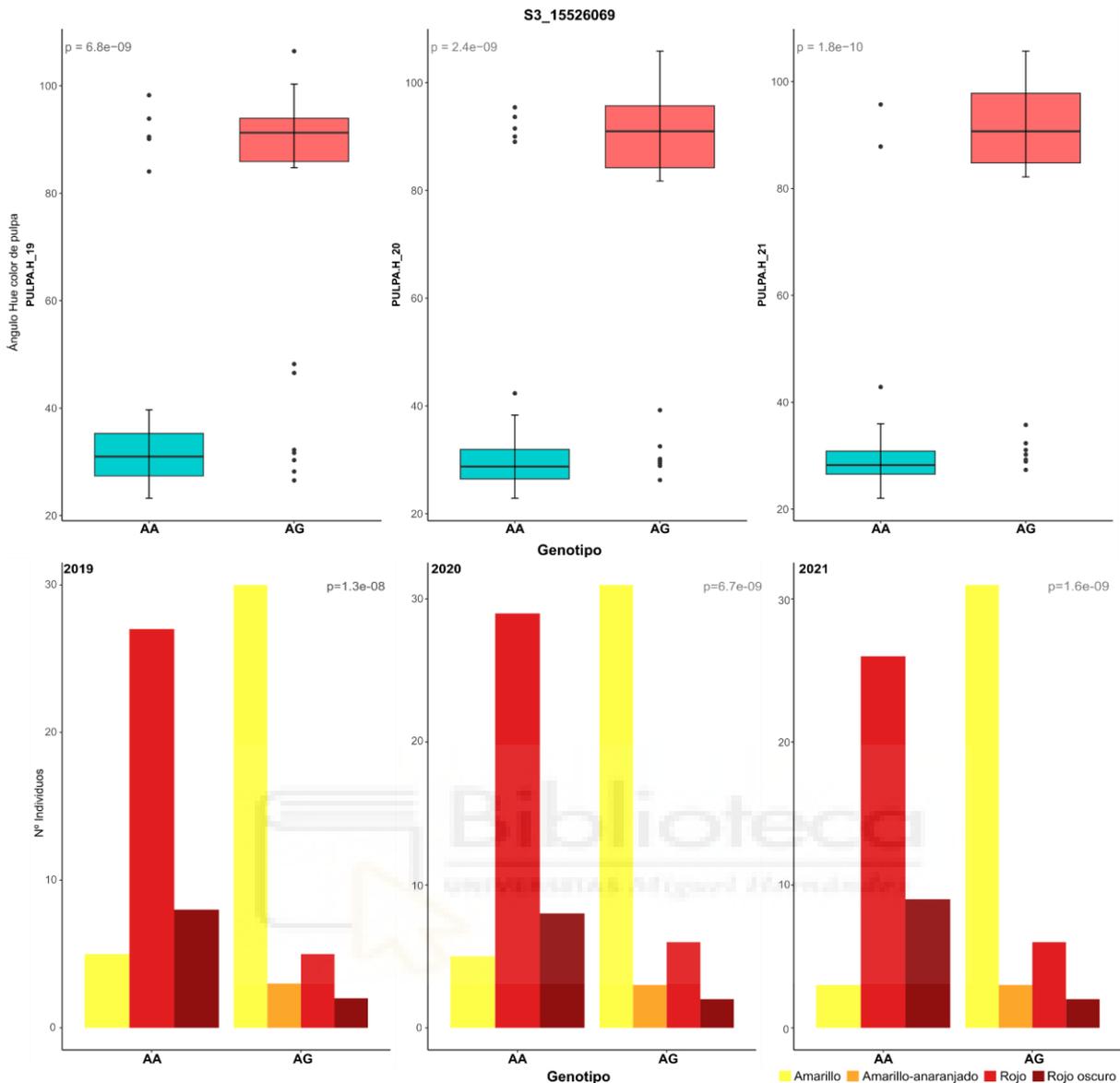


Figura 4.44. Efecto alélico del SNP 'S3_15526069' de 'Black Splendor' para el color de pulpa del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución ángulo Hue de color de pulpa del fruto (PULPA.H) (arriba) y los diagramas de barras representan la distribución de los individuos para el color de pulpa visual (abajo), diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_15526069'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución de ambos caracteres entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Para el SNP 'S3_10518042' la presencia del alelo "G" en el genotipo de los individuos parece estar asociada a un fenotipo de pulpa roja, puesto que aumenta significativamente el número de individuos con pulpa roja, correspondiente a valores de °H más bajos. En contraste, los individuos con genotipo "AA" presentan en su mayoría un color de pulpa amarillenta, a excepción de dos individuos que muestran colores rojizos de pulpa (Figura 4.43).

Mientras que la presencia del alelo "G" en el genotipo de los individuos del SNP 'S3_15526069' provoca que la mayoría presenten un fenotipo de pulpa de color amarillo, excepto para algunos individuos que muestran un color de pulpa anaranjado, correspondiente a unos valores de ángulo Hue entre 40 y 60, y un color rojo, correspondiente a valores inferiores

de 30 aproximadamente, mientras que la mayoría de los individuos con genotipo "AA" muestran un color de pulpa rojo (Figura 4.44).

Por otro lado, en el parental masculino 'PIO', se han identificado un total de 12 QTLs, de los cuales solo cinco, asociados al color de pulpa visual y ángulo Hue, presentan estabilidad durante los tres años de estudio en los grupos de ligamiento 4 y 5 (Figura 4.18, Tabla S4).

Al inicio del GL4 se ha identificado un QTL asociado al color visual de pulpa en los primeros 0,96 cM, con un nivel de significancia de $p < 0,01$, coincidiendo con otro QTL asociado a la adhesión del hueso a la pulpa. Por otro lado, en el GL5 se han identificado dos regiones muy próximas entre sí, asociadas tanto al color de pulpa visual como al ángulo Hue, identificándose dos QTLs por carácter, siendo los más significativos los que presentan su máximo nivel de significancia ($p < 0,001$) entre las posiciones 31,82 y 34,47 cM (Figura 4.18, Tabla S4).

En cuanto al efecto alélico, cabe destacar que los SNPs más significativos del QTL asociado al color de pulpa visual identificado en el GL4 no presentan un efecto alélico durante los tres años de fenotipado. Los SNPs más significativos de los QTLs detectados en el GL5 sí presentan un efecto alélico los tres años de estudio, mostrando diferencias significativas en el fenotipo del color de pulpa en función del genotipo que exhiben. La presencia del SNP en el genotipo está asociado a una mayor probabilidad de individuos con pulpa roja, mientras que los individuos que no presentan el SNP muestran un fenotipo de pulpa amarilla (Tabla 4.16).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado un total de 21 QTLs asociados con el color de pulpa, de los cuales 12 han presentado estabilidad durante los tres años de estudio, todos ellos identificados en el parental masculino de la población 'BS', localizados en los tres segmentos del grupo de ligamiento 3 (GL3.1, GL3.2 y GL3.3) (Figura 4.19, Tabla S5).

Al inicio del GL3.1, entre las posiciones 1,05 y 6,00 cM, se han identificado tres QTLs altamente significativos asociados al color de pulpa, que colocalizan con otros QTLs vinculados al color de piel y de fondo, así como con todos los caracteres físicos del fruto relacionados con el tamaño. Los QTLs asociados al color visual de pulpa, ángulo Hue de color y luminosidad del fruto (parámetro L) son los más significativos, con un nivel de significancia de $p < 0,0001$ y valores estadísticos de K máximo de 23,08, 16,26 y 23,83, respectivamente (Figura 4.19, Tabla S5).

En el GL3.2, se han identificado seis QTLs estables relacionados con los caracteres evaluados asociados al color de pulpa, a lo largo de todo el grupo de ligamiento. Los vinculados al color de pulpa visual y ángulo Hue, localizados en los primeros 50 cM, presentan la mayor significancia ($p < 0,0001$) y valores estadísticos de K máximo de 33,13 y 29,61, respectivamente, en la posición 12.583.945 del genoma de referencia (Figura 4.19, Tabla S5).

Por último, al inicio del GL3.3, se han identificado dos QTLs asociados al color de pulpa visual y ángulo Hue, presentando su nivel de significancia máxima en los primeros 3,03 cM del grupo de ligamiento. Estos coinciden en posición con otros QTLs asociados al color de piel, firmeza, cantidad de lenticelas y adhesión del hueso a la pulpa, siendo el QTL vinculado al color de pulpa visual el más significativo, con un nivel de significancia máxima de $p < 0,0001$ y un valor estadístico de K de 29,61 (Figura 4.19, Tabla S5).

En cuanto al efecto alélico, cabe destacar que se han detectados dos efectos distintos en los SNPs más significativos de los QTLs identificados, en función del grupo de ligamiento en el que se encuentran, presentando diferencias significativas en la distribución del color de pulpa en función del genotipo que exhiben. Los SNPs más significativos de los QTLs localizados en los GL3.1 y GL3.3 muestran un efecto alélico similar, donde los individuos heterocigóticos tienen mayoritariamente un color de pulpa amarillo, mientras que los individuos que presentan el SNP de los QTLs identificados en el GL3.2 exhiben en su mayoría una pulpa roja (Tabla 4.17).

Este efecto alélico se puede observar gráficamente en la Figura 4.45, donde se representa el efecto alélico de los SNPs más significativos identificados en el GL3.1 ('S3_6363950') y en el GL3.2 ('S3_12583945'). Se observan diferencias significativas en el color visual de la pulpa según el genotipo que presentan, como indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis para ambos SNPs durante los tres años de estudio.

En el caso del marcador 'S3_6363950', el 69% de los individuos homocigóticos "AA" muestran un color de pulpa rojo, y solo el 32% presentan una pulpa de color amarillo. En cambio, el 75% de los individuos heterocigóticos "AG" muestran un fenotipo de pulpa amarilla, y únicamente un 12% presentan una pulpa roja, por lo que la presencia del alelo "G" en el genotipo, podría estar vinculada al color amarillo de pulpa (Figura 4.45).

Sin embargo, la presencia del alelo "T" del marcador 'S3_12583945' en el genotipo parece estar asociada a un color de pulpa rojo, puesto que el 77% de los individuos heterocigóticos "CT" tienen una pulpa roja, y solo el 26% un color amarillo de pulpa, frente a los individuos homocigóticos "CC", que en su mayoría, aproximadamente el 80%, tienen una pulpa amarilla, llegando a presentar en algunos casos una pulpa de color blanquecino verde o anaranjado, y únicamente un individuo presenta una pulpa de color roja (Figura 4.45).

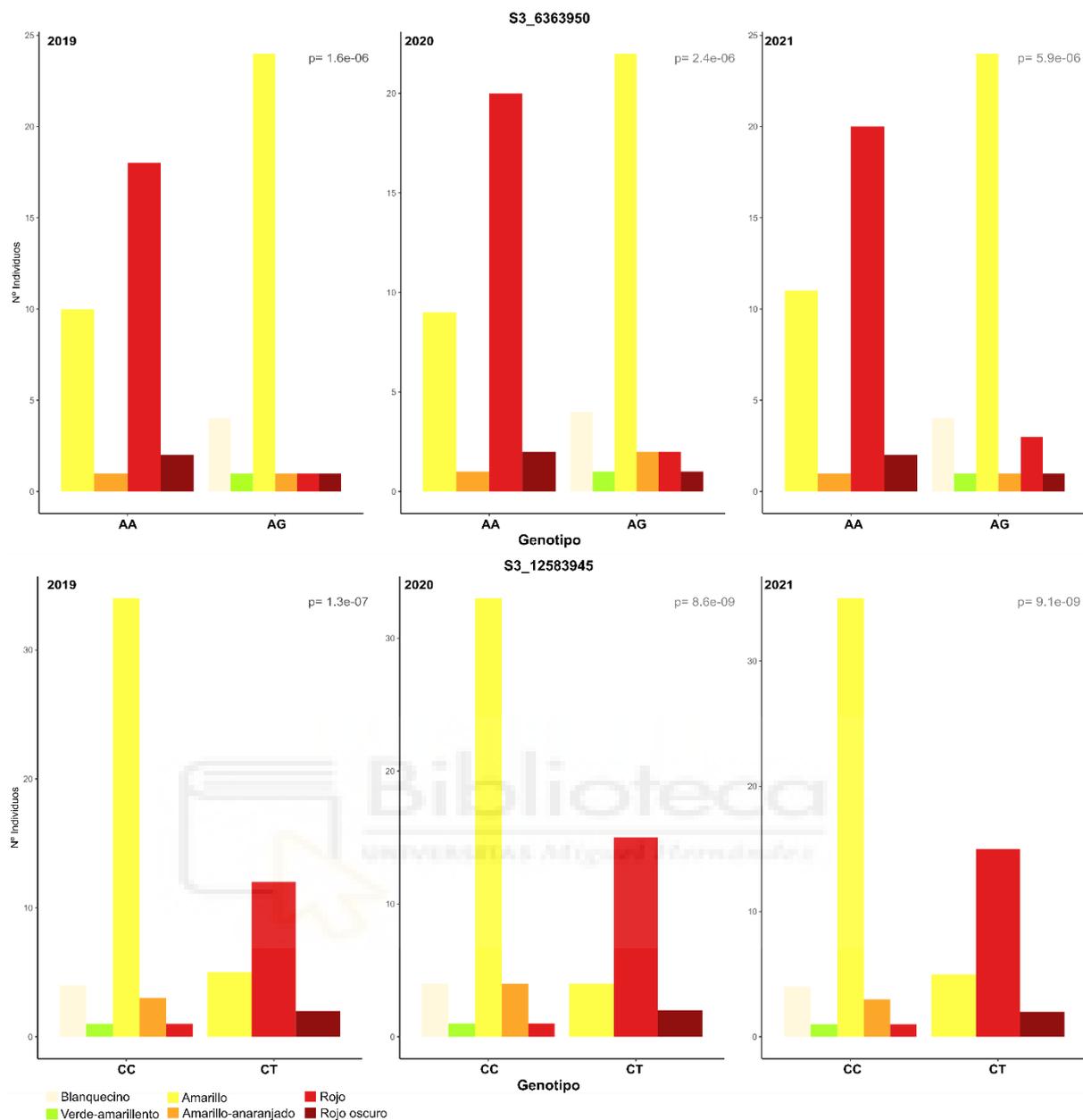


Figura 4.45. Efecto alélico de los SNPs 'S3_6363950' y 'S3_12583945' de 'Black Splendor' para el color de pulpa del fruto. Cada diagrama de barras representa la distribución de los individuos para el color de pulpa visual diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" del SNP 'S3_6363950', y "CC" y "CT" del SNP 'S3_12583945'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución del carácter entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

La población 'RB×SRP' ha sido la que ha presentado el menor número de QTLs estables asociados al color de pulpa en comparación con el resto de las poblaciones. Únicamente el parental masculino 'SRP' ha mostrado estos QTLs, identificándose un total de cinco QTLs en los grupos de ligamiento 3 y 5, asociados al color visual de pulpa, ángulo Hue y luminosidad (Figura 4.20, Tabla S6).

El GL3 es el que ha presentado la mayoría de QTLs identificados, mostrando cuatro QTLs asociados al color visual de pulpa y ángulo Hue en tres regiones del grupo de ligamiento. La zona localizada en los primeros 22,75 cM es la más significativa, siendo el QTL asociado al color visual de pulpa el que presenta el mayor nivel de significancia ($p < 0,0005$), con un valor estadístico de K de 13,80 durante los tres años de estudio (Figura 4.20, Tabla S6).

Los SNPs más significativos de todos los QTLs detectados, tanto en el GL3 como en el GL5, presentan un efecto similar, mostrando diferencias significativas en la distribución del color de pulpa en función del genotipo, donde los individuos homocigóticos tienen en su mayoría un color amarillo de pulpa, mientras que la cantidad de individuos heterocigóticos con un color de pulpa bicolor, como el parental 'Santa Rosa Precoz', es considerablemente mayor (Tabla 4.18).

Al comparar los QTLs identificados para el color de pulpa en las tres poblaciones, destacan los grupos de ligamiento 3 y 5, siendo el GL3 el más relevante, donde se han identificado las regiones más significativas asociadas con el color de pulpa. Es importante resaltar que la mayoría de los QTLs identificados asociados al color de pulpa se colocan en regiones que también se asocian con el color de la piel. Estos resultados concuerdan con estudios previos que señalan al GL3 como el grupo con mayor influencia sobre el color de piel y pulpa en diversas especies del género *Prunus*. Los genes candidatos implicados en la coloración de la piel y la pulpa, como *PprMYB10* en melocotonero, *MdMYB1/MdMYBA/MdMYB10* en manzano, *PavMYB10* en cerezo y *PsMYB10* en ciruelo japonés se encuentran dentro del GL3, lo que sugiere que dentro de la familia Rosaceae el control genético del desarrollo del color es similar (Frett *et al.*, 2014; Fiol *et al.*, 2021).

Estudios anteriores han identificado QTLs relacionados con el color de pulpa en diversos grupos de ligamiento: en melocotonero en el 1, 2, 3 y 4 (Yamamoto *et al.*, 2001; Quilot *et al.*, 2004; Illa *et al.*, 2011; Martínez-García *et al.*, 2013; Donoso *et al.*, 2016); en albaricoquero en el 1, 3 y 6 (Salazar *et al.*, 2013; García-Gómez *et al.*, 2019); en cerezo en el 3 y 8 (Sooriyapathirana *et al.*, 2010; Calle *et al.*, 2021); y en ciruelo japonés en el 3 y 5 (Valderrama-Soto *et al.*, 2021).

En ciruelo japonés, únicamente Valderrama-Soto *et al.* (2021) han identificado regiones asociadas al color de pulpa del fruto en los grupos de ligamiento 3 y 5, en el parental '98-99' de la población '98-99 × Angeleno', ambos con color de pulpa amarilla. La región localizada alrededor de la posición 27 Mpb del genoma de referencia del GL3 mostró un nivel de significancia bajo ($p < 0,05$) y un valor estadístico de K de 20,00, aunque el efecto alélico en el fenotipo no fue significativo durante los tres años del estudio. La población '98-99 × Angeleno' no es segregante para el color de pulpa, por lo que no son esperables resultados muy significativos en cuanto a la identificación de QTLs.

En el presente estudio, se observa que la mayoría de los QTLs identificados en las poblaciones muestran un nivel de significancia elevado, con un efecto alélico observado

durante los tres años de fenotipado, pudiendo asociar SNPs a colores de pulpa amarillo, rojo y bicolor según el grupo de ligamiento en el que se han encontrado. Además, los QTLs están localizados en regiones previamente descritas como relacionadas con el color del fruto, lo que consolida la significancia de estas regiones del genoma en la expresión del color de fruto, y contribuyen a un análisis detallado e incrementan el conocimiento sobre las bases genéticas del color de la pulpa en ciruelo japonés.

4.4.5.2.10. Firmeza

La firmeza es uno de los atributos de calidad del fruto de mayor importancia, además de determinar en gran medida la aptitud poscosecha. Cabe destacar la complejidad de este carácter, de naturaleza poligénica (Ruiz *et al.*, 2010b; Zeballos *et al.*, 2016; Salazar *et al.*, 2017, 2020; García-Gómez, *et al.*, 2019), y los pocos estudios que se han realizado con el fin de detectar regiones vinculadas a este carácter en ciruelo japonés (Salazar *et al.*, 2017, 2020).

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado un total de seis QTLs asociados a la firmeza del fruto, de los cuales cuatro son estables durante los tres años de estudio (Figura 4.18, Tabla S4).

En el parental femenino '**BS**', se han identificado tres regiones estables a lo largo del grupo de ligamiento 4: en los primeros 10 cM iniciales, entre las posiciones 54,92 y 60,35 cM, y al final del grupo, presentando su nivel de significancia más alto entre 114,07 y 124,64 cM. Estas regiones coinciden con otros QTLs asociados al diámetro del fruto, adhesión del hueso a la pulpa y color de piel (Figura 4.18, Tabla S4).

Los SNPs más significativos de estos QTLs muestran un efecto alélico similar, donde la firmeza del fruto difiere significativamente entre genotipos. La presencia de los alelos "C", "T" y "A" de los SNP 'S4_3450711', 'S4_3452356' y 'S4_5730378' respectivamente, parece estar asociada a un fenotipo con mayor firmeza del fruto, puesto que los individuos con genotipos "CT" y "AG" exhiben una firmeza significativamente mayor que los individuos con genotipos "TT", "CC" y "GG" para estos SNPs (Tabla 4.16).

Por otro lado, en el parental femenino '**PIO**', se ha identificado un QTL estable durante los tres años de estudio en el GL1.1, presentando su nivel más elevado de significancia ($p < 0,0005$) entre las posiciones 35,50 y 38,41 cM, con un valor estadístico de K de 13,51 en 2019. Este QTL coincide con otros asociados al peso, diámetro y color de piel del fruto (Figura 4.18, Tabla S4).

El marcador más significativo de dicho QTL, 'S1_39702792', presenta un efecto alélico distinto al descrito anteriormente en los QTLs obtenidos en 'BS' (Tabla 4.16). Como se muestra en la Figura 4.46, existen diferencias significativas en la distribución de la firmeza del fruto según el genotipo, como indica el valor p de la prueba de Kruskal-Wallis a lo largo de los tres

años de estudio. Los individuos heterocigóticos, genotipo "GT", muestran una menor firmeza del fruto en comparación con los individuos homocigóticos "TT", por lo que la presencia del alelo "G" en este marcador parece estar asociada a una menor firmeza del fruto.

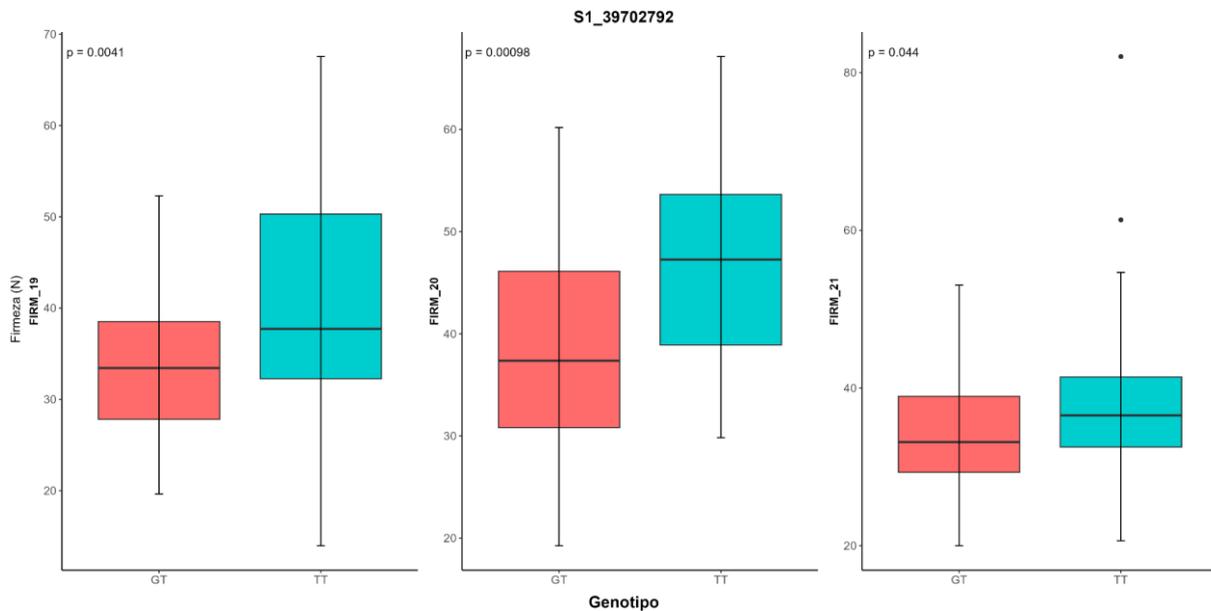


Figura 4.46. Efecto alélico del SNP 'S1_39702792' de 'Pioneer' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "TT" y "GT" del SNP 'S1_39702792'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado el mayor número de QTLs estables durante los tres años de fenotipado vinculados a la firmeza del fruto en comparación con el resto de las poblaciones, con un total de 10 QTLs identificados (Tabla S5).

En el parental femenino 'RB', se han identificado cuatro QTLs estables a lo largo de los grupos de ligamiento 1.3, 3 y 4.2, todos ellos con un nivel de significancia de $p < 0,005$ (Figura 4.19, Tabla S5).

El QTL identificado en el GL1.3, se encuentra al inicio del grupo, en los primeros 5,93 cM, junto con otros QTLs asociados al diámetro polar y forma del fruto. En el GL3, se han identificado dos regiones asociadas a la firmeza, con los niveles más altos de significancia entre las posiciones 36,27 y 40,91 cM, y 57,53 y 57,54 cM respectivamente. Estas regiones coinciden con QTLs asociados a la adhesión del hueso a la pulpa, la cantidad de lenticelas en la piel, color de fondo, piel y pulpa. El último QTL identificado se encuentra en el inicio del GL4.2, extendiéndose hasta la posición 17,50 cM, con su pico máximo de significancia entre las posiciones 3,54 y 9,79 cM, coincidiendo con dos QTLs asociados con el color de fondo y de piel visual (Figura 4.19, Tabla S5).

Los SNPs más significativos de los QTLs detectados en los grupos de ligamiento 3 y 4.2 muestran un efecto alélico similar. Los individuos heterocigóticos exhiben una firmeza del fruto menor que los individuos homocigóticos. En contraste, los SNPs más significativos del QTL obtenido en el GL1.3 muestran un efecto alélico distinto, donde los individuos heterocigóticos exhiben una firmeza mayor en comparación con los homocigóticos (Tabla 4.17).

En la Figura 4.47 se representa el efecto alélico de los SNPs 'S1_38474582' y 'S4_25017134' por ser los más significativos de los QTLs que presentan un efecto alélico contrario, con un nivel de significancia de $p < 0,005$ y un valor de K máximo de 10,17 y 10,79 respectivamente (Tabla S5). En ella se observan diferencias significativas en la mediana de la firmeza entre genotipos, según indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis en los tres años de estudio para ambos SNPs.

En concreto, la presencia del alelo "A" para el marcador 'S1_38474582' parece estar asociada con un fenotipo de mayor firmeza del fruto, ya que los individuos heterocigóticos "AC" muestran una firmeza superior en comparación con los homocigóticos "CC". Contrariamente, para el marcador 'S4_25017134' la presencia del alelo "A" en los individuos heterocigóticos "AG" parece estar asociada a una menor firmeza del fruto, con respecto a los genotipos homocigóticos "GG" (Figura 4.47).



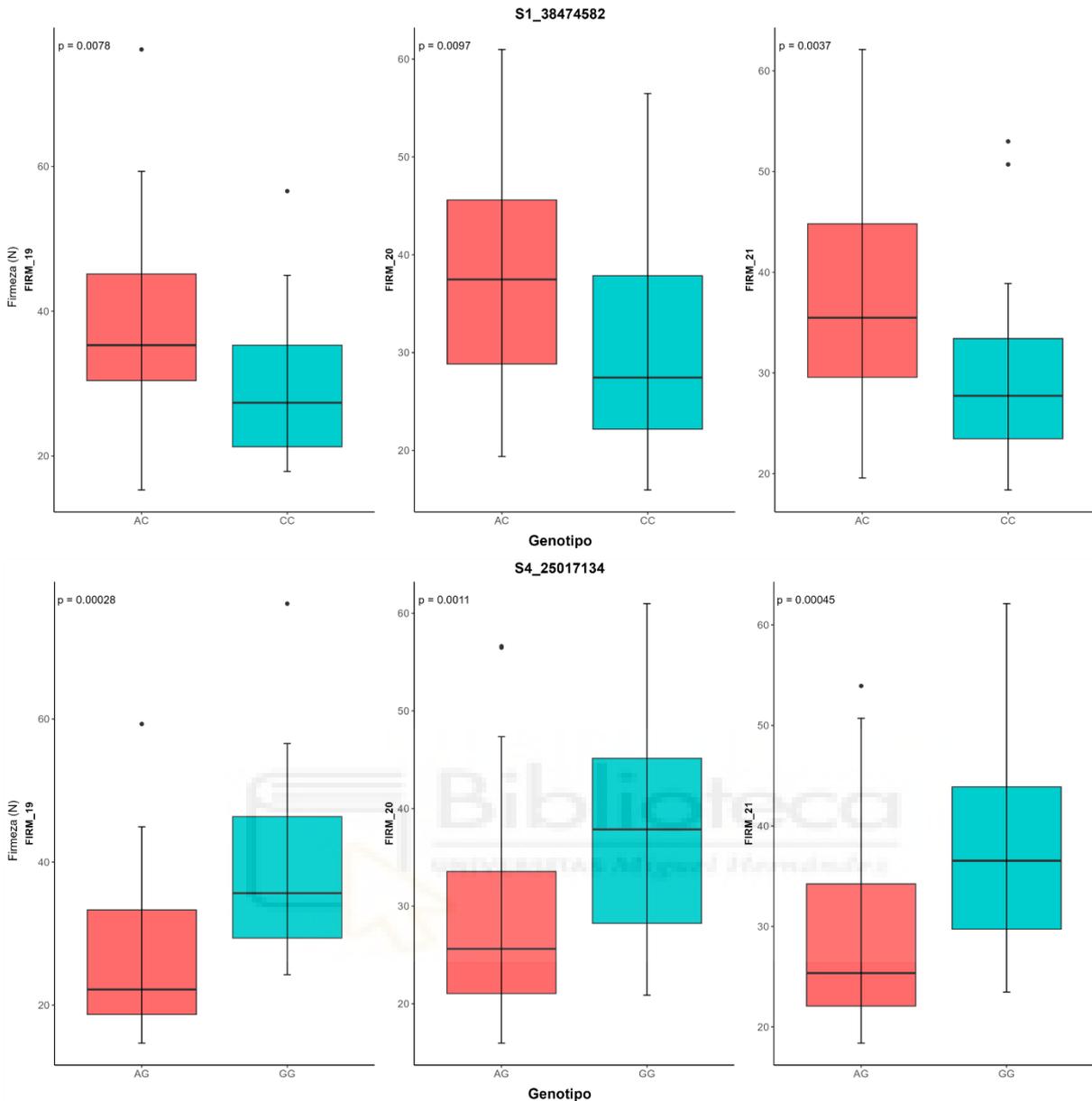


Figura 4.47. Efecto alélico de los SNPs 'S1_38474582' (arriba) y 'S4_25017134' (abajo) de 'Red Beaut' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "CC" y "AC" del SNP 'S1_38474582' y "GG" y "AG" del SNP 'S4_25017134'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio.

En el parental masculino 'BS', se han identificado seis QTLs estables durante los tres años de estudio vinculados a la firmeza del fruto, distribuidos a lo largo de los grupos de ligamiento 1.2, 3.3 y 5 (Figura 4.19, Tabla S5). En el GL1.2 se han detectado dos regiones asociadas al carácter, ubicadas al inicio y en la mitad del grupo de ligamiento, ambas con un nivel de significancia máximo de $p < 0,005$. En el GL3.3 se han identificado tres regiones a lo largo de todo el grupo de ligamiento, con niveles de significancia que varían entre $p < 0,01$ y $p < 0,005$ dependiendo del año. Estas regiones coinciden con regiones asociadas a la adhesión del hueso a la pulpa, la cantidad de lenticelas en la piel, así como al color de piel y la pulpa,

similar a los QTLs detectados en el GL3 de 'RB'. Finalmente, en el GL5 se ha identificado el QTL más significativo de toda la población, presentando su nivel más alto de significancia durante los tres años ($p < 0,0001$) entre las posiciones 74,34 y 92,63 cM, alcanzando un valor estadístico de K máximo de 21,78 en 2021 (Tabla S5). Esta región coincide con regiones asociadas a otros caracteres físicos, como la forma del fruto, la cantidad de lenticelas en la piel, y el color de fondo, piel y pulpa (Figura 4.19, Tabla S5).

En cuanto al efecto alélico de los SNPs en estos QTLs, se observa una diferencia entre los localizados en los grupos de ligamiento 1.2 y 5, y los del grupo de ligamiento 3.3. Los SNPs más significativos de los QTLs detectados en el GL1.2 y GL5 muestran un efecto alélico donde los individuos heterocigóticos presentan una firmeza significativamente inferior a los individuos homocigóticos. Sin embargo, los SNPs del GL3.3 muestran un efecto alélico donde los individuos heterocigóticos exhiben una firmeza significativamente superior al resto (Tabla 4.17).

Este hecho se puede observar gráficamente en la Figura 4.48, donde se representa el efecto alélico de los SNPs más significativos de los QTLs localizados en los GL3.3 ('S3_31551230') y GL5 ('S5_19427100'), observando diferencias significativas en el fenotipo en función del genotipo durante los tres años para ambos SNPs. La presencia del alelo "G" del marcador 'S3_31551230' en el genotipo parece estar asociada a una mayor firmeza del fruto, ya que los individuos heterocigóticos "AG" presentan una firmeza mayor del fruto en comparación con los individuos homocigóticos "AA". Sin embargo, la presencia de ese mismo alelo en el marcador 'S5_19427100' parece estar asociada a una menor firmeza del fruto, ya que los heterocigóticos "AG" presentan una firmeza significativamente menor que los homocigóticos "AA".

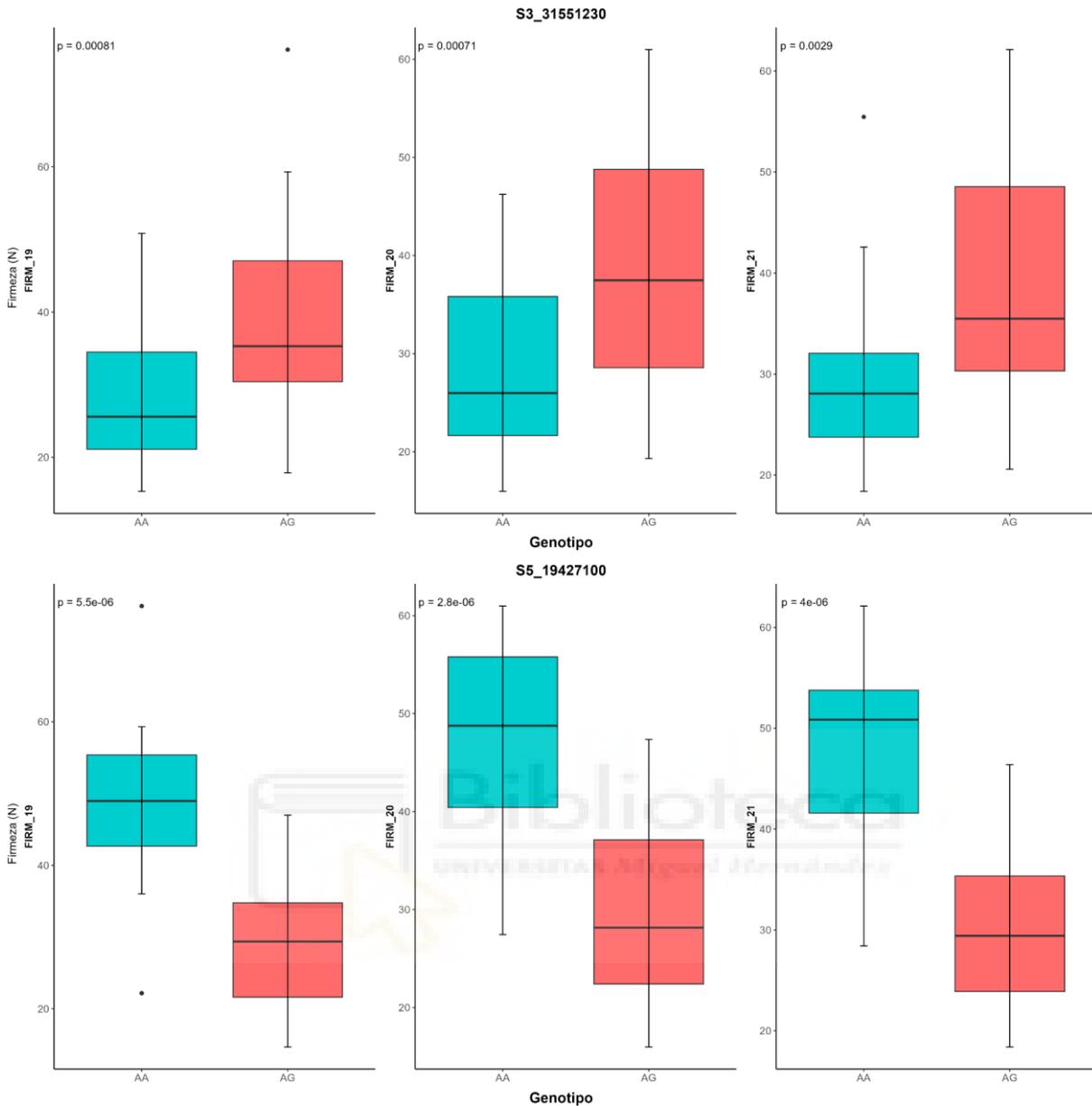


Figura 4.48. Efecto alélico de los SNPs 'S3_31551230' (arriba) y 'S5_19427100' (abajo) de 'Black Splendor' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG" de los SNPs "S3_31551230" y "S5_19427100". Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio.

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado QTLs únicamente en el parental femenino 'RB', detectándose dos QTLs en el GL2.1 y un QTL en el GL4 (Figura 4.20, Tabla S6).

En el GL2.1, se han identificado dos QTLs relacionados con la firmeza del fruto, presentando el QTL localizado entre las posiciones 14,86 y 16,60 cM un nivel de significancia de $p < 0,005$, excepto en el año 2021, en el que la significancia es menor ($p < 0,01$). El QTL ubicado entre las posiciones 34,15 y 40,16 cM presenta un nivel de significancia de $p < 0,01$ durante los tres años de fenotipado. Por otro lado, en el GL4 se ha identificado el QTL más significativo,

con un nivel de significancia de $p < 0,0005$ durante los tres años y un valor estadístico de K máximo de 14,66 en 2019, coincidiendo con otros QTLs asociados al tamaño, forma y adhesión del hueso a la pulpa (Figura 4.20, Tabla S6).

Los SNPs más significativos muestran un efecto alélico diferente según el grupo de ligamiento en el que se han detectado. Los SNPs ligados a los QTLs obtenidos en el GL2.1 exhiben un efecto donde los individuos que tienen el SNP en su genotipo presentan una firmeza del fruto menor en comparación con los individuos que no lo presentan. En contraste, los individuos heterocigóticos del QTL identificado en el GL4 muestran una firmeza del fruto mayor (Tabla 4.18).

Como podemos observar en la Figura 4.49, la firmeza del fruto difiere significativamente entre genotipos en función de si presentan el SNP del marcador 'S4_19494943' (GL4) o no, tal como indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis, donde la presencia del alelo "T" parece estar asociada a una mayor firmeza del fruto, puesto que la firmeza en los heterocigóticos "AT" es superior a la de los homocigóticos "AA".

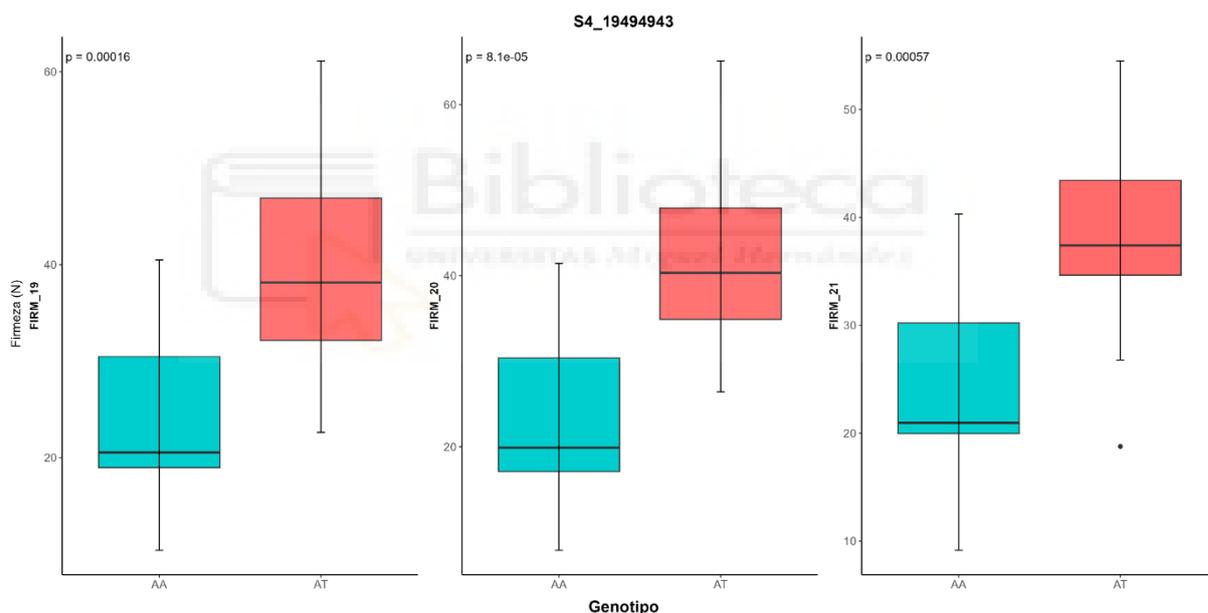


Figura 4.49. Efecto alélico del SNP 'S4_19494943' de 'Red Beaut' en la firmeza del fruto (FIRM). Cada diagrama de caja representa la distribución en Newtons (N) de la firmeza, diferenciando entre los genotipos "AA" y "AT" del SNP 'S4_19494943'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio.

La distribución de los QTLs relacionados con la firmeza del fruto se extiende a lo largo de distintos grupos de ligamiento en las poblaciones estudiadas, identificando así regiones asociadas a la firmeza del fruto en los grupos de ligamiento 1, 2, 3, 4 y 5, según la población. Si comparamos los QTLs identificados para este carácter en las tres poblaciones, destacan de forma general algunos grupos de ligamiento más que otros, como el GL1, GL4 y GL5. El GL1 ha sido el único que ha mostrado QTLs asociados a este carácter en el parental 'PIO' de la población 'BS×PIO' de forma estable, además de presentarlos en ambos parentales de la

población 'RB×BS'. Por otro lado, el GL4 destaca por ser el grupo de ligamiento en el que se han identificado los QTLs más significativos de los parentales 'BS' de la población 'BS×PIO', 'RB' de las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP'. Por último, el GL5 destaca por ser el grupo en el que se ha identificado el QTL más significativo de todos los detectados ($p < 0,0001$) en las tres poblaciones, identificado en el parental masculino 'BS' de la población 'RB×BS'.

Estudios previos han identificado QTLs relacionados con la firmeza del fruto en la mayoría de los grupos de ligamiento: en melocotonero en el 1, 4, 5, 7 y 8 (Quarta *et al.*, 1998; Ogundiwin *et al.*, 2009; Cantín *et al.*, 2010; Eduardo *et al.*, 2011; Zeballos *et al.*, 2016); en albaricoquero en el 1, 2, 3, 4, 5 y 6 (Ruiz *et al.*, 2010b; Salazar *et al.*, 2013; Socquet-Juglard *et al.*, 2013; García-Gómez *et al.*, 2019); en cerezo en el 4 y 6 (Cai *et al.*, 2019; Calle & Wünsch, 2020); y en ciruelo japonés en el 1, 3, 4, 6 y 8 (Salazar *et al.*, 2017, 2020). Sin embargo, el GL4 parece tener un efecto mayor que el resto, ya que varios estudios han reportado un QTL mayor en este grupo de ligamiento en distintas especies del género *Prunus* (Dettori *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2019; Calle & Wünsch, 2020). En ciruelo japonés, Salazar *et al.* (2017) identificaron QTLs relacionados con la firmeza del fruto en GL3, GL4, GL6 y GL8, siendo el identificado en el GL4 de ambos parentales el que presentaba el mayor nivel de significancia, siendo este de $p < 0,01$.

4.4.5.3. Caracteres organolépticos

Dada la abundancia de resultados obtenidos en relación con los caracteres organolépticos del fruto. A continuación, se presentan las figuras que ilustran los QTLs identificados que exhiben una estabilidad durante los tres años de evaluación en relación con los caracteres organolépticos del fruto, así como las tablas que describen los efectos alélicos de los SNPs de mayor significancia asociados a dichos QTLs para las tres poblaciones evaluadas: 'BS×PIO' (Figura 4.50 y Tabla 4.19), 'RB×BS' (Figura 4.51 y Tabla 4.20) y 'RB×SRP' (Figura 4.52 y Tabla 4.21).

En el Anexo, se incorporan las tablas descriptivas que abarcan todos los QTLs identificados en las poblaciones 'BS×PIO' (Tabla S7), 'RB×BS' (Tabla S8) y 'RB×SRP' (Tabla S9), proporcionando información detallada acerca de la posición genética, el nivel de significancia de cada QTL, así como otros parámetros.

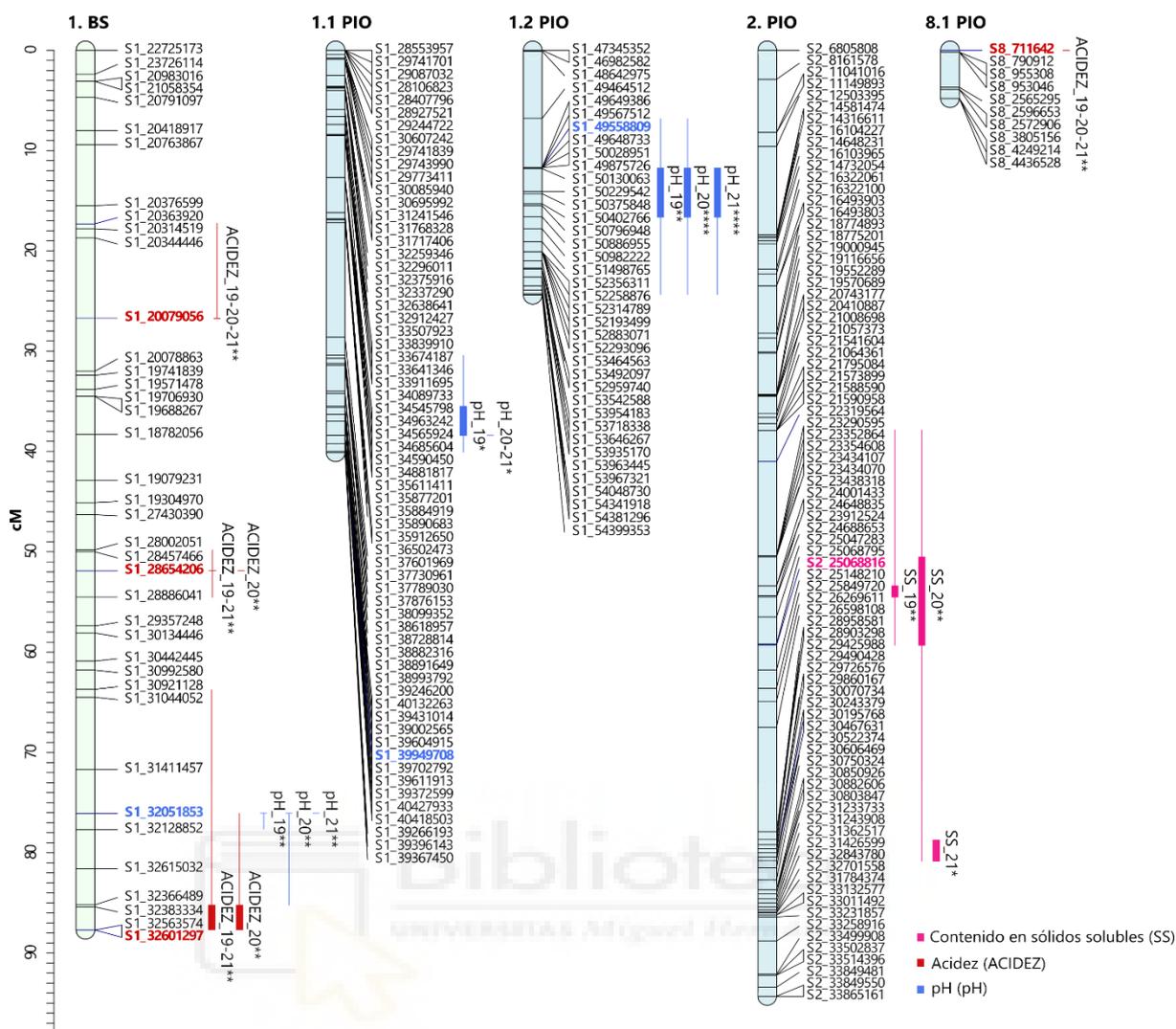


Figura 4.50. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres organolépticos en los parentales de la población ‘Black Splendor’ (BS) × ‘Pioneer’ (PIO). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los SNPs más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.19. Genotipos parentales de la población formada por ‘Black Splendor’ × ‘Pioneer’ para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres organolépticos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Black Splendor	Pioneer	
Sólidos solubles	S2_25068116	TT	CT	Menor
Acidez	S1_20079056	AG	AA	Mayor
	S1_28654206	AG	GG	Mayor
	S1_32051853	CT	TT	Mayor
	S8_711642	TT	AT	Mayor
pH	S1_32051853	CT	TT	Menor
	S1_49558809	GG	AG	Mayor

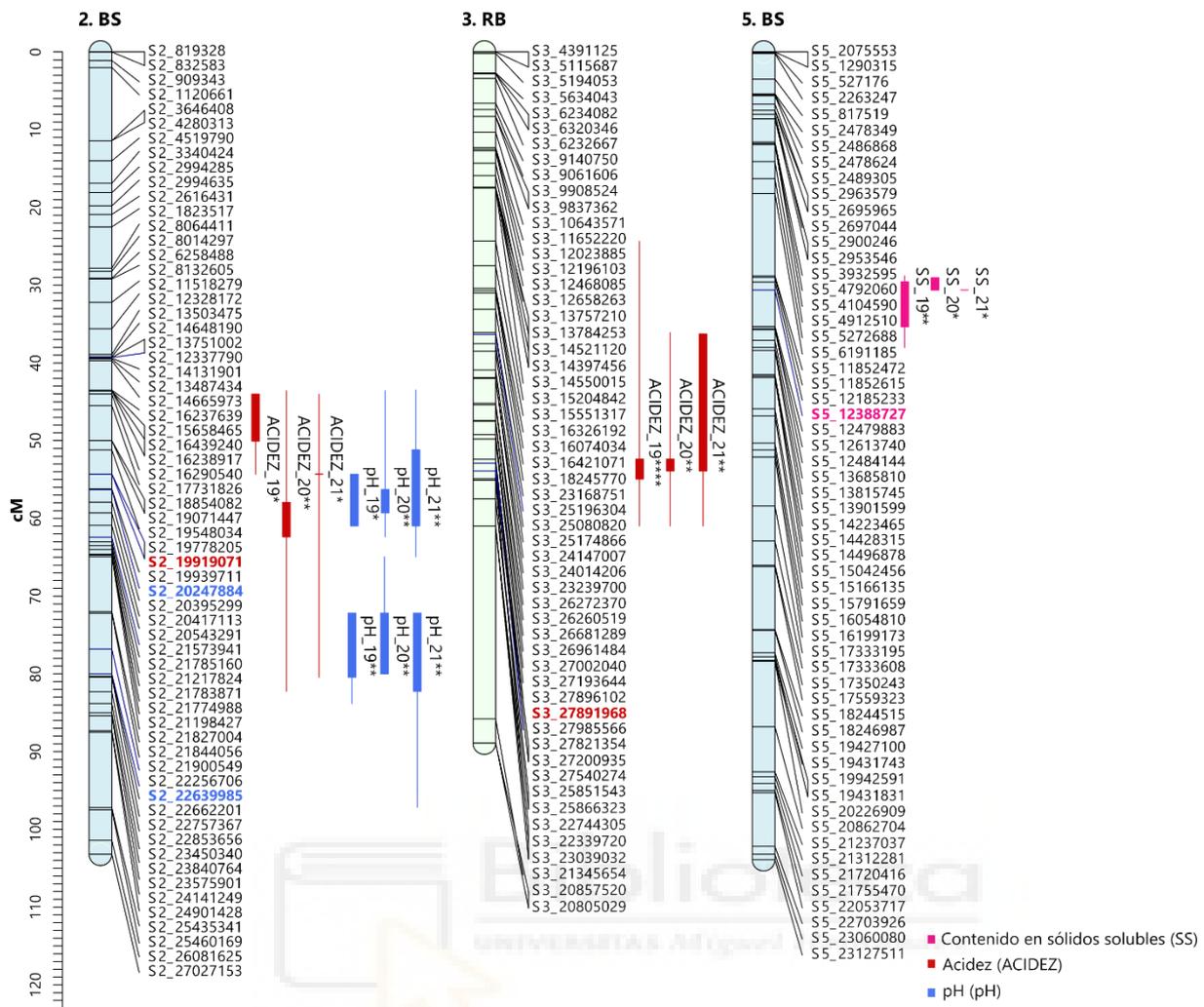


Figura 4.51. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres organolépticos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los SNPs más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.20. Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Black Splendor' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres organolépticos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Black Splendor	
Sólidos solubles	S5_12388727	TT	CT	Menor
Acidez	S2_19919071	AA	AG	Menor
	S3_27891968	AG	AA	Menor
pH	S2_20247884	AA	AG	Mayor
	S2_22256706	CC	CT	Mayor
	S2_22639985	CC	AC	Mayor

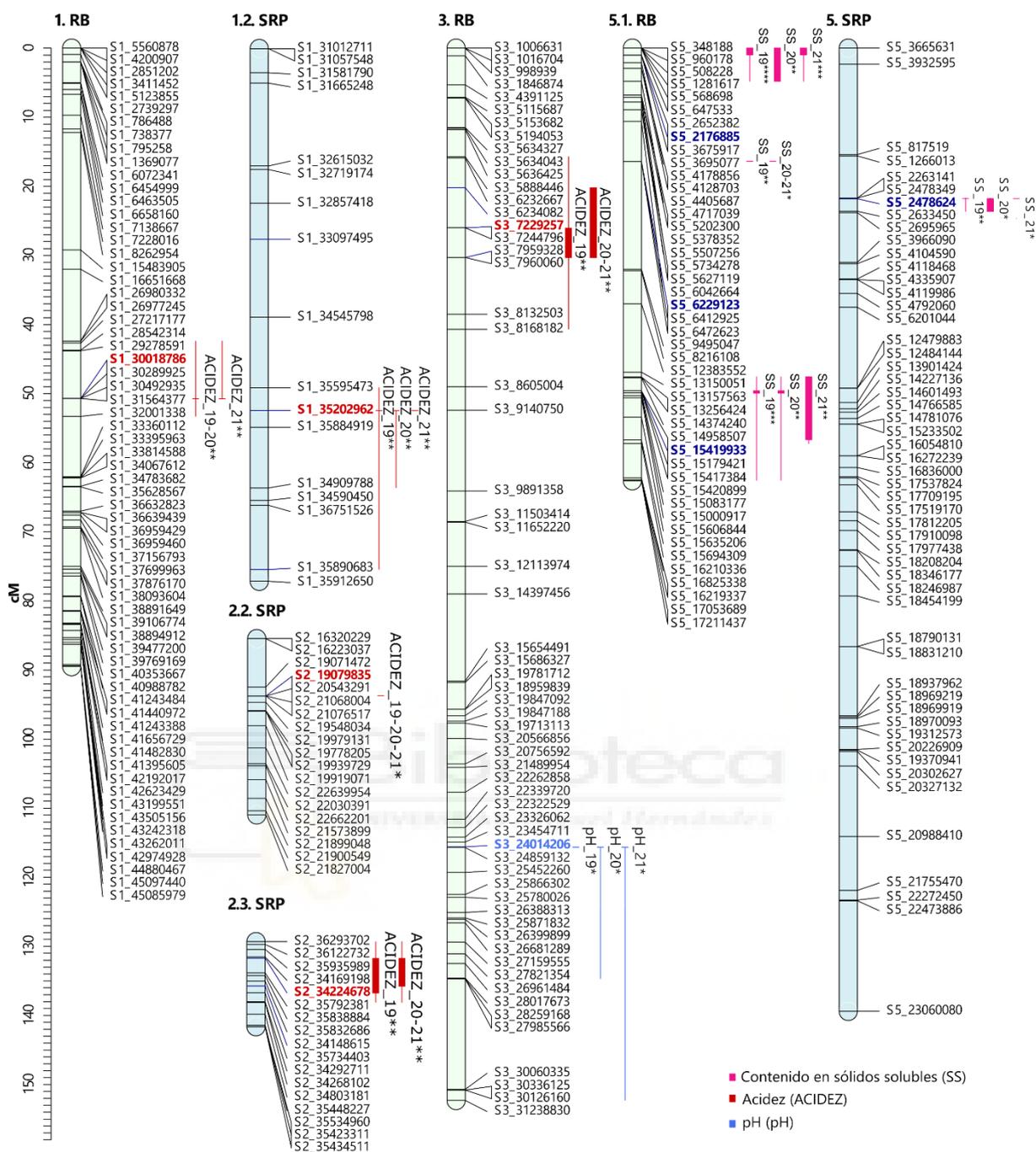


Figura 4.52. QTLs consistentes durante los tres años de fenotipado para los caracteres organolépticos en los parentales de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Santa Rosa Precoz' (SRP). La representación de los QTLs incluye una línea gruesa que indica la parte más significativa del QTL y una línea delgada que indica todo el intervalo significativo del mismo (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0005$; ***** $p < 0,0001$). Los SNPs más significativos de cada QTL están representados en negrita y en el color asignado al carácter.

Tabla 4.21. Genotipos parentales de la población formada por 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' para los SNPs más significativos de cada QTL asociado con los caracteres organolépticos y sus efectos alélicos. El SNP se encuentra representado en negrita. Los efectos alélicos presentan una significancia mínima de $p < 0,05$ durante los tres años de estudio según el test de Kruskal-Wallis.

Carácter	SNP	Genotipo		Efecto alélico
		Red Beaut	Santa Rosa Precoz	
Sólidos solubles	S5_2176885	GT	TT	Menor
	S5_2478624	TT	CT	Mayor
	S5_6229123	GT	GG	Menor
	S5_15419933	AG	AA	Menor
Acidez	S1_30018786	CT	CC	Menor
	S1_35202962	GG	GT	Menor
	S2_19079835	AA	AC	Mayor
	S2_34148615	CC	CT	Mayor
	S3_7229257	AG	AA	Mayor
pH	S3_24014206	CG	GG	Menor

4.4.5.3.1. Contenido en sólidos solubles

El contenido en sólidos solubles, junto con la acidez, se encuentran entre los parámetros de mayor relevancia en la calidad organoléptica del fruto, ejerciendo un impacto considerable en el nivel de aceptación por parte del consumidor, ya que son características bioquímicas directamente relacionadas con el sabor del fruto.

En términos generales, no se han identificado muchas regiones asociadas al contenido en sólidos solubles en los parentales de las tres poblaciones, detectándose un total de 14 QTLs a lo largo de diversos grupos de ligamiento. De estos, solo seis han mostrado estabilidad durante los tres años de estudio, lo cual podría atribuirse a su naturaleza altamente poligénica y a la variabilidad interanual debido a la influencia ambiental.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado un total de cinco QTLs vinculados al contenido en sólidos solubles en distintos grupos de ligamiento en ambos parentales. Sin embargo, solo uno de los QTLs identificados en el GL2 del parental masculino '**PIO**' ha mostrado estabilidad durante los tres años de estudio (Figura 4.50, Tabla S7).

El QTL estable identificado en el GL2 de 'PIO' varía entre las posiciones 50,52 y 80, 83 cM en función del año, presentando su nivel de significancia máxima ($p < 0,005$) en 2020 entre las posiciones 50,52 y 59,33 cM, siendo el SNP 'S2_25068816' el más significativo (Figura 4.50, Tabla S7).

El SNP más significativo del QTL ('S2_25068816') muestra un efecto alélico consistente durante los tres años de estudio, donde el contenido en sólidos solubles varía significativamente en función del genotipo que presentan los individuos. Específicamente, la

presencia del alelo "C" para este SNP, disminuye la cantidad de sólidos solubles que contiene el fruto, observándose que los individuos heterocigóticos "CT" tienen generalmente un contenido en sólidos solubles significativamente inferior en comparación con los individuos homocigóticos "TT" (Tabla 4.19).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado un total de cinco QTLs asociados al contenido en sólidos solubles del fruto en diferentes grupos de ligamiento. Sin embargo, solo uno de estos QTLs, identificado en el parental masculino, ha demostrado estabilidad a lo largo de los tres años de estudio, similar a lo observado en la población 'BS×PIO' (Figura 4.51, Tabla S8).

El único QTL estable identificado en el parental '**BS**' se localiza entre las posiciones 28,80 y 38,03 cM del GL5, variando según el año, presentando unos niveles máximos de significancia ($p < 0,005$) con un valor estadístico de K máximo de 8,00 en 2019 (Figura 4.51, Tabla S8).

El SNP del marcador más significativo de este QTL ('S5_12388727') muestra un efecto alélico estable durante los tres años de estudio, donde el contenido en sólidos solubles varía significativamente según el genotipo. Concretamente, la presencia del alelo "C" para este SNP, disminuye la cantidad de sólidos solubles que contiene el fruto, observándose que los individuos heterocigóticos "CT" presentan un contenido en sólidos solubles significativamente inferior en comparación con aquellos homocigóticos "TT" (Tabla 4.20).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado un total de cuatro QTLs asociados al contenido en sólidos solubles del fruto, todos ellos estables a lo largo de los tres años de estudio y localizados en el GL5 de ambos parentales (Figura 4.52, Tabla S9).

En el parental femenino '**RB**', se han identificado tres regiones estables a lo largo del primer segmento del grupo de ligamiento 5 (GL5.1): en los primeros 4,80 cM, entre las posiciones 16,36 y 16,39 cM, y al final del grupo, presentando su nivel de significancia más alto ($p < 0,001$) entre 49,59 y 49,92 cM en 2019 (Figura 4.52, Tabla S9).

Los SNPs más significativos de estos QTLs muestran un efecto alélico similar, donde el contenido en sólidos solubles del fruto difiere significativamente entre genotipos. La presencia del alelo "G" en los individuos heterocigóticos "GT" parece estar asociado a un contenido en sólidos solubles (Tabla 4.21) significativamente inferior a los individuos homocigóticos "TT". Este efecto se puede observar gráficamente en la Figura 4.53, donde se representa el efecto alélico del SNP más significativo de los tres QTLs detectados asociados al contenido en sólidos solubles, 'S5_2176885'.

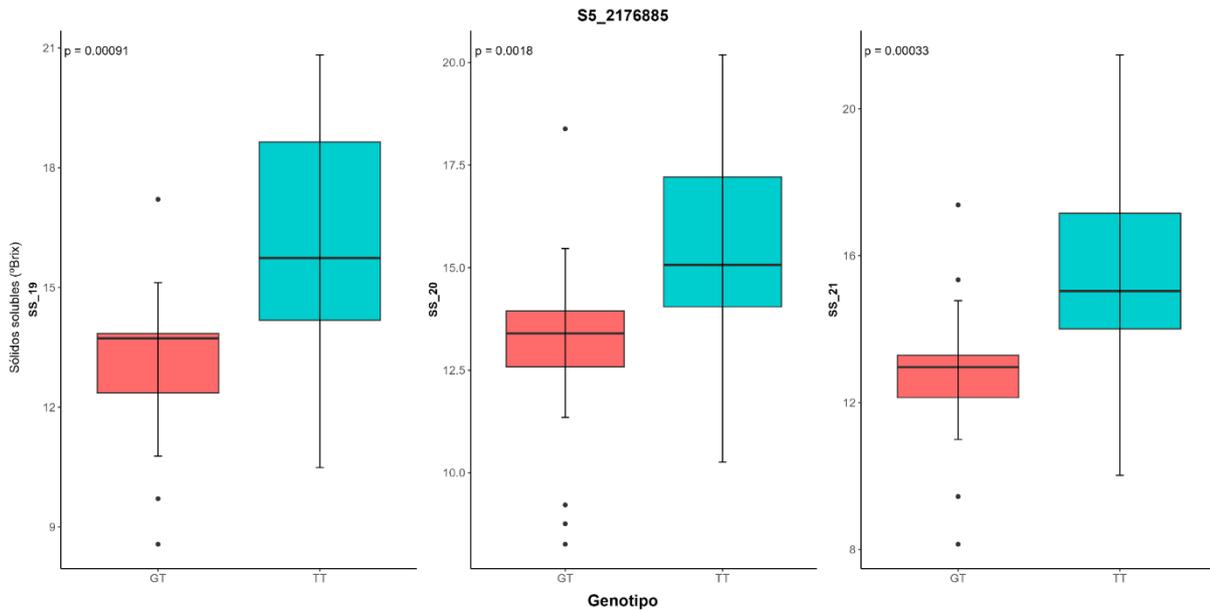


Figura 4.53. Efecto alélico del SNP 'S5_2176885' de 'Red Beaut' en el contenido de sólidos solubles (SS) del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución en °Brix del contenido en sólidos solubles, diferenciando entre los genotipos "TT" y "GT" del SNP 'S5_2176885'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio.

Por otro lado, en el parental masculino 'SRP', se ha identificado un QTL estable localizado también en el GL5, concretamente entre las posiciones 21,66 y 23,64 del grupo de ligamiento, presentando un nivel de significancia máximo de $p < 0,005$ en 2019 (Figura 4.52, Tabla S9). Sin embargo, el SNP del marcador más significativo de este QTL, 'S5_2478624', muestra un efecto alélico distinto a los anteriormente descritos en esta población y en las otras poblaciones evaluadas (Tabla 4.21). En este caso, la presencia del alelo "C" en el genotipo aumenta significativamente el contenido en sólidos solubles del fruto en comparación con los individuos que no muestran el SNP. La mayoría de los individuos homocigóticos "TT" muestran un contenido en sólidos solubles entre 9 y 15 °Brix, mientras que la mayoría de los individuos heterocigóticos "CT" presentan un contenido en sólidos solubles entre 15 y 21 °Brix (Figura 4.54).

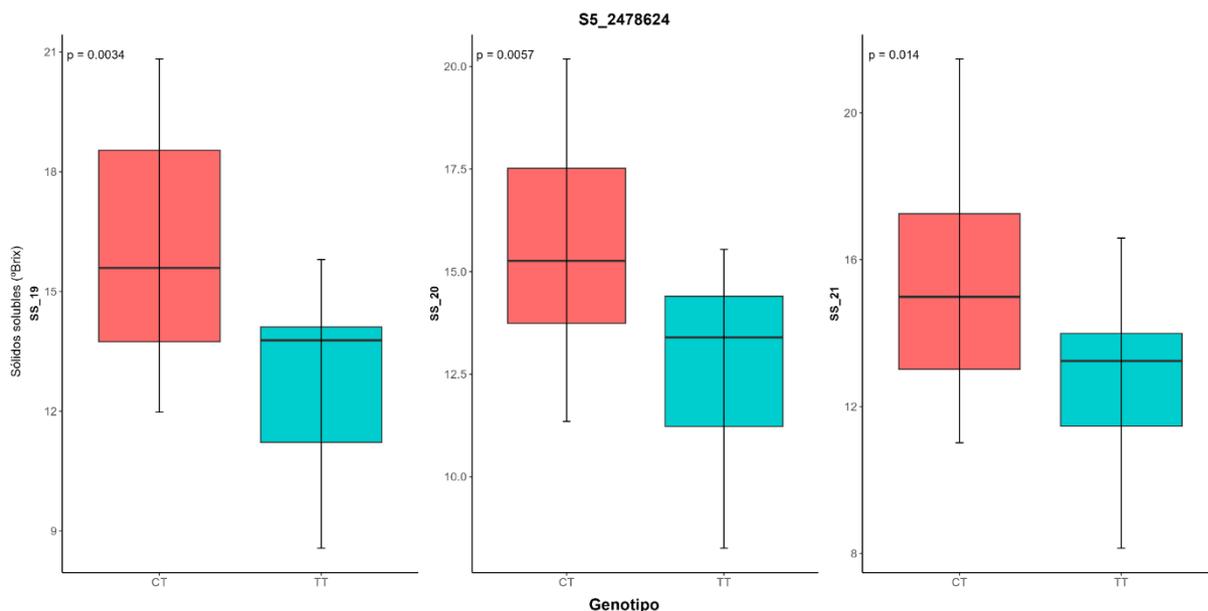


Figura 4.54. Efecto alélico del SNP 'S5_2478624' de 'Santa Rosa Precoz' en el contenido de sólidos solubles (SS) del fruto. Cada diagrama de caja representa la distribución en °Brix del contenido en sólidos solubles, diferenciando entre los genotipos "TT" y "CT" del SNP 'S5_2478624'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes fenotipos en función del genotipo durante los tres años de estudio.

Al comparar los QTLs identificados para el contenido en sólidos solubles en las tres poblaciones, destaca claramente el GL5, ya que en él se han detectado QTLs estables durante los tres años de estudio en la mayoría de las poblaciones, excepto en la población 'BS×PIO', donde el QTL identificado en el GL2 de 'PIO' también mostró estabilidad a lo largo de los tres años.

Al analizar los resultados obtenidos por otros autores en cuanto al contenido de sólidos solubles, se ha descrito un número importante de QTLs relacionados con el contenido de azúcares, especialmente para azúcares individuales como la fructosa, glucosa y sacarosa, identificados a lo largo de la mayoría de los grupos de ligamiento del melocotonero, lo que indica su naturaleza poligénica (Quarta *et al.*, 1998; Etienne *et al.*, 2002; Verde *et al.*, 2002; Illa *et al.*, 2009; Eduardo *et al.*, 2011; Zeballos *et al.*, 2016), tanto en cruzamientos intraespecíficos como interespecíficos. En otras especies como el cerezo, se han identificado diferentes QTLs en los GL3 y GL4 (Calle & Wünsch, 2020), mientras que en el albaricoquero se han detectado en los grupos de ligamiento 2, 3, 4, 5 (Ruiz *et al.*, 2010b; Salazar *et al.*, 2013; Socquet-Juglard *et al.*, 2013; García-Gómez *et al.*, 2019). García-Gómez *et al.* (2019) identificaron un QTL mayor en el GL4 que parecía estar ligado también a la fecha de maduración y al periodo de desarrollo del fruto, ya que dentro de los intervalos de confianza de dicho QTL se encontraban factores de transcripción de la familia *NAC*, asociados a estos caracteres.

En ciruelo japonés, solo existen dos estudios que han identificado QTLs asociados a este carácter. Salazar *et al.* (2017, 2020) evaluaron el contenido en sólidos solubles en dos estados de madurez: día de cosecha y una semana poscosecha, identificando regiones

asociadas al carácter en distintos grupos de ligamiento. Salazar *et al.* (2017) identificaron regiones asociadas al contenido en sólidos solubles con un nivel de significancia de $p < 0,05$ en ambos parentales de la población '98-99 × Angeleno' en los GL1 y GL6, para el día de cosecha y a una semana poscosecha, respectivamente. Sin embargo, estos QTLs únicamente se identificaron en un año de los dos de estudio, por lo que no mostraron estabilidad interanual. Posteriormente, Salazar *et al.* (2020), en la misma población, identificaron QTLs en los GL4 y GL5, que al igual que en el estudio anterior solo se detectaron durante un año de fenotipado.

Por lo tanto, los resultados obtenidos en el presente estudio muestran por primera vez regiones asociadas al contenido en sólidos solubles estables en el tiempo, específicamente durante tres años de fenotipado, en las tres poblaciones de ciruelo japonés estudiadas. Esto subraya la importancia del GL5 en la expresión del contenido en sólidos solubles y proporciona una base para futuros estudios tendientes a identificar genes candidatos asociados al carácter y al desarrollo de marcadores moleculares para su utilización en la mejora genética de la especie.

4.4.5.3.2. Acidez y pH

La acidez es otro de los parámetros organolépticos, junto con el contenido de sólidos solubles, determinantes en el sabor de la fruta y, por tanto, en su aceptación por parte de los consumidores. Un equilibrio adecuado entre la acidez y el contenido de azúcares es indicativo de un sabor de alta calidad, mientras que niveles de acidez demasiado altos pueden llevar a una baja aceptación por parte del consumidor.

La acidez del fruto y el pH muestran una correlación altamente significativa, estando estos parámetros inversamente correlacionados, como se detalla en el Capítulo 3 de la presente tesis doctoral (ver Apartado 3.4.1). Por consiguiente, la gran mayoría de los QTLs identificados, tanto para la acidez como para el pH del fruto, muestran una notable coincidencia en regiones genómicas similares, compartiendo intervalos de confianza en las tres poblaciones estudiadas, como se detalla a continuación.

En este trabajo, se ha identificado con éxito QTLs asociados a la acidez y pH del fruto, distribuidos en varios grupos de ligamiento en las tres poblaciones analizadas.

Población 'Black Splendor' × 'Pioneer'

En la población 'BS×PIO', se han identificado un total de nueve QTLs asociados a la acidez y pH en distintos grupos de ligamiento en ambos parentales, de los cuales siete han mostrado estabilidad durante los tres años de estudio (Figura 4.50, Tabla S7).

En el parental femenino '**BS**', se han detectado cuatro QTLs estables y significativos asociados a estos caracteres, todos ellos localizadas en el GL1 con un nivel de significancia de $p < 0,005$. En este grupo de ligamiento, se pueden diferenciar tres regiones distintas: una al inicio del GL1, donde se localiza un QTL asociado a la acidez, presentando su nivel más alto de

significancia en la posición 26,72 cM; otra entre las posiciones 48,82 y 54,53 cM, donde también se localiza otro QTLs asociado a la acidez, con la máxima significancia presentada por el SNP 'S1_28654206' en la posición 51,86 cM; y, por último, la región situada al final del GL1, que es la única donde se ha identificado QTLs estables tanto para la acidez como para el pH, lo que sugiere una mayor importancia de esta región (Figura 4.50, Tabla S7).

Cabe destacar que los SNPs más significativos de los QTLs detectados muestran un efecto alélico similar, existiendo diferencias significativas tanto en acidez como en pH en función del genotipo que presentan durante los tres años de estudio. Los individuos heterocigóticos muestran una acidez superior y, por tanto, un pH inferior, en comparación con los individuos homocigóticos, por lo que dichos SNPs podrían estar asociados a frutos con mayor acidez (Tabla 4.19).

Por otro lado, en el parental masculino '**PIO**', se han identificado tres QTLs estables y significativos asociados a estos caracteres, detectados en los GL1.1, GL1.2 y GL8.1. En los dos primeros segmentos del GL1 (GL1.1 y GL1.2) se han identificado regiones estables durante los tres años de estudio vinculadas únicamente con el pH del fruto, siendo la localizada entre las posiciones 11,74 y 16,63 cM del GL1.2 la más significativa, con un nivel de significancia máximo de $p < 0,0005$ en 2020 y 2021. Por último, al inicio del GL8.1 se ha identificado una región estable asociada a la acidez, con un nivel de significancia máximo de $p < 0,005$ (Figura 4.50, Tabla S7).

Al igual que ocurría en el parental 'BS', todos los SNPs más significativos ligados a los QTLs identificados en este parental presentan un efecto similar, donde los individuos heterocigóticos tienen una acidez superior a los homocigóticos, excepto para los SNPs más significativos del QTL obtenido para el pH en el GL1, donde los individuos heterocigóticos muestran un pH más elevado y por tanto una acidez menor (Tabla 4.19).

Este efecto alélico se puede observar gráficamente en la Figura 4.55 donde se representa el SNPs más significativos relacionados con la acidez ('S8_711642') y el pH del fruto ('S1_49558809').

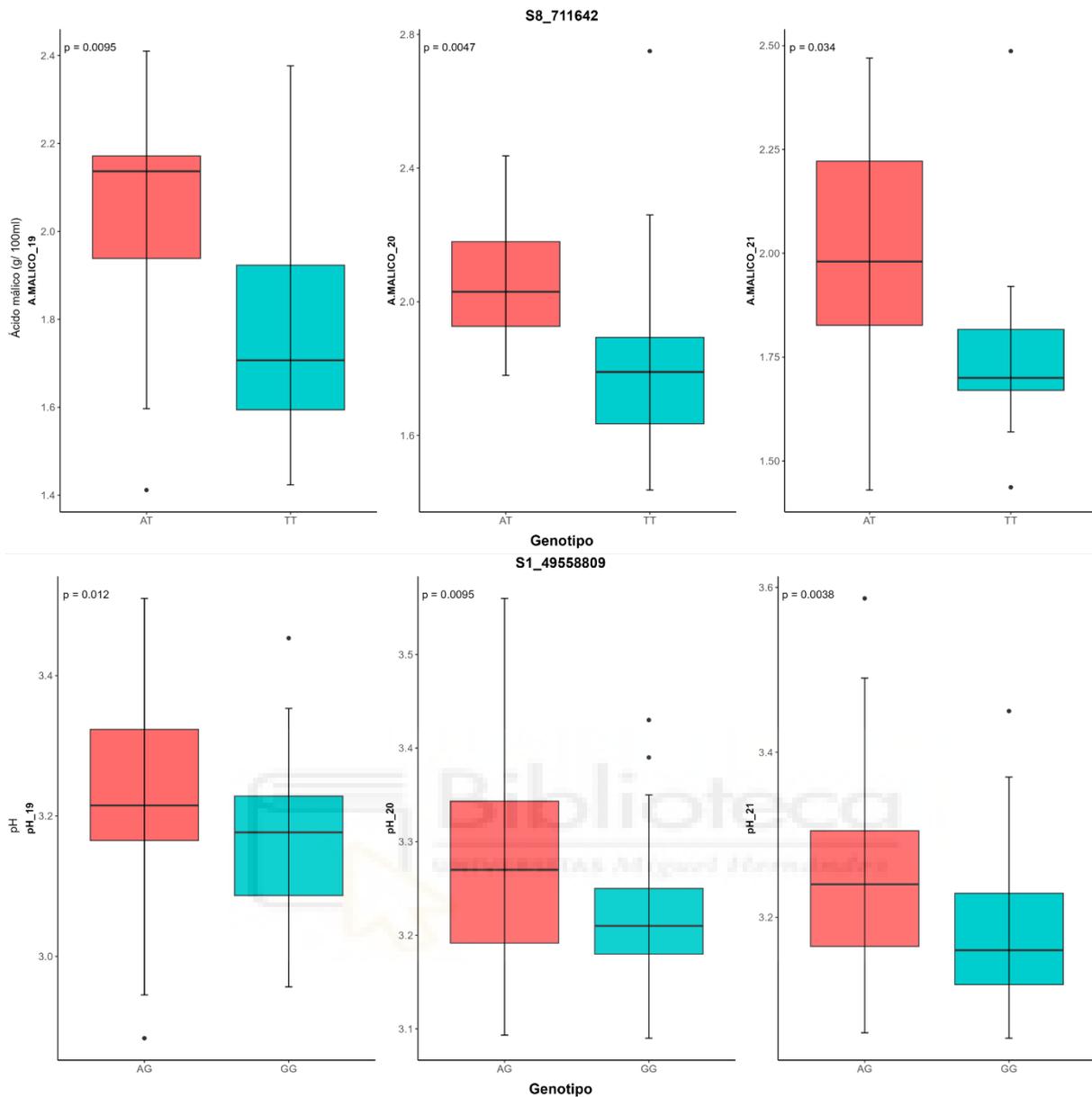


Figura 4.55. Efecto alélico de los SNPs 'S8_711642' (arriba) y 'S1_49558809' (abajo) de 'Pioneer'. Cada diagrama de caja representa la distribución en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A.MÁLICO) y pH, diferenciando entre los genotipos "AT" y "TT" del SNP 'S8_711642' y "AG" y "GG" del SNP 'S1_49558809'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Figura 4.56. Efecto alélico del SNP 'S3_27891968' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución de la acidez medida en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A. MÁLICO) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG". Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.
Figura 4.57. Efecto alélico de los SNPs 'S8_711642' (arriba) y 'S1_49558809' (abajo) de 'Pioneer'. Cada diagrama de caja representa la distribución en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A.MÁLICO) y pH, diferenciando entre los genotipos "AT" y "TT" del SNP 'S8_711642' y "AG" y "GG" del SNP 'S1_49558809'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

En concreto, la presencia del alelo "A" para el marcador 'S8_711642' parece estar

asociada con un fenotipo de mayor acidez del fruto, ya que los individuos heterocigóticos "AT" muestran una acidez superior en comparación con los individuos homocigóticos "TT". Por otro lado, la presencia del alelo "A" en el marcador 'S1_49558809' en el genotipo de los individuos parece estar asociada a un mayor pH del fruto, lo que implica una acidez menor, ya que los individuos heterocigóticos "AG" presentan una distribución del pH del fruto superior a los homocigóticos "GG" (Figura 4.55).

Población 'Red Beaut' × 'Black Splendor'

En la población 'RB×BS', se han identificado un total de nueve QTLs asociados a la acidez y el pH de fruto en distintos grupos de ligamiento en ambos parentales, de los cuales cuatro han mostrado estabilidad durante los tres años de estudio (Figura 4.51, Tabla S8).

En el parental femenino '**RB**', únicamente se ha identificado una región estable asociada a la acidez del fruto en el GL3, presentando su nivel de significancia más alto en 2019 ($p < 0,0005$) con un valor estadístico de K máximo de 13,51. Por otro lado, en el GL5.3 se ha identificado una región asociada al pH únicamente en 2020 (Figura 4.51, Tabla S8).



En cuanto al efecto alélico del SNP más significativo del único QTL estable identificado, asociado a la acidez del fruto, como podemos observar en la Figura 4.56, existen diferencias significativas en el fenotipo en función del genotipo. Los individuos que presentan el alelo "G", para el SNP 'S3_27891968', heterocigóticos "AG", presentan una acidez significativamente inferior a los homocigóticos "AA".

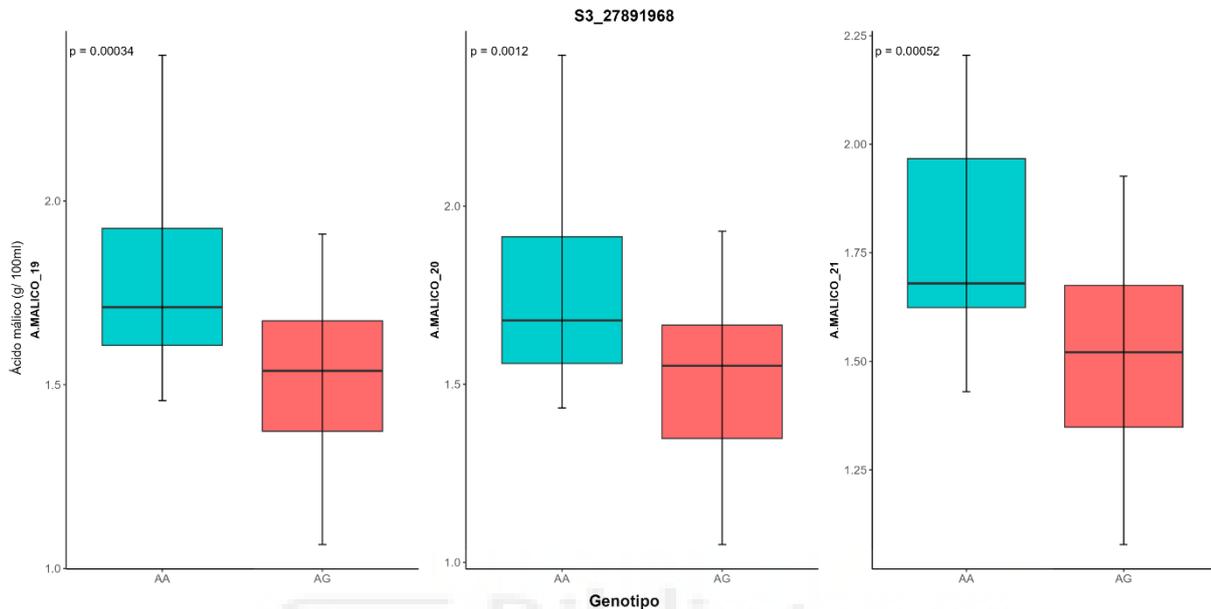


Figura 4.58. Efecto alélico del SNP 'S3_27891968' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución de la acidez medida en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A. MÁLICO) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG". Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Figura 4.59. Efecto alélico de los SNPs 'S1_35202962' (arriba) y 'S2_34148615' (abajo) de 'Santa Rosa Precoz'. Cada diagrama de caja representa la distribución de la acidez medida en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A. MÁLICO), diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S1_35202962' y "CC" y "CT" del SNP 'S2_34148615'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Figura 4.60. Efecto alélico del SNP 'S3_27891968' de 'Red Beaut'. Cada diagrama de caja representa la distribución de la acidez medida en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A. MÁLICO) diferenciando entre los genotipos "AA" y "AG". Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

En el parental masculino 'BS', se han identificado tres QTLs estables durante los tres años de estudio asociados a la acidez y pH del fruto, distribuidos a lo largo del grupo de ligamiento 2 con niveles de significación que varían entre $p < 0,01$ y $p < 0,005$, colocandolos entre sí (Figura 4.51, Tabla S8).

Cabe destacar que los SNPs más significativos de los QTLs detectados muestran un efecto alélico similar, existiendo diferencias significativas tanto en la acidez como en el pH en función del genotipo que presentan durante los tres años de estudio. Los individuos heterocigóticos muestran una acidez inferior y, por tanto, un pH superior, a los individuos homocigóticos, por lo que dichos SNPs podrían estar asociados a frutos menos ácidos (Tabla

4.20), a diferencia de lo que ocurría en el mismo parental de la población 'BS×PIO', donde los SNPs estaban asociados a un fenotipo con frutos más ácidos (Tabla 4.19).

Población 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz'

En la población 'RB×SRP', se han identificado un total de 11 QTLs asociados a la acidez y pH del fruto en distintos grupos de ligamiento en ambos parentales, de los cuales nueve han mostrado estabilidad durante los tres años de estudio (Tabla S9, Figura 4.52).

En el parental femenino '**RB**', se han identificado tres QTLs estables distribuidos en los GL1 y GL3, siendo el GL3 el más destacado. Al principio del GL3, se ha detectado una región asociada a la acidez del fruto, mostrando su nivel de significancia máximo ($p < 0,005$) entre la posición 20,22 y 30,32 cM, mientras que al final del mismo se ha identificado otro QTL, asociado al pH del fruto, presentando su nivel más alto de significancia ($p < 0,01$) en la posición 115,6 cM durante los tres años de fenotipado, siendo el marcador SNP 'S3_24014206' el más significativo (Tabla S9, Figura 4.52). En el GL1 se ha identificado otro QTL vinculado a la acidez del fruto, con una significancia máxima de $p < 0,005$ durante los tres años en la posición 50,74 cM.

Los SNPs más significativos de los QTLs detectados en el GL3 de este parental muestran un efecto alélico estable durante los tres años de fenotipado, donde los individuos heterocigóticos exhiben un contenido en ácidos significativamente superior y un pH inferior a los homocigóticos. En contraste, los SNPs más significativos del QTL obtenido en el GL1 asociado a la acidez muestran un efecto alélico contrario, asociado el SNP a una acidez menor (Tabla 4.21).

En el parental femenino '**SRP**', se han identificado siete QTLs, de los cuales tres han presentado estabilidad durante los tres años de fenotipado, localizados en los GL1.2 y GL2.2, GL2.3, todos ellos asociados a la acidez del fruto. En el GL1.2 se ha detectado un QTL asociado con un nivel de significancia máximo de $p < 0,005$ los tres años, al igual que la región localizada entre los primeros 8,77 cM del GL2.3, mientras que en la posición 8,25 cM del GL2.2 el QTL presenta un nivel de significancia menor ($p < 0,01$). (Tabla S9, Figura 4.52).

Cabe destacar que los SNPs de los QTLs identificados en este parental han mostrado un efecto alélico distinto en función del grupo de ligamiento en el que se encuentran. Los SNPs más significativos del grupo de ligamiento 1.2 presentan un efecto alélico donde el contenido de acidez de los individuos heterocigóticos tiende a ser inferior a los individuos homocigóticos, que muestran una acidez mayor. Sin embargo, los SNPs más significativos de los QTLs presentes en los grupos de ligamiento 2.2 y 2.3 muestran el efecto contrario, donde los individuos heterocigóticos tienden a presentar una mayor acidez (Tabla 4.21).

Como se puede observar en la Figura 4.57, la distribución del contenido de acidez difiere significativamente entre genotipos, según indica el valor p obtenido a través de la prueba de Kruskal-Wallis en los tres años de estudio para ambos SNPs. Con respecto al marcador 'S1_35202962', la presencia del alelo "T" parece estar asociada con un fenotipo de menor acidez del fruto, así los heterocigóticos "GT", muestran un contenido en ácido málico inferior en comparación con los individuos homocigóticos "GG". Sin embargo, la presencia del alelo "T" del SNP 'S2_34148615' en el genotipo de los individuos parece estar asociada a una mayor acidez, puesto que los individuos con genotipo "CT" muestran una distribución de la acidez del fruto superior a los genotipos "CC".

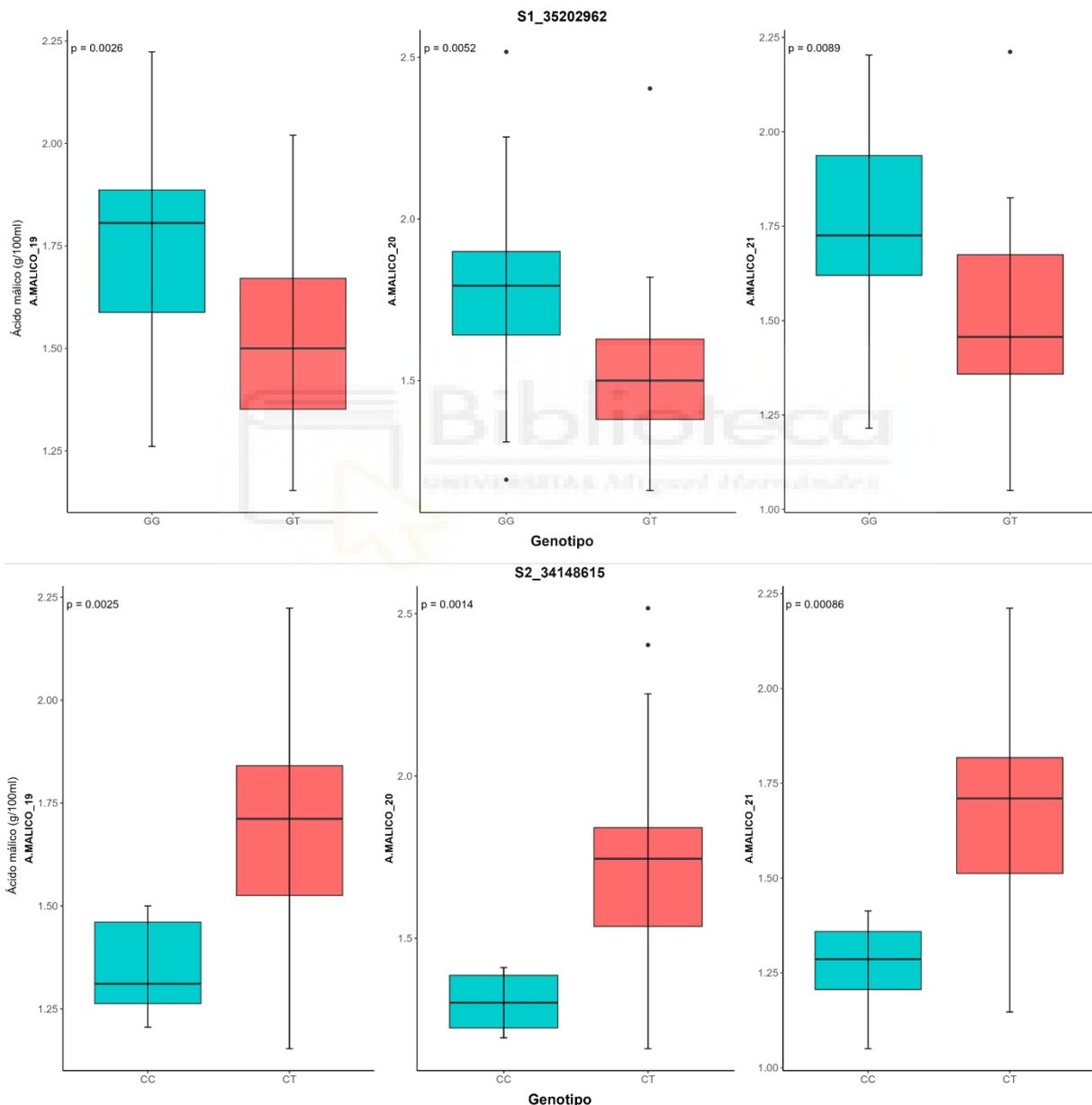


Figura 4.61. Efecto alélico de los SNPs 'S1_35202962' (arriba) y 'S2_34148615' (abajo) de 'Santa Rosa Precoz'. Cada diagrama de caja representa la distribución de la acidez medida en gramos de ácido málico por cada 100 ml (A. MÁLICO), diferenciando entre los genotipos "GG" y "GT" del SNP 'S1_35202962' y "CC" y "CT" del SNP 'S2_34148615'. Se presenta el valor p derivado de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de la distribución entre los diferentes genotipos durante los tres años de estudio.

Al igual que ocurre en la mayoría de los caracteres evaluados, debido a su naturaleza poligénica, diversos autores han localizado QTLs asociados a la acidez del fruto en prácticamente todos los grupos de ligamiento en distintas especies del género *Prunus*. En el melocotonero, se han identificado QTLs en los grupos de ligamiento 1, 2, 3, 4 y 5 (Etienne *et al.*, 2002; Quilot *et al.*, 2004; Cantín *et al.*, 2010; Eduardo *et al.*, 2011; Zeballos *et al.*, 2016), mientras que en el albaricoquero se han localizado en todos los grupos de ligamiento, excepto en el 3 (Ruiz *et al.*, 2010b; Salazar *et al.*, 2013; García-Gómez *et al.*, 2019; Dondini *et al.*, 2022). En el caso del cerezo, existen menos estudios que hayan identificado regiones genómicas asociadas a la acidez. Calle & Wünsch (2020) localizaron zonas de los grupos de ligamiento 4 y 6 asociadas con la acidez. Por último, en ciruelo japonés, únicamente un estudio realizado por Salazar *et al.* (2020) ha detectado regiones vinculadas a la acidez, concretamente al contenido en ácido málico, en el grupo de ligamiento 3 en ambos parentales de la población '98-99 × Angeleno', asociando los marcadores tipo SSR PaCITA10 y SNP 'S3_16183344' al contenido en ácido málico en ciruelo japonés, a pesar del bajo porcentaje de varianza fenotípica explicada (PEV < 15%).

Por lo tanto, los resultados obtenidos muestran por primera vez QTLs asociados a la acidez y pH del fruto, y SNPs en estas regiones que presentan un efecto alélico significativo y estable en el tiempo en ciruelo japonés, pudiendo destacar diferentes grupos de ligamiento en función del parental en el que se han identificado. Por ejemplo, en el parental 'BS' de la población 'BS×PIO' debemos destacar los QTLs identificados en el GL1, asociados a la acidez y pH. En el parental masculino de la misma población, 'PIO', destacan el GL8.1 y el GL1 al detectarse regiones altamente significativas asociadas a la acidez y el pH, respectivamente. Por otro lado, en la población 'RB×BS' destaca el GL3 en 'RB' y el GL2 en 'BS', mientras que en la población 'RB×SRP' destacan el GL3 en 'RB', al igual que ocurría en el mismo parental en el caso de la población 'RB×BS', y GL1.2 y GL2.3 en el parental masculino 'SRP'.

4.5. CONCLUSIONES

I. La secuenciación del genoma completo (*Whole Genome Sequencing*, WGS) de alta cobertura y el ensamblaje de los genomas obtenidos de los parentales 'Santa Rosa Precoz' (SRP), 'Pioneer' (PIO), 'Red Beaut' (RB) y 'Black Splendor' (BS) han proporcionado una información de gran valor avalada por la calidad y consistencia de los datos genómicos obtenidos. Los resultados de la evaluación de calidad y eficiencia subrayan la efectividad del enfoque de secuenciación y ensamblaje empleado, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones genómicas y aplicaciones en la especie ciruelo japonés.

II. En este trabajo se ha empleado por primera vez en *Prunus* la combinación de la secuenciación de los parentales a alta cobertura (WGS) y a baja cobertura (LcWGS) de las descendencias de las poblaciones. La implementación de esta novedosa estrategia nos ha permitido desarrollar con éxito mapas de ligamiento genético en todos los parentales de las tres poblaciones evaluadas y, posteriormente, identificar QTLs ligados a caracteres de interés de manera más eficiente económicamente en comparación con las técnicas empleadas previamente en esta especie (AFLP, GBS, SLAF-seq). Esta reducción de costes es crucial dentro del programa de mejora genética con el objetivo de desarrollar marcadores moleculares para selección asistida.

III. Los mapas de ligamiento genéticos generados, combinando WGS de los parentales y LcWGS de los descendientes, muestran características similares de tamaño y número de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) mapeados a los mapas desarrollados previamente con GBS y SLAF-seq.

IV. Es importante señalar que, aunque esta metodología de genotipado combinando WGS y LcWGS ha reportado importantes ventajas, también ha presentado algunas dificultades. Estas dificultades se reflejan en ciertas características de los mapas de ligamiento genético obtenidos, donde varios grupos de ligamiento están representados por segmentos no conectados debido a datos faltantes provenientes del empleo del genotipado a baja cobertura en las descendencias.

V. La integración de los datos de genotipado y fenotipado ha permitido la identificación de un elevado número de QTLs asociados con los principales caracteres de fenología y calidad del fruto. Además, se ha estudiado el efecto alélico de los SNPs más significativos, permitiéndonos identificar SNPs asociados a la expresión de muchos de los caracteres evaluados, que presentan un efecto alélico significativo y estable durante los tres años de estudio. Por tanto, la validación de estos SNPs en futuros trabajos puede facilitar el desarrollo de marcadores moleculares específicos para su utilización en mejora asistida.

VI. Se han identificado numerosos QTLs ligados a la fenología en diferentes grupos de ligamiento. Los resultados obtenidos en cuanto a los QTLs asociados a la fecha de floración, han mostrado la influencia de diferentes regiones en distintos grupos de ligamiento (GL1.3, GL2, GL3.1, GL4, GL6 y GL8.3) en la expresión del carácter, lo que evidencia su gran complejidad y respalda la hipótesis de que la expresión del mismo tiene una naturaleza poligénica.

VII. La mayoría de los SNPs de los QTLs ligados a la fecha de floración en las tres poblaciones evaluadas presentan un efecto alélico significativo vinculado a una fecha de floración tardía, excepto los identificados en el parental 'PIO' de la población 'BS×PIO' y en el parental 'BS' de la población 'RB×BS', que están asociados a una fecha de floración temprana.

VIII. Se han identificado por primera vez en la especie de ciruelo japonés QTLs ligados a la intensidad de floración y la productividad. En cuanto a la floración, se identificaron cuatro QTLs cuyos SNPs están asociados a una menor intensidad (GL7.2 en 'PIO'; GL4 y GL8.2 en 'RB' de 'RB×BS'; GL5 en 'SRP') y cinco QTLs cuyos SNPs están asociados a una mayor intensidad (GL4 y GL7.1 en 'PIO'; GL2 en 'RB' de 'RB×BS'; GL1 y GL6 en 'BS' de 'RB×BS'). Respecto a la productividad, se identificó un QTL cuyos SNPs están vinculados a una menor productividad (GL7.1 en 'BS' de 'BS×PIO') y once QTLs cuyos SNPs se asocian a una mayor productividad (GL1, GL 3.1 y GL6 en 'BS' de 'BS×PIO'; GL5 en 'PIO'; GL2, GL4.1 y GL4.2 en 'RB' de 'RB×BS'; GL1.2 en 'BS' de 'RB×BS').

IX. La mayoría de los QTLs ligados a la fecha de maduración (FM) y periodo de desarrollo del fruto (PDF) se encuentran localizados en las mismas regiones de los grupos de ligamiento identificados en las tres poblaciones, destacando el GL4 en los parentales 'BS' de 'BS×PIO' y 'RB' en 'RB×SRP', con SNPs asociados a una fecha de maduración tardía y un periodo de desarrollo del fruto largo. También se han identificado QTLs en el GL1.1, GL1.2 y GL2 en 'PIO', con SNPs asociados a FM tardía y PDF largo (GL1.2) y FM temprana y PDF corto (GL1.1 y GL2), el GL3 y GL4 en 'RB' en 'RB×BS' y el GL5 en 'BS' de 'RB×BS', con SNPs asociados a FM temprana y PDF corto.

X. Al comparar los QTLs identificados para el peso del fruto y los diámetros en las tres poblaciones, se observa que algunos QTLs están presentes en los mismos grupos de ligamiento en diferentes parentales, a pesar de la amplia distribución a lo largo del genoma. En particular, se identificaron QTLs en GL1 para los parentales 'PIO', 'RB' de 'RB×BS', y 'SRP', en GL4 para 'BS' y ambos parentales de 'RB×SRP', en GL5 para todos los parentales de 'RB×BS' y 'RB×SRP', y en GL8 para 'PIO' y ambos parentales de 'RB×SRP'. Los SNPs mostraron efectos alélicos similares según el segmento del grupo de ligamiento, independientemente del parental en el que se han identificado.

XI. La distribución de los QTLs asociados con la forma del fruto revela una elevada complejidad genética que refleja la herencia cuantitativa de este carácter, en contraste con la regulación monogénica observada en el ciruelo europeo. Se han identificado con éxito seis QTLs ligados a la forma del fruto en las tres poblaciones, con SNPs asociados a una forma del fruto circular (GL3 en la población 'RB×SRP' y GL5 en 'BS' de 'RB×BS'), y cordiforme (GL1 en 'RB' de 'RB×BS', GL4 en 'RB' de 'RB×SRP' y GL3 en 'BS' de 'BS×PIO').

XII. Se ha identificado el primer QTL ligado a la fisiopatía de hueso roto en frutales del género *Prunus*, siendo el QTL identificado en el GL5 del parental 'BS' de la población 'BS×PIO' durante los tres años de estudio, el primero en ser asociado a este desorden fisiológico, donde los genotipos que presentan el SNP de este QTL muestran una menor incidencia.

XIII. En cuanto a los caracteres de color de piel y color de pulpa del fruto destacan los grupos de ligamiento 3 y 5 por presentar en ellos los QTLs con mayor significancia. Sin embargo, se han identificado QTLs estables y significativos en todos los grupos de ligamiento, lo que subraya la naturaleza poligénica de este carácter. Es importante resaltar que la mayoría de los QTLs identificados asociados al color de pulpa se colocan con regiones que también se asocian con el color de la piel. Se han asociado SNPs a colores de piel amarillo, rojo, violáceo y negro, así como a colores de pulpa amarillo, rojo y bicolor según el grupo de ligamiento en el que se han identificado.

XIV. Los resultados obtenidos en cuanto a los caracteres organolépticos muestran por primera vez QTLs asociados al contenido en sólidos solubles, acidez y pH estables en tres poblaciones durante tres años de fenotipado en la especie ciruelo japonés. Se han podido identificar SNPs altamente significativos ligados a un mayor y menor contenido en sólidos solubles, y mayor y menor acidez y pH del fruto. Es destacable la importancia del GL5 en la expresión del contenido en sólidos solubles, ya que en él se han detectado QTLs estables durante los tres años de estudio en la mayoría de las poblaciones, excepto en la población 'BS×PIO', donde el QTL identificado en el GL2 de 'PIO' también mostró estabilidad a lo largo de los tres años

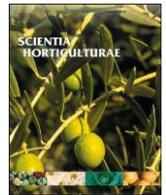


**5. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y
MOLECULAR DE NUEVOS HÍBRIDOS
INTERESPECÍFICOS DE CIRUELO JAPONÉS ×
ALBARICOQUERO (PLUMCOTS)**

5. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y MOLECULAR DE NUEVOS HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE CIRUELO JAPONÉS × ALBARICOQUERO (PLUMCOTS)

El presente capítulo es una transcripción literal del artículo titulado “**Phenotypic and molecular characterization of new interspecific Japanese plum × apricot hybrids (plumcots)**” de Nicolás-Almansa, M., Ruiz, D., Salazar, J.A., Guevara, A., Cos, J., Martínez-Gómez, P y Rubio, M., publicado en la revista *Scientia Horticulturae* aceptado el 5 de mayo de 2023 y publicado el 10 de mayo de 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112131>.





Phenotypic and molecular characterization of new interspecific Japanese plum × apricot hybrids (plumcots)

María Nicolás-Almansa^{a,*}, David Ruiz^a, Juan Alfonso Salazar^a, Alfonso Guevara^b, José Cos^b,

Pedro Martínez-Gómez^a, Manuel Rubio^a

^a Department of Plant Breeding, CEBAS-CSIC, PO Box 164, Espinardo, Murcia E-30100, Spain

^b Department of Hortofruticulture, IMIDA, Murcia, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Prunus salicina
Prunus armeniaca
PPV resistance
Self-incompatibility
Floral biology
Fruit quality
Interspecific crosses

ABSTRACT

Japanese plum is a very important temperate tree fruit, ranking in the second position among the stone fruits, after peaches. In this species, there are very few self-compatible varieties and a lack of resistance to sharka disease (plum pox virus, PPV). In this context, interspecific crosses between Japanese plums and self-compatible, sharka-resistant apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars have been performed in recent years to obtain resistant and self-compatible plumcots. The plumcot provides a new fruit typology combining the horticultural and market characteristics of these two *Prunus* species. In this work, new interspecific plumcots have been obtained and characterized. An initial screening of more than 600 seedlings was carried out for interspecific hybrid verification using Simple Sequence Repeat (SSR) markers. In addition, floral compatibility by S-allele genotyping and phenotypic characterization and PPV resistance evaluations in controlled conditions were performed in the interspecific genotypes. The results show some interspecific hybrids with the desired characteristics of self-compatibility alleles and sharka tolerance together with new fruit typologies with an attractive skin and flesh color and different valued organoleptic characteristics.

1. Introduction

Plum species, including Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) and European plum (*Prunus domestica* L.), are temperate tree fruits of paramount importance. Plums are the second most important stone fruits after peaches [*Prunus persica* (L.) Batsch], with an average production of 11.5 Mt (FAO, 2022). Japanese plum originated in China, where it was first cultivated for several thousand years and then introduced into Japan more than two thousand years ago (Yoshida, 1987; Faust and Surányi, 1998). In the late 19th century, it was introduced into California (USA) from Japan, where Luther Burbank started modern plum breeding by crossing it with other diploid plums such as *P. americana* Marshall, *P. hortulana* L. H. Bailey, *P. munsoniana* W. Wight & Hedrick and *P. simonii* Carrière to enhance its adaptation to local environments. Burbank's efforts led to the creation of several cultivars, including 'Santa Rosa', 'Beauty', 'Eldorado', and 'Burbank', among others, which were spread from California to temperate zones around the world in the 20th century (Burbank, 1914; Faust and Surányi, 1998; Topp et al., 2012). Some of these cultivars were further intercrossed with other local plum

species such as *P. americana*, *P. angustifolia* Marshall, *P. nigra* Aiton and *P. pumila* var. *besseyi* (L. H. Bailey) Waugh in the United States and *P. cerasifera* Ehrh. in South Africa and Australia. As such, the term "Japanese plum" thus refers to a heterogeneous group of interspecific hybrids derived from crosses involving up to 15 different *Prunus* species, rather than a pure species (Okie, 2006; Topp et al., 2012; Karp, 2015). Burbank also bred hybrids between Japanese plum and apricot, called "plumcots" (Roeding, 1908). The creation of plumcots occurred more than 100 years ago (Hedrick, 1911; Howard, 1945; Topp et al., 2012), but the first ones were not commercially viable due to very low productivity and high acidity (Ledbetter et al., 1994; Okie, 2005; Jun and Chung, 2007). The first generation of hybrid seedlings exhibited characteristics such as pubescent skin from the apricot and a variable fruit size, shape, color, flavor and firmness (Ledbetter et al., 1994; Jun et al., 2009). Through backcrossing between plumcots, apricots and Japanese plums, varieties of greater commercial interest have been obtained (Topp et al., 2012). The Zaiger Genetics breeding program registered the terms "pluot" and "aprium" in 1991—the results of crossing plumcot × plum (75% plum and 25% apricot) and plumcot ×

* Corresponding author.

E-mail address: mnicolas@cebas.csic.es (M. Nicolás-Almansa).

apricot (75% apricot and 25% plum), respectively (Brantley, 2004).

Japanese plum has certain problems that make it difficult to grow. Up to now, there have been very few self-compatible Japanese plum cultivars and a lack of resistance to sharka disease (plum pox virus, PPV) (Rubio et al., 2011a). These two traits (self-compatibility and sharka resistance) are two of the principal aims of Japanese plum breeding programs around the world, including the Centro de Edafología y Biología Aplicada del Seguro-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEBAS-CSIC) and Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA) program in Murcia (Spain) (Ruiz et al., 2019). Unlike the case of the Japanese plum, apricot breeding has achieved self-compatibility in many varieties as well as a significant number of varieties resistant to sharka (Rubio et al., 2014). In apricot species, marker-assisted selection for floral self-compatibility and resistance to sharka is used routinely. It is possible to determine the self-compatibility (SC) allele using the AprFBC8 marker (Halász et al., 2010). For sharka resistance, the PGS1.21 marker (Soriano et al., 2012; Rubio et al., 2019)—and more recently, the ParPMC2 marker (Zuriaga et al., 2018; Polo-Oltra et al., 2020)—make it possible to identify genetically resistant genotypes.

Interspecific hybridization is a potential strategy used in breeding programs with the aim of transferring interesting genes from one species to another. However, interspecific hybrids are more difficult to obtain within the *Prunus* genus (Perez and Moore, 1985). The great genetic distance between parents increases the genetic barriers to hybridization (Okie, 2005; Morimoto et al., 2019). This results in poor fruit set with many aborted fruits and a very low yield compared to standard intra-specific crosses. The compatibility of cross-breeding between Japanese plum, myrobalan plum, apricot and plumcot depends on the direction of the cross, and using *P. salicina* as the maternal parent presents more satisfactory results than other species (Yoshida et al., 1975; Jun and Chung, 2007; Szymajda et al., 2015; Yaman and Uzun, 2020, 2022).

Since the 1980s, the plumcot has provided a relatively new type of fruit that combines the horticultural and market characteristics of apricots and Japanese plum species (Okie et al., 1992). Over the last 40 years, new plumcot cultivars have been released and exhibit different fruit morphologies, including fruit size, skin and flesh color, and post-harvest characteristics. These new plumcot cultivars have been extensively developed from interspecific crosses in breeding programs in the US (Gómez and Ledbetter, 1993; Ledbetter et al., 1994; Okie and Ramming, 1999; Okie, 2005); Korea (Jun et al., 2011; Nam et al., 2016; Kwon et al., 2020); Bulgaria (Zhivondov, 2012); and China (Niu et al., 2015).

The previously released plumcot genotypes have been extensively characterized from a horticultural level, including at the phenological and pomological levels. In terms of molecular characterization and genetic diversity, however, previous works have primarily focused on Japanese plum cultivars (Boonprakob et al., 2001; Qiao et al., 2007; Klabunde et al., 2014; Merkouropoulos et al., 2017; Abdallah et al., 2019; Guerrero et al., 2021). Scarce work has been done on interspecific hybrids. Moreover, this paucity is compounded by the lack of information on their pedigree and hybrid classification (plumcot, pluot, aprium) due to the confidential nature of private breeding programs, which hinders study (Ahmad et al., 2004; Guerrero et al., 2022). As far as we know, no detailed molecular characterization and PPV evaluations of plumcots generated in breeding programs have been carried out. Despite the high number of plumcots already released, none of them has both sharka resistance and self-compatibility.

In this context, interspecific crosses between Japanese plums and self-compatible, sharka-resistant apricot (*P. armeniaca* L.) cultivars have been performed in recent years at the CEBAS-CSIC-IMIDA breeding program in Murcia (Spain) in order to obtain resistant and self-compatible interspecific plumcots. The objective of this work was to evaluate the phenotypic behavior of the newly obtained plumcot genotypes, including the phenological, floral and fruit quality traits. As an

original contribution, this work also includes PPV-resistance phenotyping, as well as a molecular characterization and the determination of S-haplotypes through PCR analysis.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

The plant material used in this work included seedlings obtained by interspecific crosses between Japanese plum cultivars and self-compatible, sharka-resistant apricot cultivars, and their progenitors (Table 1). Crosses were performed as part of the Japanese plum breeding program developed jointly by CEBAS-CSIC and IMIDA of Murcia (Spain). A total of 30 interspecific crosses have been evaluated in this work, obtaining a variable number of offspring per cross, clustered in 16 combinations using *P. salicina* Lindl. as mother parent and another 14 using *P. armeniaca* L. (Table 2). Seeds obtained from the crosses were germinated by embryo rescue following the protocol described by Perez-Jimenez et al. (2021). This technique is widely used to overcome post-zygotic barriers/incompatibilities in interspecific hybridizations in *Prunus* (Liu et al., 2007; Morimoto et al., 2019; Sallom et al., 2021). The seedlings were acclimatized in pots in a greenhouse before being planted in the field. The offspring and their genitors were cultivated in the same experimental orchard located in Calasparra (Murcia, southeastern Spain; lat. 38°16'N, long. 1°35'W; 350 m altitude) following standard Japanese plum orchard management.

2.2. DNA extraction and SSR characterization

Young leaves were collected in spring and stored at -80°C before DNA isolation, which was carried out according to a modification of the CTAB method described by Doyle and Doyle (1987). A NanoDrop™ND-1000 spectrophotometer (Bio-Science, Hungary) was used to analyze the quantity and quality of DNA. SSR analysis was carried out to perform an initial screening and confirm the interspecific nature. The SSRs PGS1.21 (Soriano et al., 2012), CPSCT005 (Mnejja et al., 2004), and BPPCT010 (Dirlewanger et al., 2002) were selected for PCR, due to their high polymorphism in the parents involved in the crosses. In addition, a total of 17 SSR markers developed in peach, apricot and Japanese plum were used (Tables 3 and S1) to achieve a complete molecular characterization in the verified interspecific hybrids and their parents. SSR amplifications from most markers were analyzed in an ABI Prism 3130xl automated sequencer, and the size of the segregating alleles of some of the markers was analyzed using GeneTools gel analysis software from SYNGENE (Beacon House, Cambridge, UK). PCRs were performed in a SimpliAmp™ Thermal Cycler (ThermoFisher, USA) under the following conditions: an initial denaturation for 2 min at 95°C , followed by 35 cycles of 30 s at 95°C , 30 s at 57°C , 30 s at 72°C , and a final extension of 5 min at 72°C . PCR products were electrophoresed in 3% (w/v) Metaphor® Agarose gels (Fig. 1A), and DNA bands were visualized under UV transilluminator. The molecular sizes of amplified fragments were estimated using a 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™, Life Technologies, Spain).

2.3. Genetic diversity evaluation and phylogenetic analysis

The data of alleles generated by SSR markers were used to estimate genetic diversity parameters. For each microsatellite locus, GENALEX software version 6.51 (Peakall and Smouse, 2012) was used to calculate the number of alleles per locus (N_A) and size range and to estimate the expected genetic heterozygosity (H_e), observed heterozygosity (H_o) and polymorphism information content (PIC). Expected heterozygosity for each marker was calculated as $H_e = 1 - \sum p_i^2$ where p_i is the frequency of the i th allele, $\text{PIC} = 1 - \sum p_i^2 - \sum (2 p_i^2 \cdot p_j^2)$ and observed heterozygosity (H_o) the number of heterozygous genotypes divided by the total number of genotypes. In addition, the power of discrimination (PD) of each SSR

Table 1

Pedigree, origin and main agronomic characteristics (self-compatibility, flowering and ripening time, skin and flesh color and PPV resistance) of the apricots and Japanese plum cultivars used in the interspecific crosses with verified interspecific hybrids. SC: self-compatible; SI: Self-incompatible; R: PPV resistant; S: PPV susceptible.

	Pedigree	Origin	Self-compat.	Flowering	Ripening	Skin colour	Flesh colour	PPV
<i>Apricot</i>								
Mirlo Anaranjado	Rojo Pasión × Búldia Precoz	Spain	SC	Early	Early	Light orange (Red)	Orange	R
Rojo Pasión	Orange Red × Currot	Spain	SC	Medium	Early-Medium	Orange (Red)	Light Orange	R
(1001) 5-26	(Orange Red × Currot) × OP	Spain	SC	Early	Early		Orange	R
<i>Japanese plum</i>								
Red Beaut	Eldorado × Burmosa	USA	SI	Early	Early	Red	Yellow	S
Black Splendor	Black Amber × OP	USA	SI	Very Early	Early	Black	Red	S
Honey Dawn	Unknown	South Africa	SI	Early	Early	Yellow	Yellow	S
0716-5	0112-11 × OP	Spain	SI	Early	Early	Red	Light Red	S
0112-11	Black Splendor × OP	Spain	SI	Very Early	Early	Black	Red	S
0614-5	Black Splendor × OP	Spain	SI	Very Early	Very Early	Red	Light Red	S

Table 2

Interspecific crosses performed and evolution of the plants obtained during the process of *in-vitro* germination, acclimatization in pots, planting in the field and verification of their interspecific nature by SSR markers. The percentage of interspecific success is shown in parentheses.

Crosses	N° seeds obtained	N° plants in field evaluated	N° interspecific verified
<i>Apricot × plum</i>			
Rojo Pasión × 0716-5	64	41 (64)	0 (0)
Rojo Pasión × Black Splendor	244	41 (17)	0 (0)
Rojo Pasión × Santa Rosa	251	27 (11)	0 (0)
Rojo Pasión × Pioneer	69	21 (30)	0 (0)
Mirlo Anaranjado × 0716-5	128	6 (5)	0 (0)
Mirlo Anaranjado × Black Splendor	109	11 (10)	0 (0)
Mirlo Anaranjado × Pioneer	146	34 (23)	0 (0)
Mirlo Anaranjado × 0716-6 Mirlo Anaranjado × Santa Rosa	147	9 (6)	0 (0)
Precoz	87	5 (6)	0 (0)
Mirlo Anaranjado × Honey Dawn	91	12 (13)	0 (0)
Mirlo Anaranjado × 0716-5	89	39 (44)	0 (0)
CEBAS-57 × Pioneer	15	0 (0)	0 (0)
CEBAS-57 × Santa Rosa Precoz	21	9 (43)	0 (0)
CEBAS-57 × 0716-6	20	2 (10)	0 (0)
CEBAS-57 × Honey Dawn	21	2 (10)	0 (0)
(1001) 5-26 × Black Splendor	2	1 (50)	0 (0)
Total	1504	260 (17)	0 (0)
<i>Plum × apricot</i>			
Red Beaut × Rojo Pasión	158	16 (10)	2 (13)
Red Beaut × Mirlo Anaranjado	460	81 (18)	5 (6)
Red Beaut × (1001) 5-26	123	18 (15)	1 (6)
Black Splendor × Mirlo Anaranjado	109	47 (43)	6 (13)
Black Splendor × Rojo Pasión	351	6 (2)	0 (0)
Black Splendor × (1001) 5-26	1	1 (100)	0 (0)
Black Splendor × CEBAS-57	34	19 (56)	0 (0)
Honey Dawn × CEBAS-57	131	92 (70)	0 (0)
Honey Dawn × Mirlo Anaranjado	43	37 (86)	2 (5)
0716-5 × Rojo Pasión	1	1 (100)	1 (100)
0413-1 × Mirlo Anaranjado	10	0 (0)	0 (0)
0614-5 × Mirlo Anaranjado	21	16 (76)	14 (88)
0112-11 × Mirlo Anaranjado	48	3 (6)	2 (67)
1112-166 × Mirlo Anaranjado	35	15 (43)	0 (0)
Total	1525	352 (23)	33 (9)

Apricot × plum
Rojo Pasión × 0716-5

marker was calculated as $PD = 1 - \sum g_i^2$ as g_i^2 is the frequency of the i^{th} genotype. The genetic relationships among plums, apricots and their hybrids were determined using a Neighbor-Joining (NJ) cluster analysis (Saitou and Nei, 1987). Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software (Tamura et al., 2021) was used to calculate the distance analysis and to construct NJ dendrograms. Relative support for the branches in each dendrogram was assessed with 2000 replicates of bootstrap. The genetic distance was computed using the p-distance method.

2.4. Determination of S-haplotypes through PCR analysis and pollen viability

S-allele amplification was carried out using three pairs of consensus primers. PaConsIF-PaConsIR2 (Sonneveld et al., 2006) and PruC2-PCER (Tao et al., 1999; Yamane et al., 2001) are specific for the S-RNase first and second introns respectively, while the specific primer pair AprFBC8-F-AprFBC8-R (Halász et al., 2010) allows for the identification of the Sc allele associated with self-compatibility in apricot, by amplifying a fragment of approximately 500 bp from the V2 and HVb variable regions of the *SFB* gene. A PCR amplification of S-RNase first intron (PaConsIF-PaConsIR2) was made in a total volume of 20 µl, containing 1X GoTaq® Flexi Buffer, 1 mM MgCl₂, 0.2 mM of each dNTP, 0.2 µM of each primer, 90 ng of genomic DNA and 1U of GoTaq® DNA Polymerase (Promega). The PCR conditions used had an initial step of 3 min at 95 °C, 35 cycles of 1 min at 95 °C, 30 s at 57 °C and 3 min at 72 °C, and a final step of 7 min at 72 °C. Amplified PCR products were separated by electrophoresis on 3% (w/v) Metaphor Agarose gel and analyzed on an ABI Prism 3130xl automated sequencer to identify the size of the alleles that had not been previously identified in other studies. A PCR amplification of the S-RNase second intron (PruC2-PCER) was done in a total volume of 10 µl, containing 1X PCR Buffer, 2 mM MgCl₂, 0.4 mM of each dNTP, 0.6 µM of each primer, 1X Q-Solution (Qiagen), 90 ng of genomic DNA and 5 U/µl of Qiagen® Taq DNA polymerase. The PCR conditions used had an initial step of 2 min at 94 °C, 10 cycles of 10 s at 94 °C, 2 min at 58 °C and 2 min at 68 °C, 25 cycles of 10 s at 94 °C, 2 min at 58 °C and 2 min at 68 °C with the addition of 10 s/cycle, and a final step of 10 min at 68 °C. Amplified PCR products were separated by electrophoresis on 0.7% (w/v) agarose gel. A PCR amplification of the *SFB* gene by AprFBC8-F-AprFBC8-R was done in a total volume of 15 µl containing 1X Reaction Buffer (Biotools, Spain) with the final concentrations of 2 mM MgCl₂, 0.5 mM of each dNTP, 0.2 µM of each primer, 90 ng of genomic DNA and 8 mU/µL of Biotools® DNA polymerase. The PCR conditions used had an initial step of 3 min at 95 °C, 35 cycles of 30 s at 95 °C, 1 min 30 s at 55 °C and 2 min at 72 °C, and a final step of 5 min at 72 °C. Amplified PCR products were separated by electrophoresis on 1% (w/v) agarose gel.

In addition, pollen grains from the assayed plumcot genotypes were germinated *in vitro* to test their viability. Pollen grains were obtained from flowers collected at the balloon stage, collecting the anthers, drying it and later spreading it on a germination medium formed by 15% sucrose and 1.2% agar. After being cultured for 6–8 h at 22 °C, the germinated pollen was counted and the germination percentage was calculated considering that pollen grains are viable when the length of the growing tube was higher than the pollen grain diameter.

S-allele amplification was carried out using three pairs of consensus primers. PaConsIF-PaConsIR2 (Sonneveld et al., 2006) and PruC2-PCER (Tao et al., 1999; Yamane et al., 2001) are specific for the S-RNase first

Table 3

Genetic diversity parameters of 33 interspecific hybrid genotypes, 6 Japanese plum genotypes and 3 apricot genotypes using 17 SSR markers. Linkage Group (LG), Number of alleles (N_A), allele size, Polymorphism Information Content (PIC), Observed heterozygosity (H_o), Expected heterozygosity (H_e) and Power of Discrimination (PD).

Ref.	Species	SSR marker	LG	N_A	Alleles (pb)	PIC	H_o	H_e	PD
Cipriani et al., 1999	<i>P. persica</i>	UDP96-005	2	8	106-167	0.75	0.88	0.75	0.72
Dirlewanger et al., 2002	<i>P. persica</i>	BPPCT001	2	4	122-189	0.65	0.90	0.65	0.70
		BPPCT007	3	6	113-174	0.69	0.81	0.69	0.77
		BPPCT010	4	5	115-168	0.71	0.90	0.71	0.79
		BPPCT025	6	6	160-195	0.72	0.95	0.72	0.82
		BPPCT039	3	7	130-198	0.64	0.83	0.64	0.51
García-Gómez et al., 2018	<i>P. armeniaca</i>	CA-RISO	4	7	120-146	0.71	0.93	0.71	0.73
		GER-SIN	4	5	200-227	0.60	0.92	0.76	0.83
		MADS-BOX	3	8	201-238	0.77	0.95	0.77	0.87
		MET-T	4	6	131-172	0.68	0.93	0.68	0.70
		MYB-TF	3	7	239-263	0.73	0.90	0.73	0.81
		PruDest-2	8	3	249-259	0.29	0.90	0.54	0.34
		PSPD1	4	4	219-270	0.58	0.86	0.62	0.70
		UPDAR	3	7	161-231	0.79	0.93	0.79	0.86
Mnejja et al., 2004 Soriano et al., 2012	<i>P. salicina</i>	CPSCT005	3	7	161-231	0.79	0.93	0.79	0.86
	<i>P. armeniaca</i>	PGS1.21	4	5	166-226	0.69	0.86	0.69	0.77
		PGS1.24	1	6	101-139	0.75	0.95	0.75	0.81
Mean				8		0.80	0.90	0.80	0.87

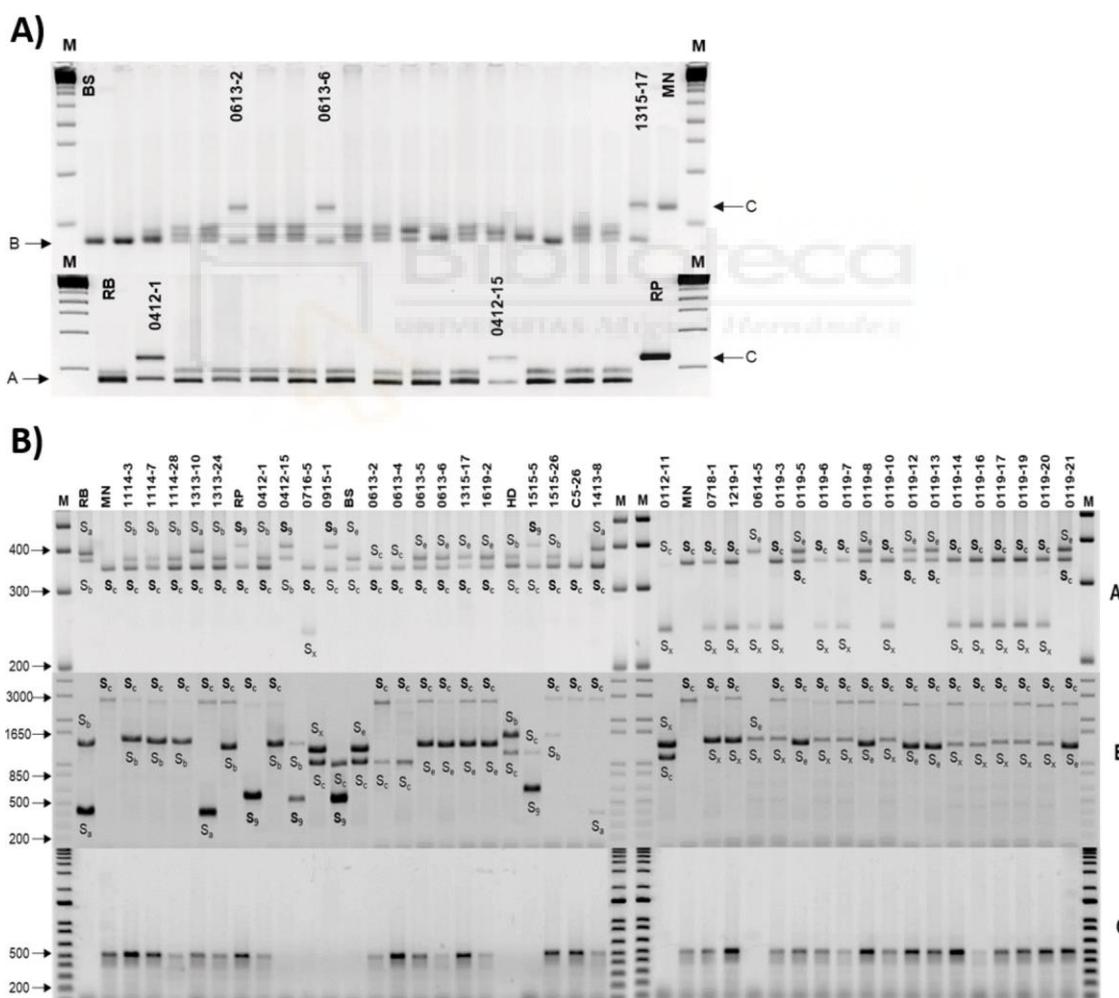


Fig. 1. (A) Metaphor® Agarose gel showing the allelic segregation of the microsatellite locus CPSCT005, sequenced from Japanese plum, in the intercross *P. salicina* × *P. armeniaca*. Some of the identified plumcots are shown in those gels (0412-1, 0412-15, 0613-2, 0613-6, 1315-17-). The arrows point to the parental alleles, and those are identified by letters (A, B and C). RB and BS are the female parent, while RP and MN are the male parent of the crossings. (B) S-PCR analysis of apricot, Japanese plum and plumcot genotypes by consensus primers amplifying the first (A) and second (B) introns of Prunus S-RNase gene and amplification of SFBc (C) from apricot using specific primers. M: Marker kb+ ladder; Red Beaut (RB), Mirlo Anaranjado (MN), Rojo Pasión (RP), Black Splendor (BS), Honey Dawn (HD), (1001) 5-26 (C5-26). Alleles in bold are from apricot.

2.5. Evaluation of horticultural traits

Phenological, morphological and fruit quality traits were evaluated on the verified interspecific hybrids for four consecutive years (2017–2020). Flowering time (FT) was evaluated every 3–4 days and recorded in the field in stage 65 according to the international BBCH scale (Meier et al., 1994), when 50% of flowers were opened (F_{50}). Flowering intensity (FI) was measured on a scale of 0 (null) to 3 (maximum). The ripening date (RD) was determined when the fruit had an appropriate firmness and color, at physiological maturity stages, and the productivity (P) was registered with a score of 0 (null) and 5 (maximum). Both FT and RD were evaluated in Julian days (natural days from January 1). The fruit developmental period (FDP) was considered as the difference between FT and RD. The presence/absence of pubescence of gynoecium (PUB) and chalice color (CC) were evaluated by observation. Certain fruit quality traits were also analyzed, distinguishing between physical traits [fruit weight (FW), stone weight (SW), adherence of stone to flesh (AD), skin color (SC), flesh color (FC), and firmness (F)] and biochemical traits [soluble solids content (SSC), acidity (A) and pH]. FW and SW were measured using a Blauscal digital balance (model AH-600) with an accuracy of 0.01 g. Fruit color (SC and FC) was measured using a Minolta Chroma Meter (CR-300; Minolta, Ramsey, NJ, USA) tristimulus color analyzer calibrated to a white porcelain reference plate using a CIELAB scale with color space co-ordinates L^* , a^* and b^* . To assess color, we used the Hue angle [$H^* = \arctangent(b^*/a^*)$] parameter, which was determined around the equatorial region (Brown and Walker, 1990). F was quantified in Newton (N) by a texture analyzer (TA.XT plus, Texture Technologies, Hamilton, MA, USA) using a 75 mm cylinder and compressing to a Depth of 5 mm. SSC was determined using a digital ATAGO® hand-held refractometer calibrated as the percentage of sucrose at 20 °C. A was determined by acid-base titration using 2 g of sample diluted in 30 ml of distilled water as malic acid grams per 100 ml.

2.6. Plum pox virus (PPV) resistance evaluation

The molecular evaluation of PPV resistance was performed using the SSR marker PGS1.21, which is tightly linked to PPV resistance in apricot (Soriano et al., 2012) and previously described as inside the PPVres locus (Zuriaga et al., 2013). A gene with allelic variants linked in coupling to PPV resistance called *ParPMC2* has recently been identified by Zuriaga et al. (2018). *ParPMC2* resistant (R) and susceptible (S) alleles were amplified using two forward specific primers (PMC2-F-alleleR: 5'-GTCATTTTCATTGATGTCATTCA-3', or PMC2-F-alleleS: 5'-GTCGTTTTTCATTGATGTCCAAAC-3', respectively) and one common reverse primer (PMC2-R: 5'-GTGCTCTTTCACATTCTTGCTC-3'). PCR amplification of the PGS1.21 marker was done as described above, and *ParPMC2* PCRs were performed in a total volume of 20 µl containing 0.5X GoTaq® Flexi Buffer, 0.2 mM of each dNTP, 0.5 µM of each primer, 1.87 mM MgCl₂, 75 ng of genomic DNA and 1U of GoTaq® DNA Polymerase (Promega). The *ParPMC2* PCR conditions were as follows: initial denaturation step at 95 °C for 5 min; 35 cycles of denaturation at 95 °C for 30 s, annealing at 55 °C for 45 s, extension at 72 °C for 45 s, followed by a final extension step at 72 °C for 10 min. The PCR products were electrophoresed on 1% (w/v) agarose gels. Due to the lack of knowledge of the mode of inheritance of PPV resistance in interspecific Japanese plum-apricot hybrids, and because the current set of markers based on the single resistance locus is not sufficient to predict resistance to PPV, resistance of the plumcot genotypes was evaluated for 3 phenotyping cycles in controlled conditions in a scaled greenhouse located in the experimental facilities of CEBAS-CSIC in Murcia (Spain).

The *Prunus insititia* L. 'Adesoto 101' was used as rootstock for grafting the plumcots to be evaluated. This rootstock was chosen because of its high susceptibility to PPV (Rubio et al., 2005). The PPV isolate used as inoculum was 3.30RB/GF-IVIA (GenBank: KJ849228.1), a Dideron Type (PPV-D) isolate, obtained from Japanese plum in Spain maintained in

the PPV collection of the Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) in Valencia (Spain). This isolate is considered to be representative of the Spanish PPV population. Six replicates of each genotype were grafted onto 'Adesoto' rootstocks previously inoculated by grafting with a piece of bark (chip-budding) from another 'Adesoto' with strong sharka symptoms. The presence of symptoms in the rootstock and the plumcot leaves was scored from 0 (no symptoms) to 5 (maximum intensity of symptoms) two months after putting the plants in the greenhouse (Martínez-Gómez and Dicenta, 2000; Rubio et al., 2013). Only plants whose rootstocks showed sharka symptoms were considered for the evaluation process. In each cycle, plants without symptoms were reinoculated after symptom observation. An ELISA-DASI (double antibody sandwich indirect) test was applied to the leaves to detect PPV's coat protein (CP) using monoclonal antibodies 5B-IVIA® (Plant Print Diagnostics SL, Valencia, Spain) specific to the CP of PPV (Cabra et al., 1994). Optical densities (OD) were recorded at 405 nm after 60 min, and samples with an OD less than twice that of the healthy control were considered negatives (Sutula et al., 1986). For the detection of PPV RNA, an RT-PCR analysis was carried out using total RNA extracted from the same leaves of the ELISA-DASI using an adapted CTAB method for plants described in Tong et al. (2012). Two specific primers within the CP gene—VP337 (CTCTGTGCTCTTCTTGTG), complementary to positions 9487–9508 of genomic PPV, and VP338 (CAATAAAGCCATTGTTGGATC), homologous to positions 9194–9216—were assayed (Sanchez-Navarro et al., 2005). Amplified products were electrophoresed on 1% (w/v) agarose gel. A 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen™, Life Technologies, Spain) was used as molecular weight standard.

3. Results

3.1. Interspecific hybrid verification using SSR markers

A total of 3029 seeds were obtained from interspecific crosses, including 1525 using Japanese plums as the female parent and 1504 using apricot as the female parent (Table 2). However, due to losses during germination, acclimatization, and subsequent planting in the field, only 612 genotypes (20.2%) could be evaluated. The verification of the interspecific nature of the offspring obtained using SSRs is shown in Table 2. The screening by SSR markers of the 612 genotypes generated by interspecific crossings clearly identified a total of 33 interspecific hybrids (Table 2). The 5.4% of verified interspecific hybrids shows the difficulty in obtaining plumcots, underscoring the technical challenges associated with this process. This finding highlights the need to improve the hybridization protocol. If we consider the total number of obtained seeds, the results are even worse, with only 1.1% plumcots obtained. All plumcots came from crosses in which Japanese plum was the female parent and apricot the male parent, suggesting that hybridization efficiency depends on the crossing-over direction. An example of the molecular identification of interspecific hybrids with the CPSC005 marker is shown in Fig. 1A, where only the interspecific individuals showed the alleles from parents used in the cross, and the remaining genotypes were escapes.

The genetic profiles of each genotype are included in Supplementary Table S1. Most of the SSR markers used in this work allow for early marker-assisted selection (MAS) to distinguish interspecific hybrids from possible escapes resulting from controlled pollination. However, some inconsistencies were detected in some markers. Most of the plumcot hybrids only segregate apricot alleles, except for '0412-1', '0412-15', '1413-8' and '1515-5' for BPPCT039 and '0915-1' for UDP96-005, which also have plum alleles. On the other hand, '0613-4', '0915-1' and '1515-5' genotypes have an allele of 181 bp for the PGS1.21 marker that does not match with any alleles of their apricot genitor.

3.2. Plumcot genetic diversity and cluster analysis

All the SSR markers used in this study showed a correct amplification and turned out to be polymorphic in the analysis of 33 interspecific Japanese plum × apricot hybrids and their nine genitors. A total of 102 alleles were amplified using 17 SSR primers, ranging from 3 (PruDest-2) to 8 (MADS-BOX, PGS1.24 and UDP96-005) alleles per locus, with an average value of 6. All the SSR loci were polymorphic. The smallest allele was obtained with the SSR marker PGS1.24 (101 bp) and the largest one with PruDest-2 (280 bp). Polymorphism Information Content (PIC) values ranged between 0.29 (PruDest-2) and 0.80 (PGS1.24), with an average of 0.68 per locus; the PruDest-2 marker was thus slightly informative and the rest highly informative (Botstein et al., 1980). The observed heterozygosity values (Ho) ranged from 0.81 (BPPCT007) to 0.95 (BPPCT025, MADS-BOX and PGS1.21), with an average value of 0.81, whereas the expected heterozygosity (He) ranged from 0.54

(PruDest-2) to 0.80 (PGS1.24), with a mean value of 0.71 (Table 3).

Fig. 2 shows the phenotypic relationships among the different genotypes assayed. The NJ dendrogram showed two main clusters: one big cluster (I) with all the interspecific hybrids and apricots, and another cluster (II) with plums. The results showed significant differences between the plumcots and the species from which they originated, although a greater similarity of the plumcots with the apricots was found than with the plums. Plumcots from the same cross are grouped together.

3.3. Identification of self-compatibility alleles and pollen viability

PCR analysis using primers from conserved regions of S-RNase of sour cherry (*P. cerasus*) and sweet cherry (*P. avium*), and a specific primer of SFBc in apricot, was used to identify the S-haplotypes of plumcot hybrids and their genitors (Fig. 1B). Cultivars with known S-

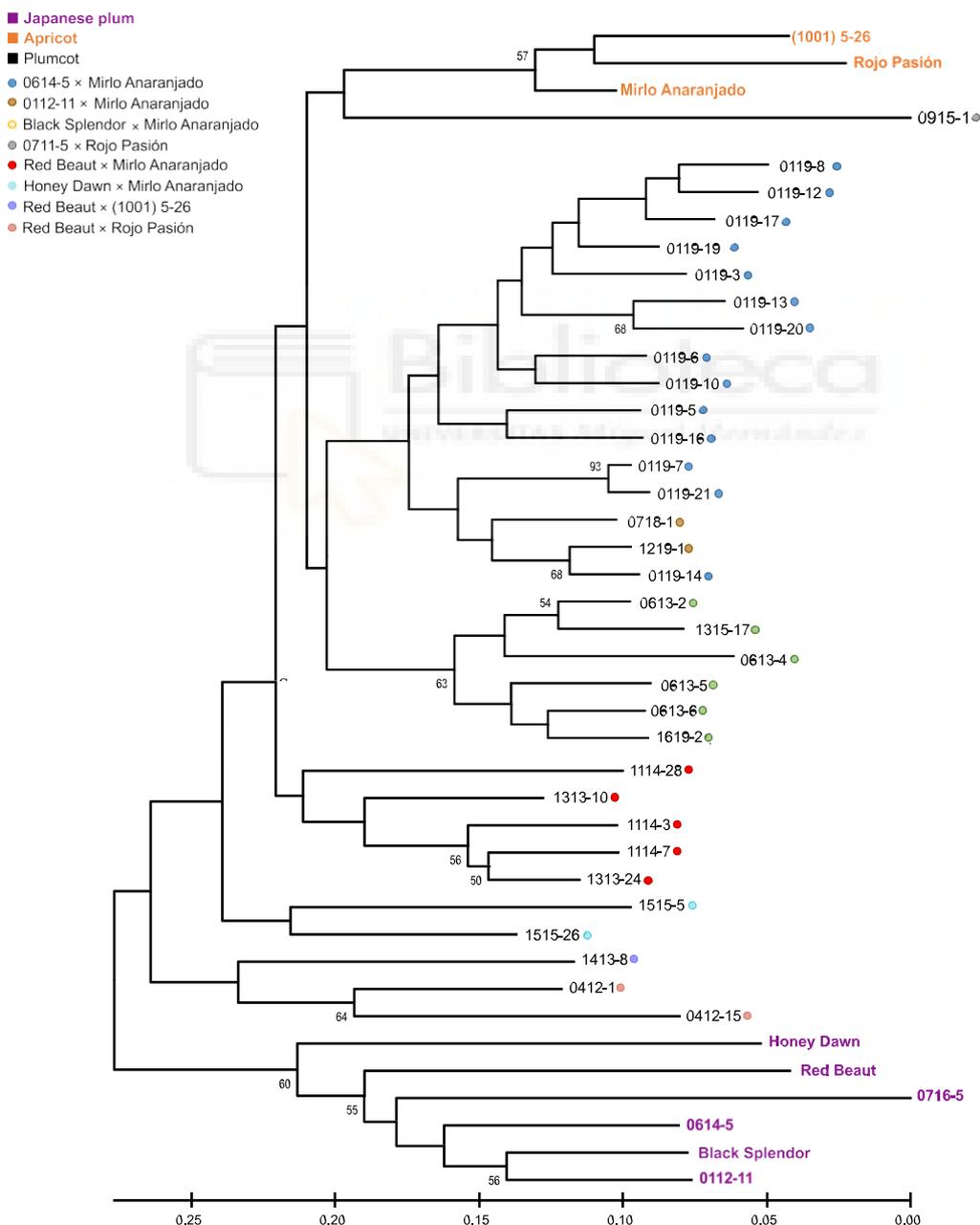


Fig. 2. NJ cluster analysis of plum, apricot and interspecific plumcot hybrids based on the SSR characterization created from 2000 bootstrapping values >50% were placed on the branches. Colored points indicated the different interspecific families assayed.

alleles were used to confirm the size of S-RNase alleles previously identified (S_a - S_c in plums and S_c - S_9 in apricots) using primer pairs PaConsI-PaConSIR2 and PruC2-PCER. Seven different alleles were amplified from the genitors, two from apricot (S_c and S_9) and five from Japanese plum (S_a , S_b , S_c , S_e and S_x) (Table 4). The plum genitors '0716-5', '0614-5' and '0112-11', and some genotypes of their offspring, showed fragments with 237 and 1166 sizes for the first and second intron, respectively, that have not yet been identified. Such fragments of different sizes from those already described in Japanese plum have been considered as a new allele, named S_x in this work (Table S2). Using PaConSI-PaConSIR2 primers, we were able to distinguish between the S_e allele and the new S_x allele in Japanese plum, since amplification of the second intron produced a band of the same size between them (Table S2). The plumcots were placed in incompatibility groups distinct from those described in both Japanese plum and apricot based on their mixture of alleles from both species. From the 33 interspecific genotypes evaluated, seven new haplotypes were identified in plumcots (S_aSc , S_cSc , S_bS_9 , S_cSc , S_cS_9 , S_eSc and S_xSc) (Table 4). Three plumcots did not segregate the apricot S_c allele (Table 4). The rest of the interspecific hybrids inherited the S_c allele, which confers self-compatibility in apricot (Vilanova et al., 2006), so a priori they should be self-compatible genotypes.

The studies of pollen viability determined the androsterility of all

Table 4

S-genotype of the apricots, plums and plumcots generated in this study. S alleles in bold are from apricot.

Pedigree	Genotype	S-genotype
<i>Prunus armeniaca</i> L.		
Rojo Pasión × Búldida precoz	Mirlo Anaranjado	$S_c S_c$
Orange Red × Currot	Rojo Pasión	$S_c S_9$
(Orange Red × Currot) × OP	(1001) 5-26	$S_c S_c$
<i>Prunus salicina</i> Lindl.		
Eldorado × Burmosa	Red Beaut	$S_a S_b$
Black Amber × OP	Black Splendor	$S_c S_c$
Unknown	Honey Dawn	$S_c S_b$
0112-11 × OP	0716-5	$S_c S_x$
Black Splendor × OP	0112-11	$S_c S_x$
	0614-5	$S_c S_x$
<i>P. salicina</i> × <i>P. armeniaca</i>		
Red Beaut × Mirlo Anaranjado		
	1114-3	$S_b S_c$
	1114-7	$S_b S_c$
	1114-28	$S_b S_c$
	1313-10	$S_a S_c$
	1313-24	$S_b S_c$
Red Beaut × Rojo Pasión	0412-1	$S_b S_c$
	0412-15	$S_b S_9$
Black Splendor × Mirlo Anaranjado	0613-2	$S_c S_c$
	0613-4	$S_c S_c$
	0613-5	$S_c S_c$
	0613-6	$S_c S_c$
	1315-17	$S_c S_c$
	1619-2	$S_c S_c$
Honey Dawn × Mirlo Anaranjado	1515-5	$S_c S_9$
	1515-26	$S_b S_c$
Red Beaut × (1001) 5-26	1413-8	$S_c S_c$
0716-5 × Rojo Pasión	0915-1	$S_c S_9$
0112-11 × Mirlo Anaranjado	0718-1	$S_c S_c$
	1219-1	$S_x S_c$
	0119-3	$S_x S_c$
	0119-5	$S_c S_c$
	0119-6	$S_x S_c$
0614-5 × Mirlo Anaranjado	0119-7	$S_x S_c$
	0119-8	$S_c S_c$
	0119-10	$S_x S_c$
	0119-12	$S_c S_c$
	0119-13	$S_c S_c$
	0119-14	$S_x S_c$
	0119-16	$S_x S_c$
	0119-17	$S_x S_c$
	0119-19	$S_x S_c$
	0119-20	$S_c S_c$
	0119-21	$S_c S_c$
	1114-3	
	1114-7	$S_b S_c$

plumcot genotypes. These results suggest that interspecific hybridization causes androsterility in the offspring.

3.4. Evaluation of horticultural traits

The data obtained about phenological and floral traits are shown in Table 5. Only 12 of the 33 obtained plumcots had been able to flower so far, and two of them did not present any production. The plumcots that flourished had a gynoeceum with pubescence on the ovary, characteristic of apricot fruit, and pink or pinkish-green variegated sepals, unlike plum, which have green sepals. A greater number of abnormal multipistil flowers were detected in the hybrids, with up to four pistils. The hybrids had leaves with an intermediate shape between apricot and plum, with some leaves more oval and similar to apricot and others with a more elliptical shape typical of plum (Fig. 3). In contrast to their parents, all interspecific genotypes showed a lower and more erratic level of flowering and productivity (Table 5). The genotype with the highest flowering intensity was '1413-8' with a mean value of 1.4 (scale 0-3), and the hybrid with the highest productivity was '1313-10'. On the other hand, the hybrid '0613-4' had the earliest flowering time, although it had the lowest flowering intensity and has not produced fruit yet. Compared to their genitors, most interspecific hybrids showed delayed flowering time and intermediate values for ripening, resulting in a shorter fruit development period than their genitors.

As for the physical characteristics of the fruit (Table 6), the genotypes showed a wide variability in size and skin and flesh color (Fig. 3). Fruit size varied from 77.1 g for '0613-5'—the only genotype that exceeded its parents in size—to 20.7 g for '1515-5', which had the smallest fruit. All plumcot hybrid fruits had pubescent skin. The majority of plumcot hybrids exhibited stone adherence to the flesh, a characteristic inherited from their Japanese plum progenitors: four plumcots were clingstone and three were semi-clingstone. The only freestone genotypes, like apricot, were '0412-15', '0613-5' and '0613-6'. Most of the plumcots obtained had a purplish-reddish skin color, characteristic of Japanese plum, except for genotypes '1114-28' and '1515-5', which were orange and yellow, respectively. The plumcot with the most striking flesh color was '0613-5', which had an intense red color similar to its genitor 'Black Splendor'. The maximum fruit firmness was in genotype '1114-7', with 54.5 N, and '0613-5' had the highest soluble solids content, with 15.6 °Brix. All plumcots, except '1515-5', showed transgressive values for acidity, i.e., higher than their genitors had.

3.5. Plum pox virus (PPV) resistance evaluation

Table 7 shows the PPV phenotyping of 20 interspecific hybrids and their genitors grafted onto infected 'Adesoto' plum rootstocks over three vegetative cycles in greenhouse conditions. According to the symptoms observation and the ELISA-DASI and RT-PCR results, genotypes were classified into the following three groups: resistant (without symptoms and ELISA/RT-PCR negative); tolerant (symptomless and ELISA or RT-PCR positive); or susceptible (with symptoms and ELISA/RT-PCR positive).

The results obtained confirm the already-described resistance of apricot cultivars 'Rojo Pasión' and 'Mirlo Anaranjado' and the advanced selection '(1001) 5-26' used in interspecific crosses as a source of PPV resistance. On the other hand, Japanese plum genitors 'Red Beaut', 'Black Splendor', '0614-5' and '0112-11' showed susceptibility, while selection '0716-5' was considered tolerant: it was asymptomatic and only tested positive by RT-PCR in two of eleven observations in the first cycle (Table 7).

The total number of replicates correctly evaluated (rootstock infected and cultivar sprouted) was 106 out of 168 (63%), with a mean symptom intensity on the rootstocks of 2.2.

Among the twenty plumcots assayed, fifteen showed sharka symptoms (Fig. 3) and were ELISA-DASI and/or RT-PCR positive, so have been classified as susceptible (Tables 7 and 8). Four plumcots behaved as

Table 5

Phenological and floral traits of the assayed plumcots and their genitors. Flowering time (FT), flowering intensity (FI), gynoeceum pubescence (PUB), caliche color (CC), ripening date (RD), fruit development period (FDP) and productivity (P). FT, RD and FDP were in Julian days (JD).

	FT (JD)	FI (0-3)	PUB	CC	RD (JD)	FDP (JD)	P (0-5)
<i>Apricot</i>							
Mirlo Anaranjado	51 ± 2	2.00 ± 0.0	+	Pink	133 ± 3	82 ± 1	3.5 ± 0.5
Rojo Pasión	62 ± 1	2.50 ± 0.0	+	Pink	148 ± 3	87 ± 2	4.5 ± 0.5
(1001) 5-26	52 ± 4	1.50 ± 0.5	+	Pink	133 ± 5	81 ± 5	2.1 ± 1.3
<i>Plum</i>							
Red Beaut	49 ± 4	2.00 ± 0.0	-	Green	152 ± 12	103 ± 13	3.5 ± 0.0
Black Splendor	47 ± 4	3.00 ± 0.0	-	Green	168 ± 1	121 ± 4	3.7 ± 0.6
<i>Plumcot</i>							
0412-1	68 ± 13	1.00 ± 0.5	+	Pink	136 ± 11	69 ± 21	0.4 ± 0.4
0412-15	65 ± 3	1.00 ± 0.0	+	Pinkish-green	155 ± 0	92 ± 0	0.5 ± 0.0
0613-4	48 ± 0	0.20 ± 0.0	+	Pinkish-green			
0613-5	58 ± 8	1.30 ± 0.9	+	Pink	165 ± 3	106 ± 10	0.5 ± 0.5
0613-6	66 ± 0	0.50 ± 1.0	+	Pink	162 ± 0	96 ± 0	0.3 ± 0.3
1313-10	59 ± 7	1.13 ± 0.2	+	Pink	143 ± 2	82 ± 3	1.6 ± 1.3
1413-8	60 ± 8	1.40 ± 0.5	+	Pinkish-green	142 ± 13	82 ± 14	1.0 ± 0.0
1114-3	56 ± 2	1.00 ± 1.0	+	Pinkish-green	146 ± 4	90 ± 4	1.0 ± 1.0
1114-7	58 ± 12	0.20 ± 0.0	+	Pink	146 ± 7	88 ± 5	0.5 ± 0.5
1114-28	52 ± 3	1.17 ± 0.3	+	Pink	141 ± 4	90 ± 2	0.4 ± 0.3
1114-28	52 ± 6	0.35 ± 0.2	+	Pinkish-green			
1315-17	59 ± 8	0.50 ± 0.0	+	Pink	155 ± 0	101 ± 0	0.5 ± 0.0

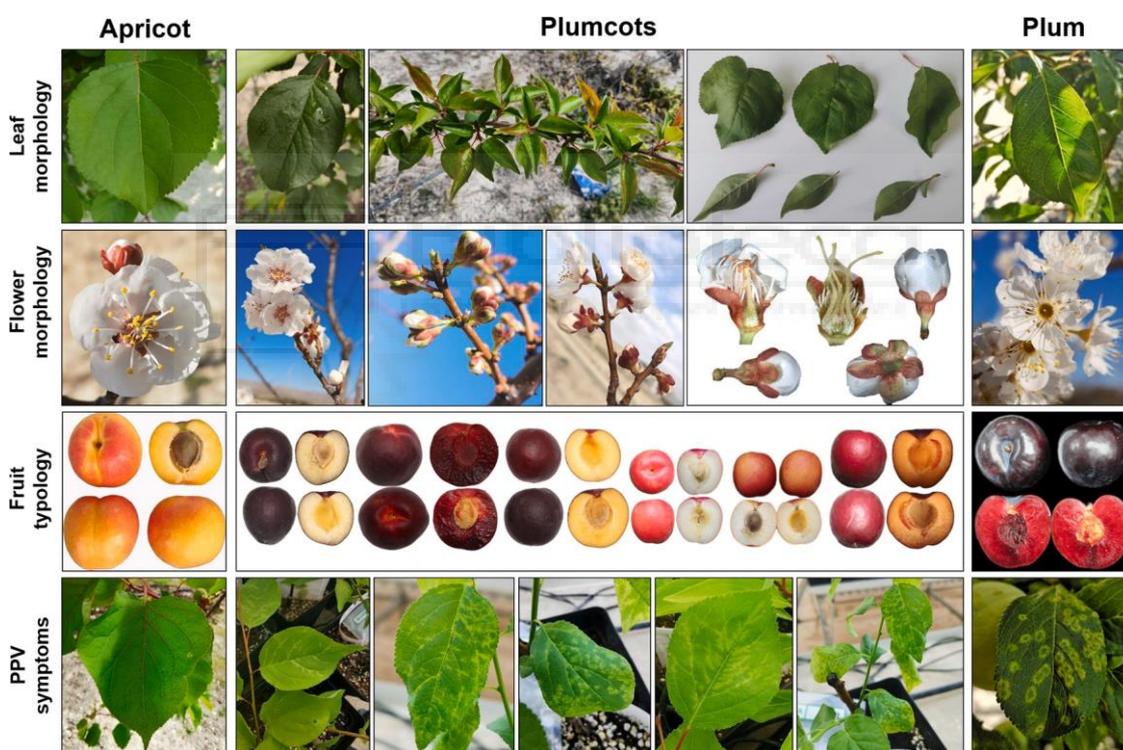


Fig. 3. General morphological characteristics of leaves, flowers and fruits, as well as PPV symptomatology of apricot, Japanese plum and interspecific plumcot hybrids generated in this work. The fruit typology from left to right correspond to 'Mirlo Anaranjado' apricot, plumcots '1114-3', '0613-5', '0613-6', '0412-1', '1114-28', '1313-10' and 'Black Splendor' Japanese plum.

tolerant, i.e., they did not display sharka symptoms but were RT-PCR positive in at least one replicate. The only plumcot that showed resistance was the genotype '0718-1', which has not presented symptoms and has not tested ELISA or RT-PCR positive. However, it has not been possible to perform a complete evaluation of '0718-1', since only one plant was evaluated during one of the cycles due to high replicate mortality, thus providing inconclusive results. A total of 60% of the susceptible plumcots showed sharka symptoms, and the overall symptom intensity ranged from 0.8 to 2.5; more than 70% tested RT-PCR positive. Regarding the tolerant plumcots, among 27 observations, only 25% were positive by RT-PCR (Table 8).

The results of the molecular characterization of PPV resistance by markers linked to PPV resistance in apricot are shown in Table 8. The presence of the resistant allele (226 bp) of the PGS1.21 marker matches with the genotypes that show a PMC2-resistant genotype (RR and RS), except for the individual '0119-16', which shows a sensitive genotype (SS) even with the 226 allele. Hybrids '0613-4', '1515-5' and '0915-1' show an allele of 181 bp that none of their parents display, which could be due to a genetic recombination phenomenon/event during meiosis. The data obtained did not match the expected resistance, since most of the plumcots genetically classified as resistant were susceptible to PPV. However, three out of four tolerant plumcots carry the resistant alleles.

Table 6

Physical and fruit quality traits of the assayed plumcots and their genitors. Fruit weight (FW), stone weight (SW), adherence of stone to flesh (AD), skin color, flesh color, firmness (F), soluble solid content (SSC), pH and acidity. Blush color of skin is given in parentheses.

Genotypes	FW (g)	SW	AD	Skin Color		Flesh Color		F (N)	SSC (°Brix)	pH	Acidity (%)		
				Visual	Hue angle	Visual	Hue angle				Citric	Malic	Tartaric
<i>Apricot</i>													
Mirlo	63.9 ± 4.3	2.9 ± 0.1	Free	Light orange (red)	70.0 ± 2.8	Orange	73.4 ± 1.5	38.6 ± 13.0	12.7 ± 0.8	3.55 ± 0.09	1.38 ± 0.10	1.45 ± 0.10	1.62 ± 0.11
Anaranjado	63.1 ± 14.9	2.4 ± 0.3	Free	Orange (red)	80.8 ± 3.2	Light orange	75.8 ± 2.9	26.9 ± 13.4	11.6 ± 0.1	3.58 ± 0.01	1.44 ± 0.03	1.51 ± 0.03	1.69 ± 0.04
Rojo Pasión	71.6 ± 8.9	2.3 ± 0.1	Free	Light orange	71.0 ± 2.8	Orange	77.3 ± 2.1	28.4 ± 8.6	16.6 ± 1.7	3.75 ± 0.05	1.33 ± 0.07	1.39 ± 0.07	1.56 ± 0.08
(1001) 5-26													
<i>Plum</i>													
Red Beaut	56.5 ± 8.4	1.2 ± 0.3	Cling	Red	19.7 ± 2.9	Yellow	89.0 ± 4.0	27.2 ± 2.7	12.7 ± 1.6	3.30 ± 0.04	1.46 ± 0.22	1.53 ± 0.23	1.71 ± 0.26
Black Splendor	87.6 ± 17.8	1.3 ± 0.2	Cling	Black	8.6 ± 1.9	Red dark	23.5 ± 2.0	41.1 ± 5.0	13.8 ± 0.7	3.17 ± 0.03	1.89 ± 0.13	1.98 ± 0.14	2.21 ± 0.16
<i>Plumcot</i>													
0412-1	44.6 ± 28.8	2.2 ± 2.3	Cling	Red	26.9 ± 1.3	Light yellow	90.8 ± 6.3	33.2 ± 15.0	13.6 ± 1.7	3.22 ± 0.11	1.81 ± 0.58	1.90 ± 0.61	2.13 ± 0.68
0412-15	20.7 ± 2.6	0.7 ± 0.2	Free	Violet	18.2 ± 0.3	Light yellow	81.9 ± 2.3	27.6 ± 5.3	14.1 ± 2.1	3.45 ± 0.22	1.79 ± 0.00	1.87 ± 0.00	2.10 ± 0.00
0613-5	77.1 ± 6.0	2.3 ± 0.3	Free	Red	27.6 ± 4.5	Red dark	32.4 ± 8.9	23.4 ± 8.5	15.6 ± 0.3	3.22 ± 0.07	1.68 ± 0.29	1.76 ± 0.30	1.97 ± 0.33
0613-6	54.8 ± 14.7	1.9 ± 0.4	Free	Violet	17.3 ± 3.4	Yellow	87.9 ± 2.0	33.1 ± 9.6	14.3 ± 0.1	3.07 ± 0.04	2.41 ± 0.35	2.52 ± 0.37	2.82 ± 0.41
1313-10	53.2 ± 5.9	1.8 ± 0.1	Cling	Violet	16.3 ± 1.0	Orange	89.4 ± 1.6	34.8 ± 3.1	14.7 ± 4.0	3.13 ± 0.11	2.46 ± 0.15	2.58 ± 0.15	2.89 ± 0.17
1413-8	50.3 ± 18.1	1.9 ± 1.5	Cling	Violet	16.1 ± 3.4	Orange	71.6 ± 2.8	25.3 ± 9.6	13.9 ± 1.6	3.36 ± 0.04	1.56 ± 0.12	1.60 ± 0.11	1.79 ± 0.12
1114-3	50.59 ± 7.8	2.9 ± 0.7	Semi-cling	Dark violet	19.6 ± 5.5	Light yellow	90.1 ± 4.6	41.1 ± 17.4	11.7 ± 1.5	3.15 ± 0.10	2.27 ± 0.18	2.37 ± 0.19	2.65 ± 0.21
1114-7	73.7 ± 19.3	3.4 ± 1.5	Semi-cling	Dark violet	16.2 ± 2.8	Orange	69.3 ± 0.5	54.4 ± 21.0	11.5 ± 0.7	3.08 ± 0.03	2.21 ± 0.06	2.31 ± 0.06	2.59 ± 0.06
1114-28	57.7 ± 1.7	2.2 ± 0.1	Semi-cling	Orange (red)	57.9 ± 14.4	Light yellow	85.8 ± 2.7	44.3 ± 13.1	14.7 ± 0.9	3.27 ± 0.12	2.17 ± 0.40	2.28 ± 0.42	2.55 ± 0.47
1515-5	47.9 ± 10.6	1.3 ± 0.2	Cling	Yellow	103.4 ± 1.4	Yellow	96.2 ± 5.4	10.4 ± 7.3	10.1 ± 1.7	3.51 ± 0.00	1.29 ± 0.00	1.35 ± 0.00	1.51 ± 0.00

The genotype '0412-15' showed susceptibility, but we were only able to evaluate it in the first cycle, so we do not know if it would have behaved like other genotypes with several observations in the following cycles without symptoms and negative ELISA and RT-PCR results.

4. Discussion

The present study demonstrates the challenge of generating plumcot hybrids. The difficulty in obtaining interspecific hybrids within the genus *Prunus* has been widely reported in many studies (Yoshida et al., 1975; Perez and Moore, 1985; Ahmad et al., 2004; Jun and Chung, 2007; Jun et al., 2009; Yaman and Uzun, 2020). Such crossings results in very few fruits, seeds, and hybrids in relation to the number of pollinated flowers due to the genetic distance between *Prunus* species.

Hybridization was only successful in this study when Japanese plum was used as the female parent. These findings are consistent with those reported in previous works (Yoshida et al., 1975; Singh et al., 1997; Claverie et al., 2004; Jun and Chung, 2007; Szymajda et al., 2015). These studies have noted that hybridization success rates are influenced by the direction of the cross and that crosses involving *P. salicina* as the maternal parent generally prove more fruitful than those involving *P. armeniaca*. The reason for the higher fruit production in the *P. salicina* × *P. armeniaca* crosses compared to *P. armeniaca* × *P. salicina* may be due to the ability of apricot pollen tubes to grow faster than those of *P. salicina*, as well as the shorter pistil of the plum, providing a shorter path for apricot pollen to reach the ovary (Perez and Moore, 1985). Additionally, the Japanese plum's compatibility as the female parent has also been confirmed in crosses with peach (Morimoto et al., 2019). Furthermore, Szymajda et al. (2022) observed that the crosses made between Japanese plum × apricot were the least successful when compared to Japanese plum × myrobalan plum and myrobalan plum ×

apricot.

In addition, the loss of a significant number of hybrid seeds obtained from controlled pollinations has also been reported by Jun et al. (2009) and Szymajda et al. (2022), where around 65% of the fruits obtained in the pollinations were lost during the processes of stratification, germination and acclimatization. This loss may be due to genetic disorders resulting from the combination of two incompatible genomes in the hybrid seedling, as suggested by Szymajda et al. (2022).

The interspecific nature of plumcot hybrids has been successfully verified using molecular markers, as demonstrated in previous studies (Byrne and Littleton, 1989; Ahmad et al., 2004; Jun et al., 2009; Szymajda et al., 2022). However, most of the genotypes considered interspecific, because they came from seeds of fruits resulting from controlled crosses, were shown not to be interspecific based on validation using SSR markers (33 interspecific plumcots from 612 genotypes verified). This could be due to escapes from uncontrolled pollination, as well as possible cleistogamy in the case of crosses with a self-compatible female apricot parent. To date, there have been very few studies that have confirmed the interspecific nature of plumcot hybrids by SSR. As a result, many hybrids considered as plumcots may actually be Japanese plum-type hybrids (Ahmad et al., 2004; Okie, 2005; Jun et al., 2009; Guerrero et al., 2022).

The SSR polymorphism results highlight the high transferability of the SSR markers used in this study among *Prunus* species, as previously observed in other works (García-Gómez et al., 2018; Guerrero et al., 2022). The expected and observed heterozygosity values are similar to those observed in other studies of putative advanced selections of interspecific plumcot-type hybrids (He=0.76; Ho=0.70) (Guerrero et al., 2022) and different species of plum such as *P. salicin* (He=0.67-0.68; Ho=0.70-0.65) (Abdallah et al., 2019; Guerrero et al., 2021); *P. domestica* (He=0.69; Ho=0.73); and *P. insititia* (He=0.70);

Table 7

PPV genotyping of apricots, Japanese plums and plumcots to the type D isolate 3.30RB/GF-IVIA of plum pox virus, grafted onto infected 'Adesoto' plum rootstocks, during three vegetative cycles. N: Number of replicates correctly evaluated; Symp: Number of replicates showing sharka symptoms, in brackets (), mean intensity of symptoms scored from 0 to 5; ELISA: number of replicates positive by ELISA-DASI in brackets (), mean optical density recorded at 405 nm after 60 min; RT+: number of positive RT-PCRs.

Genotype	N	Cycle 1				Cycle 2				Cycle 3			
		Adesoto	Genotype	ELISA	RT+	Adesoto	Genotype	ELISA	RT+	Adesoto	Genotype	ELISA	RT+
<i>Apricot</i>													
Mirlo Anaranjado	4	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.079)	0	4 (2.2)	0 (0.0)	0 (0.068)	0	4 (2.2)	0 (0.0)	0 (0.091)	0
Rojo Pasión	5	5 (2.2)	0 (0.0)	0 (0.106)	0	5 (2.6)	0 (0.0)	0 (0.065)	0	5 (1.8)	0 (0.0)	0 (0.085)	0
(1001) 5-26	3	3 (3.3)	0 (0.0)	0 (0.053)	0	3 (2.7)	0 (0.0)	0 (0.107)	0	3 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.063)	0
<i>Plum</i>													
Red Beaut	6	6 (3.0)	6 (2.7)	6 (1.540)	6	6 (2.7)	6 (2.8)	6 (1.060)	6	5 (2.2)	5 (2.1)	5 (1.370)	5
Black Splendor	4	4 (1.5)	4 (1.5)	2 (0.750)	4	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.067)	0	3 (1.7)	1 (3.0)	1 (1.386)	2
0112-11	3	3 (2.3)	2 (2.0)	2 (0.357)	2	1 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.073)	0	2 (2.0)	0 (0.0)	1 (0.211)	1
0614-5	4	2 (1.5)	4 (1.7)	4 (0.982)	4	1 (2.0)	1 (1.0)	1 (0.890)	1	1 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.112)	1
0716-5	4	4 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.149)	2	3 (2.7)	0 (0.0)	0 (0.062)	0	4 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.078)	0
<i>Plumcot</i>													
0412-1	3	2 (2.0)	3 (2.3)	3 (0.671)	3	1 (1.0)	1 (2.0)	1 (0.134)	1	2 (1.5)	1 (3.0)	1 (1.981)	2
0412-15	3	1 (3.0)	3 (2.0)	3 (0.333)	3	–	–	–	–	–	–	–	–
0613-2	2	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.161)	1	2 (4.0)	2 (1.5)	2 (1.455)	2	1 (3.0)	1 (1.0)	1 (0.106)	1
0613-5	4	2 (1.5)	4 (1.7)	4 (0.982)	4	1 (2.0)	1 (1.0)	1 (0.890)	1	1 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.112)	1
0613-6	3	2 (2.0)	3 (1.7)	3 (0.667)	3	2 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.067)	0	2 (3.0)	0 (0.0)	1 (0.214)	1
1313-10	5	4 (2.5)	4 (3.5)	5 (1.403)	5	3 (1.3)	2 (2.5)	4 (0.694)	4	3 (1.6)	3 (1.6)	3 (1.934)	3
1313-24	4	4 (2.0)	3 (2.3)	4 (1.737)	4	3 (1.3)	2 (2.0)	2 (1.124)	2	2 (2.0)	1 (1.0)	1 (0.744)	2
1413-8	2	2 (2.0)	0 (0.0)	1 (1.812)	1	3 (2.5)	1 (1.0)	1 (2.738)	1	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.079)	0
1114-3	4	4 (2.3)	0 (0.0)	2 (0.848)	2	3 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.071)	0	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (1.832)	1
1114-7	5	5 (1.7)	5 (2.2)	4 (0.306)	5	3 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.071)	0	3 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.081)	0
1114-28	5	4 (1.8)	4 (1.5)	4 (1.209)	5	3 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.072)	0	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.084)	0
1315-17	3	2 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.073)	0	2 (3.0)	0 (0.0)	0 (0.080)	1	3 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.078)	0
1515-5	6	5 (1.8)	6 (1.8)	6 (0.957)	6	3 (3.3)	3 (1.7)	2 (1.135)	2	3 (3.3)	2 (1.5)	2 (0.752)	2
1515-26	5	3 (2.3)	4 (2.2)	4 (0.777)	4	2 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.075)	2	–	–	–	–
0915-1	5	5 (2.0)	3 (1.70)	4 (0.507)	4	4 (1.7)	1 (1.0)	1 (0.206)	3	3 (2.0)	0 (0.0)	1 (1.005)	2
0718-1	1	1 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.128)	0	–	–	–	–	–	–	–	–
0119-5	1	1 (4.0)	0 (0.0)	0 (0.117)	1	1 (4.0)	0 (0.0)	0 (0.103)	0	2 (4.0)	0 (0.0)	0 (0.084)	0
0119-6	3	3 (2.7)	0 (0.0)	0 (0.121)	1	2 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.104)	1	2 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.096)	0
0119-10	5	5 (3.0)	5 (1.2)	3 (3.095)	5	3 (3.0)	1 (1.0)	1 (0.251)	1	2 (2.5)	0 (0.0)	0 (0.087)	0

Ho=0.74) (Abdallah et al., 2019).

The genetic relationships obtained in the present study show higher similarity between plumcots and apricots than with plum, placing plumcots in a distinct and differentiated cluster. This contrasts with previous results: Ahmad et al. (2004) positioned the only evaluated plumcot between the clusters generated by apricot and plum. On the other hand, Guerrero et al. (2022) found significant differentiation between apricots and the rest of the evaluated genotypes, placing the putative interspecific plumcot hybrids indiscriminately with plums, pluots and other types of diploid plums (*P. cerasifera* and *P. simonii*). This suggests that the hybrid accessions evaluated are probably not plumcot-type hybrids, but rather resulted from repeated backcrossing with plum.

S-alleles were successfully genotyped in all hybrids and their parents using consensus primers, which showed good transferability between species (Tao et al., 1999; Yamane et al., 2001; Sonneveld et al., 2006). All the interspecific hybrids exhibited one allele derived from the Japanese plum and another from the apricot, thus confirming that all the studied interspecific hybrids are true plumcots. These genotypes do not belong to the incompatibility groups described to date due to the combination of compatibility alleles from two different species (Guerra et al., 2012; Herrera et al., 2018). Guerrero et al. (2021) genotyped the S-alleles of putative plumcot hybrids, and the identified alleles only corresponded to S genotypes previously described in Japanese plum (Beppu et al., 2002; Halász et al., 2010; Guerra et al., 2012) and not in apricot (Herrera et al., 2018).

Furthermore, most hybrids have segregated the Sc allele from apricot, which confers apricot self-compatibility (Vilanova et al., 2006; Halász et al., 2007), so they should a priori be self-compatible. However, pollen viability studies have shown androsterility in all the plumcots that flourished. This is consistent with the results obtained in various

studies in which the majority of plumcots do not produce pollen or their pollen is not viable (Okie, 2005; Jun et al., 2009, 2011; Nam et al., 2016), suggesting that interspecific hybridization causes androsterility in the offspring, which could explain why most plumcots were not very productive.

The phenotypic characterization of the plumcot hybrids also revealed their interspecific nature. They showed characteristics acquired from apricot such as leaf morphology and pistil and fruit pubescence (present in apricot, absent in plum). The presence of pubescence on the ovaries and fruits of plumcot hybrids has been reported in numerous studies (Ledbetter et al., 1994; Okie, 2005; Jun et al., 2009; Zhivondov and Uzundzhaliieva, 2012; Nam et al., 2016). Considered a dominant trait in interspecific crosses between Japanese plums and apricots (Jun et al., 2009), this could serve as a physical characteristic to distinguish a true plumcot from other types of hybrids. Hakoda et al. (1998) also obtained all of their offspring from interspecific hybrids between Japanese apricot (*P. mume*) and Japanese plum with fruit that had pubescence. Our results confirm that the presence of pubescence on ovaries and fruit skin is an unequivocal characteristic for verifying the "real" plumcots.

Transmission of horticultural traits from apricot and Japanese plum to plumcot has been studied since the 1980s. The first studies evaluating different plumcot progenies clearly showed this transmission (Ledbetter et al., 1994).

Ledbetter et al. (1994) also studied full flowering, vegetative bud break and fruit harvest dates in addition to pollen viability and fruit weight in the obtained plumcot descendants, showing that plumcot ripening dates and fruit weights were influenced by the parental apricot. Once again, this suggests the dominance of apricot genes in confirmed plumcots. The freestone trait is considered dominant in *P. domestica*, *P. persica*, *P. armeniaca* and recessive in *P. salicina* (Okie and Weinberger,

Table 8

Overall behavior against PPV-D of the apricots, plums and plumcots, according to the number of observations correctly phenotyped (N); number of observations displaying sharka symptoms, in () mean intensity of symptoms; percentages of infected observations, ELISA and RT-PCR positive, after three phenotyping cycles. Molecular characterization by two markers (PGS1.21 and PMC2) linked to PPV resistance (marked in italics). Plumcots only evaluated in the first cycle are marked with an asterisk (*).

Genotype	N	Symptoms	Percentages Infected	Markers		PGS1.21	PMC2
				ELISA +	RT-PCR +		
<i>Susceptible</i>							
Red Beaut	17	17 (2.5)	100	100	100	168/170	SS
0412-15*	3	3 (2.0)	100	100	100	168/226	RS
1313-10	12	9 (2.5)	75	100	100	168/207	SS
0613-2	4	3 (0.8)	75	100	100	168/207	SS
0614-5	6	5 (0.9)	83	83	100	168/170	SS
0412-1	6	5 (2.4)	83	83	100	168/207	SS
0613-5	6	5 (0.9)	83	83	100	168/170	SS
1515-26	6	4 (1.1)	67	67	100	168/207	SS
1313-24	9	6 (1.8)	67	78	89	168/207	SS
1515-5	12	11 (1.7)	92	92	83	168/181	SS
0915-1	8	4 (0.9)	33	50	75	168/181	SS
Black Splendor	10	5 (1.8)	63	38	75	168/170	RS
0119-10	7	6 (1.1)	60	40	60	168/226	SS
0613-6	9	3 (1.4)	43	57	57	168/207	RS
1114-28	6	4 (1.5)	44	44	56	168/226	SS
0112-11	11	2 (2.0)	33	50	50	168/170	RS
1114-7	9	5 (2.2)	45	36	45	168/226	SS
0119-16	7	2 (1.5)	22	11	33	170/226	RS
1413-8							
<i>Tolerant</i>							
1114-3	9	0 (0.0)	0	33	33	168/207	SS
0119-6	7	0 (0.0)	0	0	28	168/226	RS
0119-5	4	0 (0.0)	0	0	25	170/226	RS
0119-5	11	0 (0.0)	0	0	18	166/170	SS
0716-5	7	0 (0.0)	0	0	14	168/226	RS
1315-17	12	0 (0.0)	0	0	0	207/226	RS
<i>Resistant</i>							
Mirlo Anaranjado	15	0 (0.0)	0	0	0	207/226	RS
Rojo Pasión	9	0 (0.0)	0	0	0	226/226	RR
(1001) 5-26	1	0 (0.0)	0	0	0	170/226	RS

1996; Scorza and Sherman, 1996; Okie and Hancock, 2008). The results obtained regarding stone adherence to the flesh in plumcots are consistent with those obtained previously, which have suggested that clingstone is dominant in interspecific crosses between Japanese plum and apricot (Jun et al., 2009). Higher levels of acidity in plumcots compared to apricot and Japanese plum have also been reported by Bae et al. (2014) and Jun et al. (2009).

Regarding fruit quality, aromatic profiles from plumcot accessions more closely resemble apricot than plum profiles (Gómez et al., 1993; Gómez and Ledbetter, 1993). Gómez and Ledbetter (1997) found important differences in the volatile constituent profiles, and that the characteristic compounds of apricot aroma were much higher in apricot than plumcot.

Regarding PPV phenotyping in plumcots, there are a very few studies that deal with sharka resistance. One precedent was in 2009, when Karayiannis and Ledbetter found that all plumcots were highly susceptible to PPV (Karayiannis and Ledbetter, 2009). Rubio et al. (2011b) obtained similar results, finding that the French selection 'J300' and the American 'Flavor Supreme' were susceptible to sharka. In a later work, Zhivondov (2012) obtained a *P. domestica* × *P. armeniaca* hybrid called 'Standesto' with tolerance to PPV. Other authors have reported the possibility of obtaining interspecific hybrids between *P. domestica* × *P. armeniaca* with PPV resistance through the hypersensitivity response (Neumüller et al., 2017), although these authors did not discuss plumcots. In any case, the present work seems to be the first deep approach to sharka resistance in plumcots.

The level of symptom expression shown by susceptible plumcots was similar to that observed in other works with plums and susceptible apricots (Martínez-Gómez and Dicenta, 2000; Rubio et al., 2011b).

The molecular characterization of resistance to PPV, using the markers PGS1.21 and ParPMC2 (Soriano et al., 2012; Polo-Oltra et al.,

2020), has not been conclusive. However, the presence of the resistance allele could be the result of a decrease in susceptibility, with an important group of susceptible plumcots turning tolerant/resistant after the first phenotyping cycle. This behavior has already been reported by several authors (Karayiannis et al., 2008; Rubio et al., 2012) and has been linked to a mechanism of gene silencing of the virus.

5. Conclusions

Sharka disease is still a threat for most *Prunus* species, despite the fact that it was eliminated as a quarantine disease in the European Union. In our opinion, plumcots would be a good opportunity for markets. The high-quality fruits would satisfy consumers, and even more importantly, growers stand to benefit substantially from selected plumcots that are both self-fertile and sharka-resistant and can be used as future breeding lines. There are still challenges to solve in the inter-specific crossing, like androsterility or full resistance to PPV, as well as in determining the real characteristics of plumcots, thus avoiding the common mislabeling of 'plumcots' that in reality are just plum-type fruits.

CRedit authorship contribution statement

María Nicolás-Almansa: Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing, Writing – original draft, Data curation, Visualization, Investigation, Supervision, Resources, Methodology. **David Ruiz:** Supervision, Conceptualization, Writing – review & editing. **Juan Alfonso Salazar:** Resources. **Alfonso Guevara:** Resources. **José Cos:** Writing – review & editing. **Pedro Martínez-Gómez:** Methodology, Writing – review & editing. **Manuel Rubio:** Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing, Writing – original draft, Data curation, Visualization, Investigation, Supervision, Methodology.

Declaration of Competing Interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: María Nicolás Almansa reports financial support was provided by Spain Ministry of Science and Innovation.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgments and Funding

We want to acknowledge to the CEBAS-CSIC apricot breeding program led by Dr. Ruiz, Dr. Salazar and Dr. Egea, and the CEBAS-CSIC/IMIDA Japanese plum breeding program led by Dr. Ruiz and Dr. Guevara, for the availability of plant material for this work. María Nicolás-Almansa was supported by the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (MINECO, Spain) within a PhD programme grant (FPU16/03896).

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.scienta.2023.112131](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112131).

References

- Abdallah, D., Baraket, G., Perez, V., BenMustapha, S., Salh i-Hannachi, A., Hormaza, J.I., 2019. Analysis of self-incompatibility and genetic diversity in diploid and hexaploid plum genotypes. *Front. Plant Sci.* 10, 896. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00896>.
- Ahmad, R., Potter, D., Southwick, S.M., 2004. Identification and characterization of plum and pluot cultivars by microsatellite markers. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 79, 164–169. <https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511743>.
- Bae, H., Yun, S.K., Jun, J.H., Yoon, I.K., Nam, E.Y., Kwon, J.H., 2014. Assessment of organic acid and sugar composition in apricot, plumcot, plum, and peach during fruit development. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 87, 24–29. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.004>.
- Beppu, K., Yamane, H., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Kataoka, I., Tao, R., 2002. Diversity of S-RNase genes and S-haplotypes in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 77, 658–664. <https://doi.org/10.1080/14620316.2002.11511553>.
- Boonprakob, U., Byrne, D.H., Graham, C.J., Okie, W.R., Beckman, T., Smith, B.R., 2001. Genetic relationships among cultivated diploid plums and their progenitors as determined by RAPD markers. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 126, 451–461. <https://doi.org/10.21273/JASHS.126.4.451>.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32, 314–331.
- Brantley, W., 2004. About Pluots. *Gastronomica* 4, 84–89. <https://doi.org/10.1525/gfc.2004.4.3.84>.
- Brown, G.S., Walker, T.D., 1990. Indicators of maturity in apricots using biplot multivariate analysis. *J. Sci. Food Agric.* 53, 321–331.
- Burbank, L., 1914. Luther Burbank: His methods and discoveries and their practical application. Luther Burbank Press, New York, NY, USA. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.54007>.
- Byrne, D.H., Littleton, T.G., 1989. Interspecific hybrid verification of plum x apricot hybrids via isozyme analyses. *HortScience* 24, 132–134.
- Cambra, M., Asensio, M., Gorrís, M.T., Pérez, E., Camarasa, E., García, J.A., Moya, J.J., López-Abella, D., Vela, C., Sanz, A., 1994. Detection of plum pox potyvirus using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins. *EPPO Bull.* 24, 569–577. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1994.tb01070.x>.
- Cipriani, G., Lot, G., Huang, W.G., Marrazzo, M.T., Peterlunger, E., Testolin, R., 1999. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: isolation, characterisation and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.* 99, 65–72. <https://doi.org/10.1007/s001220051209>.
- Claverie, M., Bosselut, N., Lecouls, A.C., Voisin, R., Lafargue, B., Poizat, C., Kleinhentz, M., Laigret, F., Dirlewanger, E., Esmenjaud, D., 2004. Location of independent root-knot nematode resistance genes in plum and peach. *Theor. Appl. Genet.* 108, 765–773. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1463-1>.
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M.J., Poizat, C., Zanetto, A., Arús, P., Laigret, F., 2002. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor. Appl. Genet.* 105, 127–138. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-0867-7>.

- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19, 11–15.
- FAO, 2022. Food and agriculture organization. Agricultural Statistics Database. FAO. <https://www.fao.org/faostat/es/#home>.
- Faust, M., Surányi, D., Janick, J., 1998. Origin and dissemination of plums. *Hortic. Rev.* (Am. Soc. Hortic. Sci) 23, 179–231. <https://doi.org/10.1002/9780470650752.ch4>. John Wiley & Sons, Ltd.
- García-Gómez, B., Razi, M., Salazar, J.A., Prudencio, A.S., Ruiz, D., Dondini, L., Martínez-Gómez, P., 2018. Comparative analysis of SSR markers developed in exon, intron, and intergenic regions and distributed in regions controlling fruit quality traits in *Prunus* species: genetic diversity and association studies. *Plant Mol. Biol. Rep.* 36, 23–35. <https://doi.org/10.1007/s11105-017-1058-7>.
- Gómez, E., Ledbetter, C., 1993. Transmission of biochemical flavor constituents from apricot and plum to their interspecific hybrid. *Plant Breed.* 111, 236–241. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1993.tb00634.x>.
- Gómez, E., Ledbetter, C.A., 1997. Development of volatile compounds during fruit maturation: characterization of apricot and plum x apricot hybrids. *J. Sci. Food Agric.* 74, 541–546. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199708\)74:4<541::AID-JSFA851>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199708)74:4<541::AID-JSFA851>3.0.CO;2-D).
- Gómez, E., Ledbetter, C.A., Hartsell, P.L., 1993. Volatile compounds in apricot, plum, and their interspecific hybrids. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1669–1676. <https://doi.org/10.1021/jf00034a029>.
- Guerra, M.E., López-Corrales, M., Wünsch, A., 2012. Improved S-genotyping and new incompatibility groups in Japanese plum. *Euphytica* 186, 445–452. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0636-x>.
- Guerrero, B.I., Guerra, M.E., Herrera, S., Irisarri, P., Pina, A., Rodrigo, J., 2021. Genetic diversity and population structure of Japanese plum-type (Hybrids of *P. salicina*) accessions assessed by SSR markers. *Agronomy* 11, 1748. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091748>.
- Guerrero, B.I., Guerra, M.E., Rodrigo, J., 2022. Simple Sequence Repeat (SSR)-based genetic diversity in interspecific plumcot-type (*Prunus salicina* × *Prunus armeniaca*) hybrids. *Plants* 11, 1241. <https://doi.org/10.3390/plants11091241>.
- Hakoda, N., Toyoda, R., Tabuchi, T., Ogiwara, I., Ishikawa, S., Shimura, I., 1998. Morphological characteristics of the interspecific hybrids between Japanese apricot (*Prunus mume*) and Plum (*P. salicina*). *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 67, 708–714.
- Halász, J., Pedryc, A., Ercisli, S., Yilmaz, K.U., Hegedüs, A., 2010. S-genotyping supports the genetic relationships between Turkish and Hungarian apricot germplasm. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 135, 410–417. <https://doi.org/10.21273/JASHS.135.5.410>.
- Halász, J., Pedryc, A., Hegedus, A., 2007. Origin and dissemination of the pollen-part mutated SC haplotype which confers self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca*). *New Phytol.* 176, 792–803. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02220.x>.
- Hedrick, U.P., 1911. *The Plums of New York*. J.B. Lyon Company, State Printers, Albany, NY, USA.
- Herrera, S., Lora, J., Hormaza, J.I., Herrero, M., Rodrigo, J., 2018. Optimizing production in the new generation of apricot cultivars: self-incompatibility, S-RNase allele identification, and incompatibility group assignment. *Front. Plant Sci.* 9, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00527>.
- Howard, W.L., 1945. Luther Burbank's plant contributions. *Calif. Agr. Exp. Sta. Bul.* 691, 30–32.
- Jun, J.H., Chung, K.H., 2007. Interspecific cross compatibility among plum, apricot and plumcot. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 25, 217–222.
- Jun, J.H., Kwon, J.H., Chung, K.H., 2009. Morphological characteristics of interspecific hybrids between Japanese Plum (*Prunus salicina* Lindl.) cv. soldam and apricot (*P. armeniaca* L.) cv. harcot. *Hortic. Sci. Technol.* 27, 269–274.
- Jun, J.H., Kwon, J.H., Chung, K.H., 2011. "Harmony" plumcot. *J. Am. Pomol. Soc.* 65, 47–51. <https://doi.org/10.21273/HORTSCIP.110741-16>.
- Karayannis, I., Ledbetter, C., 2009. Susceptibility of certain apricot and plumcot cultivars to plum pox virus infection. *Acta Hortic.* 825, 153–156. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.825.21>.
- Karayannis, I., Thomidis, T., Tsaftaris, A., 2008. Inheritance of resistance to Plum pox virus in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Tree Genet. Genomes* 4, 143–148. <https://doi.org/10.1007/s11295-007-0095-z>.
- Karp, D., 2015. Luther Burbank's Plums. *HortScience* 50, 189–194. <https://doi.org/10.21273/HORTSCIP.50.2.189>.
- Klabunde, G.H.F., Dalbó, M.A., Nodari, R.O., 2014. DNA fingerprinting of Japanese plum (*Prunus salicina*) cultivars based on microsatellite markers. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 14, 139–145. <https://doi.org/10.1590/1984-70332014v14n3a21>.
- Kwon, J.H., Choi, H.J., Nam, E.Y., Yun, S.K., Kim, S.J., Lee, J.S., 2020. Postharvest characteristics of plumcot cultivars bred in Republic of Korea. *Acta Hortic.* 1290, 191–196. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1290.33>.
- Ledbetter, C.A., Peterson, S.J., Burgos, L., 1994. Variability of horticultural characteristics among plumcot progenies. *J. Genet. Breed.* 48, 117–124.
- Liu, W., Chen, X., Liu, G., Liang, Q., He, T., Feng, J., 2007. Interspecific hybridization of *Prunus persica* with *P. armeniaca* and *P. salicina* using embryo rescue. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 88, 289–299. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9201-z>.
- Martínez-Gómez, P., Dicenta, F., 2000. Evaluation of resistance of apricot cultivars to a Spanish isolate of plum pox potyvirus (PPV). *Plant Breed.* 119, 179–181. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00457.x>.
- Meier, U., Graf, H., Hack, H., Hess, M., Kennel, W., Klose, R., Mappes, D., Seipp, D., Stauss, R., Streif, J., Boom, T.V.D., 1994. Phanologische Entwicklungsstadien des Kernobstes (*Malus domestica* Borkh. und *Pyrus communis* L.). *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutz* 46, 141–153.
- Merkouropoulos, G., Ganopoulos, I., Tsaftaris, A., Papadopoulos, I., Drogoudi, P., 2017. Combination of high resolution melting (HRM) analysis and SSR molecular markers speeds up plum genotyping: case study genotyping the Greek plum GeneBank

- collection. *Plant Genet. Resour. Character. Util.* 15, 366–375. <https://doi.org/10.1017/S1479262116000022>.
- Mnejja, M., Garcia-Mas, J., Howad, W., Badenes, M.L., Arús, P., 2004. Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. *Mol. Ecol. Notes* 4, 163–166. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00603.x>.
- Morimoto, T., Kitamura, Y., Numaguchi, K., Akagi, T., Tao, R., 2019. Characterization of post-mating interspecific cross-compatibility in *Prunus* (Rosaceae). *Sci. Hortic.* 246, 693–699. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.045>.
- Nam, E.Y., Jun, J.H., Chung, K.H., Kwon, J.H., Yun, S.K., Yun, I.K., Cho, K.H., 2016. Tiffany' red-fleshed plumcot. *HortScience* 51, 1304–1307. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI10741-16>.
- Neumüller, M., Dittrich, F., Hartmann, W., Hadersdorfer, J., Treutter, D., 2017. First report on the generation of *Prunus domestica* × *P. armeniaca* interspecific hybrids with hypersensitivity resistance to the Plum pox virus. *Acta Hortic.* 1172, 15–20. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1172.3>.
- Niu, J.L., Liu, M.X., Peng, Q.M., 2015. Analysis of main index components and cluster of plumcot "Weihou" during different harvest periods. *Xingjiang Agric. Sci.* 52, 33–36. Okie, W.R., 2006. Introgression of *Prunus* species in plum. *New York Fruit. Q.* 14, 29–37.
- Okie, W.R., 2005. Spring Satin' Plumcot. *J. Am. Pomol. Soc.* 59, 119.
- Okie, W.R., Hancock, J.F., 2008. Plums. In: Hancock, J.F. (Ed.), *Temperate Fruit Crop Breeding*. Springer, pp. 337–357. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6907-9_11.
- Okie, W.R., Ramming, D.W., 1999. Plum breeding worldwide. *HortTechnology* 9, 162–176. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.9.2.162>.
- Okie, W.R., Thompson, J.M., Reilly, C.G., Meredith, F.I., Robertson, J.A., Lyon, B.G., 1992. Segundo, Byrongold and Rubysweet plums and BY69-1637P plumcot: fruits for the Southeastern United States. *Fruit Var. J.* 46, 102–107.
- Okie, W.R., Weinberger, J.H., Janick, J., Moore, J.N., 1996. *Plum. Fruit Breeding, Tree Trop. Fruits*. John Wiley & Sons, Ltd, New York, pp. 559–609.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2012. GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28, 2537–2539.
- Perez-Jimenez, M., Guevara-Gazquez, A., Carrillo-Navarro, A., Cos-Terrer, J., 2021. How carbon source and seedcoat influence the *in vitro* culture of peach (*Prunus persica* L. batsch) immature seeds. *HortScience* 56, 136–137. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI15502-20>.
- Perez, S., Moore, J.N., 1985. Prezygotic endogenous barriers to interspecific hybridization in *Prunus*. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 110, 267–273. <https://doi.org/10.21273/JASHS.110.2.267>.
- Polo-Oltra, A., Romero, C., López, I., Badenes, M.L., Zuriaga, E., 2020. Cost-effective and time-efficient molecular assisted selection for PPV resistance in apricot based on ParPMC2 allele-specific PCR. *Agronomy* 10, 1292. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091292>.
- Qiao, Y.S., Fang, J.G., Cong, Y., Zhou, J., Zhang, Z., 2007. Analysis of genetic diversity of Japanese plum cultivars based on RAPD, ISSR and SSR markers. *Acta Hortic.* 763, 177–184. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.763.23>.
- Roeding G.C. 1908. New products of the trees: a treatise of Burbank's late introductions. Roeding, G.C. Fancher Creek Nurseries, Fresno, CA, USA.
- Rubio, M., Dicenta, F., Martínez-Gómez, P., 2019. Plum Pox virus: detection and management. *Integrated Management of Diseases and Insect Pests of Tree Fruit*. Burleigh Dodds Science Publishing (ed.), pp. 179–198.
- Rubio, M., Dicenta, F., Martínez-Gómez, P., Egea, J., Ruiz, D., 2011a. Evaluation of sharka resistance in new cultivars and selections of the apricot breeding programme at CEBAS-CSIC in Murcia (Spain). *Acta Hortic.* 899, 95–102. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.899.11>.
- Rubio, M., García-Ibarra, A., Dicenta, F., Martínez-Gómez, P., 2011b. Plum pox virus (sharka) sensitivity in *Prunus salicina* and *Prunus cerasifera* cultivars against a Dideron-type isolate. *Plant Breed.* 130, 283–286. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2010.01813.x>.
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., García-Brunton, J., Pascal, T., García-Ibarra, A., Dicenta, F., 2012. Sensitivity of peach cultivars against a Dideron isolate of Plum pox virus. *Sci. Hortic.* 144, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.06.038>.
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., García, J.A., Dicenta, F., 2013. Interspecific transfer of resistance to Plum pox virus from almond to peach by grafting. *Ann. Appl. Biol.* 163, 466–474. <https://doi.org/10.1111/aab.12069>.
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., Pinochet, J., Dicenta, F., 2005. Evaluation of resistance to sharka (Plum pox virus) of several *Prunus* rootstocks. *Plant Breed.* 124, 67–70. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.01068.x>.
- Rubio, M., Ruiz, D., Egea, J., Martínez-Gómez, P., Dicenta, F., 2014. Opportunities of marker-assisted selection for Plum pox virus resistance in apricot breeding programs. *Tree Genet. Genomes* 10, 513–525. <https://doi.org/10.1007/s11295-014-0700-x>.
- Ruiz, D., Cos, J., Egea, J., García, F., Nortes, M.D., Carrillo, A., Guevara, A., 2019. Progress in the Japanese plum (*Prunus salicina* L.) breeding program developed by CEBAS-CSIC and IMIDA in Murcia, Spain. *Acta Hortic.* 1260, 47–48. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1260.9>.
- Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406–425.
- Salloom, A., Fatahi, R., Zamani, Z., Ebadi, A., 2021. Optimization *in vitro* conditions for plum × apricot embryo rescue and modeling some critical factors by using artificial neural networks technology. *Sci. Hortic.* 289, 110487. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110487>.
- Sanchez-Navarro, J.A., Aparicio, F., Herranz, M.C., Minafra, A., Myrta, A., Pallas, V., 2005. Simultaneous detection and identification of eight stone fruit viruses by one-step RT-PCR. *Eur. J. Plant Pathol.* 111, 77–84. <https://doi.org/10.1007/s10658-004-1422-y>.
- Scorza, R., Sherman, W.B., Janick, J., Moore, J.N., 1996. *Peaches. Fruit Breeding, Tree Trop. Fruits*. John Wiley & Sons, New York, pp. 325–440.
- Singh, D., Kumar, R., Selvan, T., 1997. Interspecific hybridization between plums and apricots to develop plumcots/cotplums. *J. Tree Sci.* 16, 96–100.
- Sonneveld, T., Robbins, T.P., Tobutt, K.R., 2006. Improved discrimination of self-incompatibility S-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. *Plant Breed.* 125, 305–307. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01205.x>.
- Soriano, J.M., Domingo, M.L., Zuriaga, E., Romero, C., Zhebentyayeva, T., Abbott, A.G., Badenes, M.L., 2012. Identification of simple sequence repeat markers tightly linked to plum pox virus resistance in apricot. *Mol. Breed.* 30, 1017–1026. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9685-4>.
- Sutula, C.L., Gillett, J.M., Morrissey, S.M., Ramsdell, D.C., 1986. Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. *Plant Dis.* 70, 722–726. <https://doi.org/10.1094/PD-70-722>.
- Szymajda, M., Napiórkowska, B., Korbin, M., Zurawicz, E., 2015. Studies on the interspecific crossing compatibility among three *Prunus* species and their hybrids. *Hortic. Sci.* 42, 70–82. <https://doi.org/10.17221/273/2014-HORTSCI>.
- Szymajda, M., Studnicki, M., Kuras, A., Zurawicz, E., 2022. Cross-compatibility in interspecific hybridization between three *Prunus* species. *S. Afr. J. Bot.* 146, 624–633. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.11.036>.
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S., 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 38, 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
- Tao, R., Yamane, H., Sugiura, A., Murayama, H., Sassa, H., Mori, H., 1999. Molecular typing of S-alleles through identification, characterization and cDNA cloning for S-RNases in sweet cherry. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 124, 224–233. <https://doi.org/10.21273/JASHS.124.3.224>.
- Tong, Z., Qu, S., Zhang, J., Wang, F., Tao, J., Gao, Z., Zhang, Z., 2012. A modified protocol for RNA extraction from different peach tissues suitable for gene isolation and real-time PCR analysis. *Mol. Biotechnol.* 50, 229–236. <https://doi.org/10.1007/s12033-011-9433-3>.
- Topp, B.L., Russell, D.M., Neumüller, M., Dalbó, M.A., Liu, W., Badenes, M., Byrne, D., 2012. *Plum. Fruit Breeding. Handbook of Plant Breeding*. Springer, Boston, MA, pp. 571–621. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0763-9_15.
- Vilanova, S., Badenes, M.L., Burgos, L., Martínez-Calvo, J., Llácer, G., Romero, C., 2006. Self-compatibility of two apricot selections is associated with two pollen-part mutations of different nature. *Plant Physiol.* 142, 629–641. <https://doi.org/10.1104/pp.106.083865>.
- Yaman, M., Uzun, A., 2020. Evaluation of superior hybrid individuals with intra and interspecific hybridization breeding in apricot. *Int. J. Fruit Sci.* 20, S2045–S2055. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1852151>.
- Yamane, H., Tao, R., Sugiura, A., Hauck, N.R., Iezzoni, A.F., 2001. Identification and characterization of S-RNases in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus*). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 126, 661–667. <https://doi.org/10.21273/JASHS.126.6.661>.
- Yoshida, M., 1987. The origin of fruits, 2: Plums. *Fruit Japan* 42 (2), 49–53.
- Yoshida, M., Kyotani, H., Yasuno, M., 1975. Studies on interspecific crossing in *Prunus* spp.: I. cross compatibility. *Jpn. J. Breed.* 25, 17–23. <https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.25.17>.
- Zhivondov, A., 2012. "Standesto", the first Bulgarian plumcot cultivar. *Acta Hortic.* 966, 219–222. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.966.34>.
- Zhivondov, A., Uzundzhaliyeva, K., 2012. Taxonomic classification of plum-apricot hybrids. *Acta Hortic.* 966, 211–218. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.966.33>.
- Zuriaga, E., Romero, C., Blanca, J.M., Badenes, M.L., 2018. Resistance to Plum Pox Virus (PPV) in apricot (*Prunus armeniaca* L.) is associated with down-regulation of two MATHd genes. *BMC Plant Biol.* 18, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1237-1>.
- Zuriaga, E., Soriano, J.M., Zhebentyayeva, T., Romero, C., Dardick, C., Cañizares, J., Badenes, M.L., 2013. Genomic analysis reveals MATH gene(s) as candidate(s) for Plum pox virus (PPV) resistance in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Mol. Plant Pathol.* 14, 663–677. <https://doi.org/10.1111/mp.12037>.



6. CONCLUSIONES GENERALES

6. CONCLUSIONES GENERALES

I. Los resultados derivados de la caracterización fenotípica y estudio del modo de herencia de las poblaciones 'Black Splendor' × 'Pioneer' ('BS×PIO'), 'Red Beaut' × 'Black Splendor' ('RB×BS') y 'Red Beaut' × 'Santa Rosa Precoz' ('RB×SRP') muestran una gran diversidad y segregación en todos los caracteres fenológicos y de calidad del fruto evaluados, corroborando la naturaleza segregante de las tres poblaciones.

II. La alta variabilidad y segregación observada en las descendencias de tres poblaciones, así como la presencia de fenotipos transgresivos en comparación con los progenitores en todos los caracteres fenológicos y de calidad del fruto, puede atribuirse a la influencia significativa del fondo genético de los parentales. Un ejemplo muy significativo es la presencia de genotipos con coloración de piel amarilla en la descendencia de las poblaciones 'RB×BS' y 'RB×SRP', a pesar de que ninguno de los parentales exhibe esta característica.

III. La variabilidad interanual de los datos fenotípicos está influenciada en gran medida por las diferentes condiciones climáticas anuales, sobre todo la temperatura, mostrando las diferencias más significativas entre años en los caracteres fenológicos de las tres poblaciones, sobre todo en la fecha de floración y maduración. Estos caracteres están estrechamente relacionados con la satisfacción de las necesidades de frío para la salida del letargo y las necesidades de calor para florecer.

IV. Los análisis estadísticos y los histogramas de frecuencias revelan una distribución no paramétrica en todos los caracteres fenológicos evaluados y en la mayoría de los caracteres físicos que determinan la calidad del fruto, excepto el peso y el diámetro. Estos dos caracteres junto a los caracteres organolépticos de contenido en sólidos solubles, acidez y pH, muestran una distribución normal. Además, la mayoría de los caracteres muestran una herencia cuantitativa.

V. Se ha empleado una estrategia de genotipado novedosa, empleada por primera vez en *Prunus*, combinando la secuenciación de los parentales a alta cobertura (*Whole Genome Sequencing*, WGS) y a baja cobertura (*Low Coverage Whole Genome Sequencing* (LcWGS) de las descendencias. Los resultados de esta estrategia han sido exitosos, permitiendo desarrollar mapas de ligamiento genético en todos los parentales de las poblaciones evaluadas y, posteriormente, identificar QTLs ligados a caracteres de interés tanto fenológicos como de calidad del fruto. Esta metodología de genotipado ha permitido elaborar mapas genéticos que muestran características similares de tamaño y número de SNPs a los mapas desarrollados previamente con GBS y SLAF-seq, de una forma más eficiente económicamente en comparación con dichas técnicas.

VI. La integración de los datos de genotipado y fenotipado ha permitido la identificación de un gran número de QTLs asociados con los principales caracteres de fenología y calidad del fruto. Además, el estudio del efecto alélico de los SNPs más significativos de estos QTLs nos ha permitido identificar SNPs asociados a la expresión de muchos de los caracteres evaluados, que presentan un efecto alélico significativo y estable durante los tres años de estudio. Por tanto, la validación de estos SNPs en futuros trabajos puede facilitar el desarrollo de marcadores moleculares específicos para su uso en mejora asistida.

VII. La mayoría de los QTLs ligados a la fecha de maduración y periodo de desarrollo del fruto se encuentran localizados en las mismas regiones de los grupos de ligamiento identificados en las tres poblaciones, pudiendo destacar los grupos de ligamiento 1, 2, 3, 4 y 5 en función de la población. Destacan los QTLs ligados al color de piel y pulpa localizados en los grupos de ligamiento 3 y 5 al ser los QTLs con mayor significancia de estos caracteres. Al igual que es destacable el grupo de ligamiento 5 en la expresión del contenido en sólidos solubles, al detectarse en él QTLs estables durante los tres años de estudio en la mayoría de las poblaciones evaluadas.

VIII. Se han identificado por primera vez en la especie ciruelo japonés QTLs ligados a la intensidad de floración, la productividad, la adhesión del hueso a la pulpa, la profundidad de la sutura, la presencia de lenticelas en la piel del fruto y la incidencia del hueso roto del fruto. Estos resultados permitirán avanzar significativamente en el desarrollo de marcadores moleculares ligados a estos caracteres.

IX. Se ha demostrado el reto que supone generar híbridos interespecíficos *Prunus salicina* Lindl. × *Prunus armeniaca* L. (plumcots), obteniendo unas tasas de éxito de hibridación muy bajas, donde únicamente del 5,4% de los genotipos evaluados, *a priori* procedentes de cruzamientos interespecíficos, ha verificado su naturaleza interespecífica a nivel de análisis genómico mediante marcadores SSR. Esta tasa disminuye aún más si consideramos el número total de semillas obtenidas, sin tener en cuenta las pérdidas durante la germinación y aclimatación, llegando a ser del 1,1%. Cabe destacar que la eficiencia de la hibridación se ha visto afectada también por la dirección del cruzamiento, ya que todos los plumcots verificados provienen de cruces en los que el ciruelo japonés fue empleado como parental materno.

X. Los híbridos interespecíficos desarrollados mostraron relaciones genéticas más similares con los albaricoqueros, tal y como evidenció el análisis de agrupamiento basado en la caracterización obtenida mediante 17 marcadores SSR. La caracterización fenotípica de los híbridos de plumcot también reveló su naturaleza interespecífica, mostrando características provenientes del albaricoquero, como la morfología de las hojas, la pubescencia del gineceo y los frutos (presente en el albaricoquero, ausente en el ciruelo) y un color rosáceo o variegado rosáceo-verdoso de los sépalos de la flor. La presencia de pubescencia en los frutos es considerada un rasgo dominante en los cruces interespecíficos entre ciruelo japonés y albaricoquero. Nuestros resultados confirman que dicha pubescencia es una característica inequívoca para verificar los “verdaderos” plumcots y distinguirlos de otros tipos de híbridos.

XI. Todos los híbridos interespecíficos mostraron una intensidad de floración y una productividad baja y errática. Además, mostraron un mayor número de flores anormales multipistilares, y en comparación con sus progenitores, la mayoría presentaron una fecha de floración retrasada y unos valores intermedios de maduración del fruto, lo que se tradujo en un periodo de desarrollo del fruto más corto que el de sus progenitores. En cuanto a las características físicas del fruto, los híbridos mostraron una amplia variabilidad en cuanto a tamaño y color de la piel y la pulpa, y en su mayoría presentaron adherencia del hueso a la pulpa.

XII. La identificación de los alelos *S* de incompatibilidad floral se realizó con éxito en todos los plumcots, obteniéndose grupos de incompatibilidad distintos a los descritos tanto en ciruelo japonés como en albaricoquero, debido a la mezcla de alelos de ambas especies, identificando siete nuevos haplotipos en plumcots (S_aSc , S_bSc , S_bS9 , S_cSc , S_cS9 , S_eSc y S_xSc). De los 33 genotipos interespecíficos evaluados, tres no segregaron el alelo *Sc* de albaricoquero, que confiere autocompatibilidad en albaricoquero, mientras que el resto de híbridos sí que lo heredaron, por lo que a priori deberían ser genotipos autocompatibles. Sin embargo, los estudios de viabilidad del polen determinaron androesterilidad en todos los plumcots que florecieron, lo que sugiere que la hibridación interespecífica causa un elevado porcentaje de androesterilidad en la descendencia, lo que podría explicar por qué la mayoría de los plumcots se caracterizaron por una escasa productividad.

XIII. Los resultados obtenidos en la evaluación de la resistencia a plum pox virus (PPV) en condiciones controladas, confirman la resistencia ya descrita de los cultivares de albaricoquero 'Rojo Pasión' y 'Mirlo Anaranjado' y de la selección avanzada '(1001) 5-26', utilizados en los cruzamientos interespecíficos como fuente de resistencia a PPV. Además, los genitores de ciruelo japonés 'Red Beaut', 'Black Splendor', '0614-5' y '0112-11' mostraron susceptibilidad al virus, mientras que la selección '0716-5' se consideró tolerante. De los 20 plumcots ensayados, quince se clasificaron como susceptibles y cuatro como tolerantes. El único plumcot que mostró resistencia fue el genotipo '0718-1', sin embargo, los resultados no son concluyentes en este genotipo, ya que únicamente se ha podido evaluar una planta durante uno de los ciclos debido a la elevada mortalidad de las repeticiones.

XIV. Los resultados obtenidos de la caracterización molecular de la resistencia a PPV mediante marcadores ligados a la resistencia a PPV en albaricoquero no han sido concluyentes, al no coincidir con los alelos esperados ligados a la resistencia descritos en albaricoquero. La mayoría de los plumcots clasificados genéticamente como resistentes, por presentar los alelos resistentes del albaricoquero, eran susceptibles a PPV. Sin embargo, tres de cada cuatro plumcots tolerantes portaban alelos resistentes, por lo que la presencia del alelo de resistencia podría ser el resultado de una disminución de la susceptibilidad, con un grupo importante de plumcots susceptibles que se convertían en tolerantes/resistentes tras el primer ciclo de fenotipado.



6. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, J. A.** 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3), 207-225. doi: 10.1016/S0925-5214(98)00086-6
- Abdallah, D., Baraket, G., Pérez, V., Ben Mustapha, S., Salhi-Hannachi, A. & Hormaza, J. I.** 2019. Analysis of self-incompatibility and genetic diversity in diploid and hexaploid plum genotypes. *Frontiers in Plant Science*, 10. doi: 10.3389/fpls.2019.00896
- Adami, M., De Franceschi, P., Brandi, F., Liverani, A., Giovannini, D., Rosati, C., Dondini, L. & Tartarini, S.** 2013. Identifying a carotenoid cleavage dioxygenase (ccd4) gene controlling yellow/white fruit flesh color of peach. *Plant Molecular Biology Reporter*, 31(5), 1166-1175. doi: 10.1007/s11105-013-0628-6
- Agustí, M.** 2010. Frutales de hueso. En M. Agustí (Ed.), *Fruticultura* (pp. 273-308). Mundi-Prensa Libros S.A.
- Ahmad, R., Potter, D. & Southwick, S. M.** 2004. Identification and characterization of plum and pluot cultivars by microsatellite markers. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(1), 164-169. doi: 10.1080/14620316.2004.11511743
- Akagi, T., Henry, I. M., Morimoto, T. & Tao, R.** 2016. Insights into the *Prunus*-specific S-RNase-based self-incompatibility system from a genome-wide analysis of the evolutionary radiation of S Locus-related F-box genes. *Plant and Cell Physiology*, 57(6), 1281-1294. doi: 10.1093/pcp/pcw077
- Altan, H., Bircan, M. & Caliskan, O.** 2022. Inheritance of earliness and fruit quality characteristics in five apricot progenies. *Erwerbs-Obstbau*, 64(4), 591-601. doi: 10.1007/s10341-022-00703-
- Arús, P.** 2017. Molecular markers for plant genetics and breeding. *Contributions to Science*, 13(1), 9-15. doi: 10.2436/20.7010.01.256
- Atkinson, C. J., Brennan, R. M. & Jones, H. G.** 2013. Declining chilling and its impact on temperate perennial crops. *Environmental and Experimental Botany*, 91, 48-62. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.02.004
- Badenes, M. L., Martínez-Calvo, J. & Llácer, G.** 1998. Analysis of apricot germplasm from the European ecogeographical group. *Euphytica*, 102(1), 93-99. doi: 10.1023/A:1018332312570
- Bae, H., Yun, S. K., Jun, J. H., Yoon, I. K., Nam, E. Y. & Kwon, J. H.** 2014. Assessment of organic acid and sugar composition in apricot, plumcot, plum, and peach during fruit development. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87, 24-29. doi: 10.5073/JABFQ.2014.087.004
- Ballester, J., Socias i Company, R., Arús, P. & De Vicente, M. C.** 2001. Genetic mapping of a major gene delaying blooming time in almond. *Plant Breeding*, 120(3), 268-270. doi: 10.1046/j.1439-0523.2001.00604.x
- Bateman, A. J.** 1952. Self-incompatibility systems in angiosperms. I Theory. *Heredity*, 6, 285-310.

- Battistoni, B., Salazar, J., Vega, W., Valderrama-Soto, D., Jiménez-Muñoz, P., Sepúlveda-González, A., Ahumada, S., Cho, I., Gardana, C. S., Morales, H., Peña-Neira, Á., Silva, H., Maldonado, J., González, M., Infante, R. & Pacheco, I.** 2022. An upgraded, highly saturated linkage map of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.), and identification of a new major locus controlling the flavan-3-ol composition in fruits. *Frontiers in Plant Science*, 13, 805744. doi: 10.3389/fpls.2022.805744
- Bellini, E. & Nencetti, V.** 1997. Japanese plum breeding programme at Florence: First results. *Acta Horticulturae*, 478, 147-150. doi: 10.17660/ActaHortic.1998.478.21
- Bellini, E. & Nencetti, V.** 2002. "Dofi-Sandra": A new early black Japanese plum. *Acta Horticulturae*, 577, 223-224. doi: 10.17660/ActaHortic.2002.577.37
- Beppu, K., Endo, I. & Kataoka, I.** 2010a. Self-compatibility in the Japanese plum cultivar "Honey Rosa". *Acta Horticulturae*, 874, 157-162. doi: 10.17660/ActaHortic.2010.874.21
- Beppu, K., Komatsu, N., Yamane, H., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Tao, R. & Kataoka, I.** 2005. Se-haplotype confers self-compatibility in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80(6), 760-764. doi: 10.1080/14620316.2005.11512011
- Beppu, K., Konishi, K. & Kataoka, I.** 2012b. S-haplotypes and self-compatibility of the Japanese plum cultivar "Karari". *Acta Horticulturae*, 929, 261-266. doi: 10.17660/ActaHortic.2012.929.38
- Beppu, K., Kumai, M., Yamane, H., Tao, R. & Kataoka, I.** 2012a. Molecular and genetic analyses of the S-haplotype of the self-compatible Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) "Methley". *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 87(5), 493-498. doi: 10.1080/14620316.2012.11512900
- Beppu, K., Syogase, K., Yamane, H., Tao, R. & Kataoka, I.** 2010b. Inheritance of self-compatibility conferred by the Se-haplotype of Japanese plum and development of Se-RNase gene-specific PCR primers. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(3), 215-218. doi: 10.1080/14620316.2010.11512657
- Beppu, K., Takemoto, Y., Yamane, H., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Kataoka, I. & Tao, R.** 2003. Determination of S-haplotypes of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars by PCR and cross-pollination tests. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78(3), 315-318. doi: 10.1080/14620316.2003.11511624
- Beppu, K., Yamane, H., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Kataoka, I. & Tao, R.** 2002. Diversity of S-RNase genes and S-haplotypes in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77(6), 658-664. doi: 10.1080/14620316.2002.11511553
- Bianchi, V. J., Rubio, M., Trainotti, L., Verde, I., Bonghi, C. & Martínez-Gómez, P.** 2015. *Prunus* transcription factors: Breeding perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 6, 443. doi: 10.3389/fpls.2015.00443

- Bianco, L., Cestaro, A., Sargent, D. J., Banchi, E., Derdak, S., Di Guardo, M., Salvi, S., Jansen, J., Viola, R., Gut, I., Laurens, F., Chagné, D., Velasco, R., Van De Weg, E. & Troggio, M.** 2014. Development and validation of a 20K Single Nucleotide Polymorphism (SNP) whole genome genotyping array for apple (*Malus × domestica* Borkh). *PLoS ONE*, 9(10), e110377. doi: 10.1371/journal.pone.0110377
- Bielenberg, D. G., Rauh, B., Fan, S., Gasic, K., Abbott, A. G., Reighard, G. L., Okie, W. R. & Wells, C. E.** 2015. Genotyping by sequencing for SNP-based linkage map construction and QTL analysis of chilling requirement and bloom date in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *PLoS ONE*, 10(10), e0139406. doi: 10.1371/journal.pone.0139406
- Bilton, T. P., McEwan, J. C., Clarke, S. M., Brauning, R., van Stijn, T. C., Rowe, S. J. & Dodds, K. G.** 2018. Linkage disequilibrium estimation in low coverage high-throughput sequencing data. *Genetics*, 209(2), 389-400. doi: 10.1534/genetics.118.300831
- Boonprakob, U., Byrne, D. H., Graham, C. J., Okie, W. R., Beckman, T. & Smith, B. R.** 2001. Genetic relationships among cultivated diploid plums and their progenitors as determined by RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(4), 451-461. doi: 10.21273/jashs.126.4.451
- Bošković, R. & Tobutt, K. R.** 1996. Correlation of stelar ribonuclease zymograms with incompatibility alleles in sweet cherry. *Euphytica*, 90, 245-250. doi: 10.1007/BF00023865
- Branchereau, C., Quero-García, J., Zaracho-Echagüe, N. H., Lambelin, L., Fouche, M., Wenden, B., Donkpegan, A., Le Dantec, L., Barreneche, T., Alletru, D., Parmentier, J. & Dirlewanger, E.** 2022. New insights into flowering date in *Prunus*: fine mapping of a major QTL in sweet cherry. *Horticulture Research*, 9, uhac042. doi: 10.1093/hr/uhac042
- Brantley, W.** 2004. About pluots. *Gastronomica*, 4(3), 84-89. doi: 10.1525/gfc.2004.4.3.84
- Broad Institute.** 2019. *Picard Toolkit*. Broad Institute, GitHub repository. <https://broadinstitute.github.io/picard/>
- Brown, G. S. & Walker, T. D.** 1990. Indicators of maturity in apricots using biplot multivariate analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53(3), 321-331. doi: 10.1002/jsfa.2740530305
- Burbank, L.** 1914. *Luther Burbank: His methods and discoveries and their practical application* (Luther Burbank Press, Ed.; Vol. 12, No 1). doi: 10.5962/bhl.title.54007
- Byrne, D. H.** 1990. Isozyme variability in four diploid stone fruits compared with other woody perennial plants. *Journal of Heredity*, 81(1), 68-71. doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a110927
- Byrne, D. H.** 2012. Trends in fruit breeding. En: M. L. Badenes & D. H. Byrne (Eds.), *Fruit Breeding* (pp. 3-36). Springer US. doi: 10.1007/978-1-4419-0763-9_1
- Byrne, D. H. & Littleton, T. G.** 1989. Interspecific hybrid verification of plum x apricot hybrids via isozyme analyses. *HortScience*, 24(1), 132-134. doi: 10.21273/HORTSCI.24.1.132

- Cai, L., Quero-García, J., Barreneche, T., Dirlewanger, E., Saski, C. & Iezzoni, A.** 2019. A fruit firmness QTL identified on linkage group 4 in sweet cherry (*Prunus avium* L.) is associated with domesticated and bred germplasm. *Scientific Reports*, 9(1), 5008. doi: 10.1038/s41598-019-41484-8
- Calle, A., Cai, L., Iezzoni, A. & Wünsch, A.** 2020. Genetic dissection of bloom time in low chilling sweet cherry (*Prunus avium* L.) using a multi-family QTL approach. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1647. doi: 10.3389/fpls.2019.01647
- Calle, A., Serradilla, M. J. & Wünsch, A.** 2021. QTL mapping of phenolic compounds and fruit colour in sweet cherry using a 6+9K SNP array genetic map. *Scientia Horticulturae*, 280, 109900. doi: 10.1016/j.scienta.2021.109900
- Calle, A. & Wünsch, A.** 2020. Multiple-population QTL mapping of maturity and fruit-quality traits reveals LG4 region as a breeding target in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Horticulture Research*, 7(1), 127. doi: 10.1038/s41438-020-00349-2
- Calzoni, G. L. & Speranza, A.** 1998. Insect controlled pollination in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Scientia Horticulturae*, 72, 227-237. doi: 10.1016/S0304-4238(97)00132-5
- Cambra, M., Asensio, M., Gorris, M. T., Pérez, E., Camarasa, E., García, J. A., Moya, J. J., López-Abella, D., Vela, C. & Sanz, A.** 1994. Detection of plum pox potyvirus using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins. *EPPO Bulletin*, 24(3), 569-577. doi: 10.1111/j.1365-2338.1994.tb01070.x
- Campoy, J. A., Ruiz, D., Egea, J., Rees, D. J. G., Celton, J. M. & Martínez-Gómez, P.** 2011. Inheritance of flowering time in apricot (*Prunus armeniaca* L.) and analysis of linked Quantitative Trait Loci (QTLs) using Simple Sequence Repeat (SSR) markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29(2), 404-410. doi: 10.1007/s11105-010-0242-9
- Cantín, C. M., Gogorcena, Y. & Moreno, M. Á.** 2010. Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in peach and nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] breeding progenies. *Euphytica*, 171(2), 211-226. doi: 10.1007/s10681-009-0023-4
- CARM. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.** 2023. *Estadística Agraria Regional*. [https://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=72277&IDTIPO=100&RASTRO=c1415\\$m1174](https://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=72277&IDTIPO=100&RASTRO=c1415$m1174)
- Carrasco, B., Díaz, C., Moya, M., Gebauer, M. & García-González, R.** 2012. Genetic characterization of Japanese plum cultivars (*Prunus salicina*) using SSR and ISSR molecular markers. *Ciencia e Investigación Agraria*, 39(3), 533-543. doi: 10.4067/s0718-16202012000300012
- Carrasco, B., González, M., Gebauer, M., García-González, R., Maldonado, J. & Silva, H.** 2018. Construction of a highly saturated linkage map in Japanese plum (*Prunus salicina* L.) using GBS for SNP marker calling. *PLoS ONE*, 13(12), e0208032. doi: 10.1371/journal.pone.0208032

- Carrasco, B., Meisel, L., Gebauer, M., Garcia-Gonzales, R. & Silva, H.** 2013. Breeding in peach, cherry and plum: From a tissue culture, genetic, transcriptomic and genomic perspective. *Biological Research*, 46(3), 219-230. doi: 10.4067/S0716-97602013000300001
- Castède, S., Campoy, J. A., Le Dantec, L., Quero-García, J., Barreneche, T., Wenden, B. & Dirlewanger, E.** 2015. Mapping of candidate genes involved in bud dormancy and flowering time in sweet cherry (*Prunus avium*). *PLoS ONE*, 10(11), e0143250. doi: 10.1371/journal.pone.0143250
- Chagné, D., Crowhurst, R. N., Troggio, M., Davey, M. W., Gilmore, B., Lawley, C., Vanderzande, S., Hellens, R. P., Kumar, S., Cestaro, A., Velasco, R., Main, D., Rees, J. D., Iezzoni, A., Mockler, T., Wilhelm, L., van de Weg, E., Gardiner, S. E., Bassil, N. & Peace, C.** 2012. Genome-wide SNP detection, validation, and development of an 8K SNP array for apple. *PLoS ONE*, 7(2), e31745. doi: 10.1371/journal.pone.0031745
- Cheng, Y., Liu, L., Yuan, C. & Guan, J.** 2016. Molecular characterization of ethylene-regulated anthocyanin biosynthesis in plums during fruit ripening. *Plant Molecular Biology Reporter*, 34(4), 777-785. doi: 10.1007/s11105-015-0963-x
- Cheng, Z.** 2008. Classifying criteria for major fruit traits in *Prunus persica* and correlation analyses among the traits. *Journal of the American Pomological Society*, 62(3), 110-118.
- Cirilli, M., Baccichet, I., Chiozzotto, R., Silvestri, C., Rossini, L. & Bassi, D.** 2021. Genetic and phenotypic analyses reveal major quantitative loci associated to fruit size and shape traits in a non-flat peach collection (*P. persica* L. Batsch). *Horticulture Research*, 8, 232. doi: 10.1038/s41438-021-00661-5
- Cirilli, M. & Rossini, L.** 2021. Many candidates for a single trait: a critical review of the genetic determinant of flat fruit shape trait in peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Tree Genetics & Genomes*, 17(4), 34. doi: 10.1007/s11295-021-01515-w
- Claverie, M., Bosselut, N., Lecouls, A. C., Voisin, R., Lafargue, B., Poizat, C., Kleinhentz, M., Laigret, F., Dirlewanger, E. & Esmenjaud, D.** 2004. Location of independent root-knot nematode resistance genes in plum and peach. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(4), 765-773. doi: 10.1007/s00122-003-1463-1
- Claypool, L. L., Uriu, K. & Lasker, P. F.** 1972. Split-pit of 'Dixon' cling peaches in relation to cultural factors. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 97(2), 181-185. doi: 10.21273/JASHS.97.2.181
- Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B. & Pang, E. C. K.** 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, 142, 169-196. doi: 10.1007/s10681-005-1681-5
- Crisosto, C. H. & Crisosto, G. M.** 2005. Relationship between ripe soluble solids concentration (RSSC) and consumer acceptance of high and low acid melting flesh peach and nectarine (*Prunus persica* (L.) Batsch) cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 38(3), 239-246. doi: 10.1016/j.postharvbio.2005.07.007

- Crisosto, C. H., Crisosto, G. M., Echeverria, G. & Puy, J.** 2007. Segregation of plum and pluot cultivars according to their organoleptic characteristics. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3), 271-276. doi: 10.1016/j.postharvbio.2006.12.005
- Crisosto, C. H., Crisosto, G. & Neri, F.** 2006. Understanding tree fruit quality, based on consumer acceptance. *Acta Horticulturae*, 712, 183-190. doi: 10.17660/ActaHortic.2006.712.18
- Crisosto, C. H., Garner, D., Crisosto, G. M. & Bowerman, E.** 2004. Increasing "Blackamber" plum (*Prunus salicina* Lindl.) consumer acceptance. *Postharvest Biology and Technology*, 34(3), 237-244. doi: 10.1016/j.postharvbio.2004.06.003
- Crisosto, C. H., Johnson, R. S., DeJong, T. & Day, K. R.** 1997. Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. *HortScience*, 32(5), 820-823. doi: 10.21273/HORTSCI.32.5.820
- Cubero Salmerón, J. I.** 2013. *Introducción a la Mejora Genética Vegetal* (3ª ed.). Mundi-Prensa Libros S.A. 569 pp.
- Cunha Junior, L. C., Durigan, M. F. B., Mattiuz, B.-H., Martins, R. N. & Durigan, J. F.** 2007. Characterization of the maturation curve in "Aurora-1" peaches in the region of Jaboticabal-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29, 661-665. doi: 10.1590/S0100-29452007000300045
- Danecek, P., Bonfield, J. K., Liddle, J., Marshall, J., Ohan, V., Pollard, M. O., Whitwham, A., Keane, T., McCarthy, S. A. & Davies, R. M.** 2021. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*, 10(2), giab008. doi: 10.1093/gigascience/giab008
- Dangcham, S., Bowen, J., Ferguson, I. B. & Ketsa, S.** 2008. Effect of temperature and low oxygen on pericarp hardening of mangosteen fruit stored at low temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 50(1), 37-44. doi: 10.1016/j.postharvbio.2008.02.005
- Dar, J. A., Wani, A. A., Ahmed, M., Nazir, R., Zargar, S. M. & Javaid, K.** 2019. Peel colour in apple (*Malus × domestica* Borkh.): An economic quality parameter in fruit market. *Scientia Horticulturae*, 244, 50-60. doi: 10.1016/j.scienta.2018.09.029
- De Nettancourt, D.** 2001. *Incompatibility and Incongruity in Wild and Cultivated Plants*. Springer Science & Business Media. doi: 10.1007/978-3-662-04502-2
- Decroocq, V., Foulongne, M., Lambert, P., Gall, O. Le., Mantin, C., Pascal, T., Schurdi-Levraud, V. & Kervella, J.** 2005. Analogues of virus resistance genes map to QTLs for resistance to sharka disease in *Prunus davidiana*. *Molecular Genetics and Genomics*, 272(6), 680-689. doi: 10.1007/s00438-004-1099-0
- Dettoni, M. T., Quarta, R. & Verde, I.** 2001. A peach linkage map integrating RFLPs, SSRs, RAPDs, and morphological markers. *Genome*, 44(5), 783-790. doi: 10.1139/g01-065
- Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D. & Serrano, M.** 2008. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree ripening of eight plum cultivars: A comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(14), 2499-2507. doi: 10.1002/jsfa.3370

- Dirlewanger, E., Cosson, P., Boudehri, K., Renaud, C., Capdeville, G., Tauzin, Y., Laigret, F. & Moing, A.** 2006. Development of a second-generation genetic linkage map for peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and characterization of morphological traits affecting flower and fruit. *Tree Genetics & Genomes*, 3(1), 1-13. doi: 10.1007/s11295-006-0053-1
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M. J., Poizat, C., Zanetto, A., Arús, P. & Laigret, F.** 2002. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 105(1), 127-138. doi: 10.1007/s00122-002-0867-7
- Dirlewanger, E., Graziano, E., Joobeur, T., Garriga-Calderé, F., Cosson, P., Howad, W. & Arús, P.** 2004. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(26), 9891-9896. doi: 10.1073/pnas.0307937101
- Dirlewanger, E., Moing, A., Rothan, C., Svanella, L., Pronier, V., Guye, A., Plomion, C. & Monet, R.** 1999. Mapping QTLs controlling fruit quality in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Theoretical and Applied Genetics*, 98(1), 18-31. doi: 10.1007/s001220051035
- Dirlewanger, E., Pascal, T., Zuger, C. & Kervella, J.** 1996. Analysis of molecular markers associated with powdery mildew resistance genes in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) x *Prunus davidiana* hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 93(5), 909-919. doi: 10.1007/BF00224093
- Dirlewanger, E., Quero-García, J., Le Dantec, L., Lambert, P., Ruiz, D., Dondini, L., Illa, E., Quilot-Turion, B., Audergon, J. M., Tartarini, S., Letourmy, P. & Arús, P.** 2012. Comparison of the genetic determinism of two key phenological traits, flowering and maturity dates, in three *Prunus* species: Peach, apricot and sweet cherry. *Heredity*, 109(5), 280-292. doi: 10.1038/hdy.2012.38
- Dodds, K. G., McEwan, J. C., Brauning, R., Anderson, R. M., Stijn, T. C., Kristjánsson, T. & Clarke, S. M.** 2015. Construction of relatedness matrices using genotyping-by-sequencing data. *BMC Genomics*, 16, 1047. doi: 10.1186/s12864-015-2252-3
- Dondini, L., Domenichini, C., Dong, Y., Gennari, F., Bassi, D., Foschi, S., Lama, M., Adami, M., De Franceschi, P., Cervellati, C., Bergonzoni, L., Alessandri, S. & Tartarini, S.** 2022. Quantitative trait loci mapping and identification of candidate genes linked to fruit acidity in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Frontiers in Plant Science*, 13, 838370. doi: 10.3389/fpls.2022.838370
- Dondini, L., Lain, O., Vendramin, V., Rizzo, M., Vivoli, D., Adami, M., Guidarelli, M., Gaiotti, F., Palmisano, F., Bazzoni, A., Boscia, D., Geuna, F., Tartarini, S., Negri, P., Castellano, M., Savino, V., Bassi, D. & Testolin, R.** 2011. Identification of QTL for resistance to plum pox virus strains M and D in Lito and Harcot apricot cultivars. *Molecular Breeding*, 27(3), 289-299. doi: 10.1007/s11032-010-9431-3
- Donoso, J. M., Aros, D., Meneses, C. & Infante, R.** 2009. Identification of S-alleles associated with self-incompatibility in apricots (*Prunus armeniaca* L.) using molecular markers. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7, 270-273.

- Donoso, J. M., Eduardo, I., Picañol, R., Batlle, I., Howad, W., Aranzana, M. J. & Arús, P.** 2015. High-density mapping suggests cytoplasmic male sterility with two restorer genes in almond × peach progenies. *Horticulture Research*, 2, 15016. doi: 10.1038/hortres.2015.16
- Donoso, J. M., Picañol, R., Serra, O., Howad, W., Alegre, S., Arús, P. & Eduardo, I.** 2016. Exploring almond genetic variability useful for peach improvement: mapping major genes and QTLs in two interspecific almond × peach populations. *Molecular Breeding*, 36(2), 1-17. doi: 10.1007/s11032-016-0441-7
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L.** 1987. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11–15.
- Drogoudi, P. & Pantelidis, G. E.** 2022. Impact of genetic and climatic parameters on split-pit incidence in peach and nectarine. *Scientia Horticulturae*, 297, 110970. doi: 10.1016/j.scienta.2022.110970
- Duval, H., Coindre, E., Ramos-Onsins, S. E., Alexiou, K. G., Rubio-Cabetas, M. J., Martínez-García, P. J., Wirthensohn, M., Dhingra, A., Samarina, A. & Arús, P.** 2023. Development and evaluation of an Axiom™ 60K SNP Array for almond (*Prunus dulcis*). *Plants*, 12(2), 242. doi: 10.3390/plants1202024
- Eduardo, I., López-Girona, E., Batlle, I., Reig, G., Iglesias, I., Howad, W., Arús, P. & Aranzana, M. J.** 2014. Development of diagnostic markers for selection of the subacid trait in peach. *Tree Genetics and Genomes*, 10(6), 1695-1709. doi: 10.1007/s11295-014-0789-y
- Eduardo, I., Pacheco, I., Chietera, G., Bassi, D., Pozzi, C., Vecchiatti, A. & Rossini, L.** 2011. QTL analysis of fruit quality traits in two peach intraspecific populations and importance of maturity date pleiotropic effect. *Tree Genetics and Genomes*, 7(2), 323-335. doi: 10.1007/s11295-010-0334-6
- Egea, J. & García-Brunton J.** 1995. Biología floral de la variedad ciruelo japonés "Santa Rosa". *Fruticultura Profesional*, 71, 12-17.
- Egea, J., Dicenta, F. & Burgos, L.** 2004. "Rojo Pasión" apricot. *HortScience*, 39(6), 1490-1491. doi: 10.21273/hortsci.39.6.1490
- Egea, J., Ortega, E., Martínez-Gómez, P. & Dicenta, F.** 2003. Chilling and heat requirements of almond cultivars for flowering. *Environmental and Experimental Botany*, 50(1), 79-85. doi: 10.1016/S0098-8472(03)00002-9
- Egea, J., Rubio, M., Campoy, J. A., Dicenta, F., Ortega, E., Nortes, M. D., Martínez-Gómez, P., Molina, A., Molina, A. Jr. & Ruiz, D.** 2010. 'Mirlo Blanco', 'Mirlo Anaranjado', and 'Mirlo Rojo': three new very early-season apricots for the fresh market. *HortScience*, 45(12), 1893-1894. doi: 10.21273/HORTSCI.45.12.1893
- Etienne, C., Rothan, C., Moing, A., Plomion, C., Bodénès, C., Svanella-Dumas, L., Cosson, P., Pronier, V., Monet, R. & Dirlewanger, E.** 2002. Candidate genes and QTLs for sugar and organic acid content in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theoretical and Applied Genetics*, 105(1), 145-159. doi: 10.1007/s00122-001-0841-9

- Falchi, R., Vendramin, E., Zanon, L., Scalabrin, S., Cipriani, G., Verde, I., Vizzotto, G. & Morgante, M.** 2013. Three distinct mutational mechanisms acting on a single gene underpin the origin of yellow flesh in peach. *Plant Journal*, 76(2), 175-187. doi: 10.1111/tpj.12283
- Fan, S., Bielenberg, D. G., Zhebentyayeva, T. N., Reighard, G. L., Okie, W. R., Holland, D. & Abbott, A. G.** 2010. Mapping quantitative trait loci associated with chilling requirement, heat requirement and bloom date in peach (*Prunus persica*). *New Phytologist*, 185(4), 917-930. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03119.x
- Fang, Z. Z., Lin-Wang, K., Dai, H., Zhou, D. R., Jiang, C. C., Espley, R. V., Deng, C., Lin, Y. J., Pan, S. L. & Ye, X. F.** 2022. The genome of low-chill Chinese plum "Sanyueli" (*Prunus salicina* Lindl.) provides insights into the regulation of the chilling requirement of flower buds. *Molecular Ecology Resources*, 22(5), 1919-1938. doi: 10.1111/1755-0998.13585
- Fanning, K. J., Topp, B., Russell, D., Stanley, R. & Netzel, M.** 2014. Japanese plums (*Prunus salicina* Lindl.) and phytochemicals - breeding, horticultural practice, postharvest storage, processing and bioactivity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(11), 2137-2147. doi: 10.1002/jsfa.6591
- FAOSTAT.** 2022. *Food and Agriculture Organization. Agricultural statistics database.* <https://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Faust, M. & Surányi, D.** 1998. Origin and dissemination of plums. En J. Janick (Ed.), *Horticultural Reviews* (pp. 179-231). John Wiley & Sons, Ltd. doi: 10.1002/9780470650752.CH4
- Fiol, A., García, S., Dujak, C., Pacheco, I., Infante, R. & Aranzana, M. J.** 2022. An LTR retrotransposon in the promoter of a *PsMYB10.2* gene associated with the regulation of fruit flesh color in Japanese plum. *Horticulture Research*, 9, uhac206. doi: 10.1093/hr/uhac206
- Fiol, A., García-Gómez, B. E., Jurado-Ruiz, F., Alexiou, K., Howad, W. & Aranzana, M. J.** 2021. Characterization of Japanese plum (*Prunus salicina*) *PsMYB10* alleles reveals structural variation and polymorphisms correlating with fruit skin color. *Frontiers in Plant Science*, 12, 655267. doi: 10.3389/fpls.2021.655267
- Fishman, S., Erez, A. & Couvillon, G. A.** 1987. The temperature dependence of dormancy breaking in plants: mathematical analysis of a two-step model involving a cooperative transition. *Journal of Theoretical Biology*, 124, 473-483. doi: 10.1016/S0022-5193(87)80221-7
- Fogle, H. W.** 1958. Inheritance of fruit color in sweet cherries: *Prunus avium*. *Journal of Heredity*, 49(6), 294-298. doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a106830
- Foulongne, M., Pascal, T., Pteiffer, F. & Kervella, J.** 2003. QTLs for powdery mildew resistance in peach × *Prunus davidiana* crosses: consistency across generations and environments. *Molecular Breeding*, 12, 33-50. doi: 10.1023/A:1025417507358
- Fragoso, C. A., Heffelfinger, C., Zhao, H. & Dellaporta, S. L.** 2016. Imputing genotypes in biallelic populations from low-coverage sequence data. *Genetics*, 202(2), 487-495. doi: 10.1534/genetics.115.182071

- Frett, T. J., Reighard, G. L., Okie, W. R. & Gasic, K.** 2014. Mapping quantitative trait loci associated with blush in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Tree Genetics & Genomes*, 10(2), 367-381. doi:10.1007/s11295-013-0692-y
- García-Gómez, B. E., Razi, M., Salazar, J. A., Prudencio, A. S., Ruiz, D., Dondini, L. & Martínez-Gómez, P.** 2018. Comparative analysis of SSR markers developed in exon, intron, and intergenic regions and distributed in regions controlling fruit quality traits in *Prunus* species: genetic diversity and association studies. *Plant Molecular Biology Reporter*, 36(1), 23-35. doi: 10.1007/s11105-017-1058-7
- García-Gómez, B. E., Salazar, J. A., Dondini, L., Martínez-Gómez, P. & Ruiz, D.** 2019. Identification of QTLs linked to fruit quality traits in apricot (*Prunus armeniaca* L.) and biological validation through gene expression analysis using qPCR. *Molecular Breeding*, 39(2). doi: 10.1007/s11032-018-0926-7
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B. & Kader, A. A.** 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4976-4982. doi: 10.1021/jf020136b
- Glaubitz, J. C., Casstevens, T. M., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R. J., Sun, Q. & Buckler, E. S.** 2014. TASSEL-GBS: A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS ONE*, 9(2), e90346. doi: 10.1371/journal.pone.0090346
- Goldschmidt, E. E.** 2013. The evolution of fruit tree productivity: A review. *Economic Botany*, 67(1), 51-62. doi: 10.1007/s12231-012-9219-y
- Gómez, E. & Ledbetter, C. A.** 1993. Transmission of biochemical flavor constituents from apricot and plum to their interspecific hybrid. *Plant Breeding*, 111, 236-241. doi: 10.1111/j.1439-0523.1993.tb00634.x
- Gómez, E. & Ledbetter, C. A.** 1994. Comparative study of the aromatic profiles of two different plum species: *Prunus salicina* Lindl. and *Prunus simonii* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65(1), 111-115. doi: 10.1002/jsfa.2740650116
- Gómez, E. & Ledbetter, C. A.** 1997. Development of volatile compounds during fruit maturation: Characterization of apricot and plum x apricot hybrids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(4), 541-546. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199708)74:4<541::AID-JSFA851>3.0.CO;2-D
- Gómez, E., Ledbetter, C. A. & Hartsell, P. L.** 1993. Volatile compounds in apricot, plum, and their interspecific hybrids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(10), 1669-1676. doi: 10.1021/jf00034a029
- Gómez-Plaza, E. & Ledbetter, C.** 2010. The flavor of plums. En: Y.H. Hui (Ed.), *Handbook of Fruit and Vegetable Flavors* (pp. 415-430). doi: 10.1002/9780470622834.ch22

- González, M., Salazar, E., Castillo, J., Morales, P., Mura-Jornet, I., Maldonado, J., Silva, H. & Carrasco, B.** 2016. Genetic structure based on EST–SSR: a putative tool for fruit color selection in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) breeding programs. *Molecular Breeding*, 36(6). doi: 10.1007/s11032-016-0491-x
- Gu, C., Wang, L., Wang, W., Zhou, H., Ma, B., Zheng, H., Fang, T., Ogutu, C., Vimolmangkang, S. & Han, Y.** 2016. Copy number variation of a gene cluster encoding endopolygalacturonase mediates flesh texture and stone adhesion in peach. *Journal of Experimental Botany*, 67(6), 1993-2005. doi: 10.1093/jxb/erw021
- Guardiola-Martínez, E.** 2019. *Caracterización pomológica y aptitud postcosecha de nuevas selecciones de ciruelo japonés del programa de mejora del CEBAS-CSIC/IMIDA* [Trabajo fin de Máster]. Universidad Miguel Hernández de Elche.
- Guerra, M. E., Corrales, M. L., Wünsch, A. & García, J. R.** 2009b. Ciruelo japonés: Descripción varietal y situación del cultivo. *Revista de Fruticultura*, 1, 3-12.
- Guerra, M. E., López-Corrales, M. & Wünsch, A.** 2012. Improved S-genotyping and new incompatibility groups in Japanese plum. *Euphytica*, 186(2), 445-452. doi: 10.1007/s10681-012-0636-x
- Guerra, M. E., Rangel, E., Guerrero, B. & Rodrigo, J.** 2022. El cultivo del ciruelo japonés: situación, variedades y perspectivas. *Agricultura*, 74-78.
- Guerra, M. E. & Rodrigo, J.** 2015. Japanese plum pollination: A review. *Scientia Horticulturae*, 197, 674-686. doi: 10.1016/j.scienta.2015.10.032
- Guerra, M. E. & Rodrigo, J.** 2017. Ciruelo japonés: renovación varietal y mejora genética. Dossier *Fruticultura*. 462-466.
- Guerra, M. E., Rodrigo, J., López-Corrales, M. & Wünsch, A.** 2009a. S-RNase genotyping and incompatibility group assignment by PCR and pollination experiments in Japanese plum. *Plant Breeding*, 128(3), 304-311. doi: 10.1111/j.1439-0523.2008.01552.x
- Guerra Velo, M. E.** 2011. *Polinización y cuajado en ciruelo japonés*. Tesis Doctoral, Universidad de Extremadura, España. <https://core.ac.uk/download/pdf/71401129.pdf>
- Guerrero, B. I., Guerra, M. E., Herrera, S., Irisarri, P., Pina, A. & Rodrigo, J.** 2021. Genetic diversity and population structure of Japanese plum-type (Hybrids of *P. salicina*) accessions assessed by SSR markers. *Agronomy*, 11(9), 1748. doi: 10.3390/agronomy11091748
- Guerrero, B. I., Guerra, M. E. & Rodrigo, J.** 2022. Simple Sequence Repeat (SSR)-based genetic diversity in interspecific plumcot-type (*Prunus salicina* × *Prunus armeniaca*) hybrids. *Plants*, 11(9), 1241. doi: 10.3390/plants11091241
- Guerrero, B. I., Guerra, M. E. & Rodrigo, J.** 2019. El ciruelo japonés, estructura varietal y necesidades de polinización. La autocompatibilidad, un carácter deseable y objetivo de todos los programas de mejora. *Vida Rural*, 459, 50-54.

- Guevara, A., Nicolás-Almansa, M., Cos, J. E., Salazar, J. A., López, D., Egea, J., Carrillo, A., Rubio, M., García, F. & Ruiz, D.** 2021. "Lucía myrtea" and "victoria myrtea": Two new Japanese plum cultivars with low chilling requirements, early ripening, and high-quality fruit for the fresh market. *HortScience*, 56(11), 1453-1455. doi: 10.21273/HORTSCI16017-21
- Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N. & Tesler, G.** 2013. QCAST: Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072-1075. doi: 10.1093/bioinformatics/btt086
- Hadley, W.** 2016. *Ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag, New York. <https://ggplot2.tidyverse.org>
- Hakoda, N., Toyoda, R., Tabuchi, T., Ogiwara, I., Ishikawa, S. & Shimura, I.** 1998. Morphological characteristics of the interspecific hybrids between Japanese apricot (*Prunus mume*) and plum (*P. salicina*). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 67(5), 708-714. doi: 10.2503/jjshs.67.708
- Halász, J., Pedryc, A., Ercisli, S., Yilmaz, K. U. & Hegedüs, A.** 2010. S-genotyping supports the genetic relationships between Turkish and Hungarian apricot germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(5), 410-417. doi: 10.21273/jashs.135.5.410
- Halász, J., Pedryc, A. & Hegedus, A.** 2007. Origin and dissemination of the pollen-part mutated SC haplotype which confers self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca*). *New Phytologist*, 176(4), 792-803. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02220.x
- Hartmann, W. & Neumüller, M.** 2009. Plum breeding. En: *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species*. (pp. 161-231). Springer New York. doi: 10.1007/978-0-387-71203-1_6
- Hausman, J. F., Evers, D., Thiellement, H. & Jouve, L.** 2000. Compared responses of poplar cuttings and *in vitro* raised shoots to short-term chilling treatments. *Plant Cell Reports*, 19, 954-960. doi: 10.1007/s002990000229
- Hedhly, A., Guerra, M. E., Grimplet, J. & Rodrigo, J.** 2023. S-locus genotyping in Japanese plum by high throughput sequencing using a synthetic S-loci reference sequence. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3932. doi: 10.3390/ijms24043932
- Hedrick, U. P.** 1911. *The Plums of New York*. J.B. Lyon Company, State Printers, Albany.
- Herrera, S., Lora, J., Hormaza, J. I., Herrero, M. & Rodrigo, J.** 2018. Optimizing production in the new generation of apricot cultivars: Self-incompatibility, S-RNase allele identification, and incompatibility group assignment. *Frontiers in Plant Science*, 9, 525. doi: 10.3389/fpls.2018.00527
- Herrera, S., Lora, J., Hormaza, J. I. & Rodrigo, J.** 2021. Pollination management in stone fruit crops. En: Mir, M. M., Iqbal, U., Mir, S. A. (Eds.) *Production Technology of Stone Fruits* (pp. 75-102). Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-15-8920-1_3
- Herrero, M. & Hormaza, J. I.** 1996. Pistil strategies controlling pollen tube growth. *Sexual Plant Reproduction*, 9, 343-347. doi: 10.1007/BF02441953

- Hilaire, C.** 2003. The peach industry in France: state of art, research and development. *Proceedings of the First Mediterranean Peach Symposium, Agrigento, Italy*, 27-34.
- Howard, W. L.** 1945. *Luther Burbank's Plant Contributions*. Agricultural Experiment Station, California University (Ed.), Berkeley, B691.
- Huang, Z., Shen, F., Chen, Y., Cao, K. & Wang, L.** 2021. Chromosome-scale genome assembly and population genomics provide insights into the adaptation, domestication, and flavonoid metabolism of Chinese plum. *Plant Journal*, 108(4), 1174-1192. doi: 10.1111/tpj.15482
- Hurtado, M. A., Romero, C., Vilanova, S., Abbott, A. G., Llácer, G. & Badenes, M. L.** 2002. Genetic linkage maps of two apricot cultivars (*Prunus armeniaca* L.), and mapping of PPV (sharka) resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 105(2-3), 182-191. doi: 10.1007/s00122-002-0936-y
- Ibergen.** 2023. *IberPlum*. <https://iberger.es/iberplum/>
- Iglesias, I. & Echeverría, G.** 2009. Differential effect of cultivar and harvest date on nectarine colour, quality and consumer acceptance. *Scientia Horticulturae*, 120(1), 41-50. doi: 10.1016/j.scienta.2008.09.011
- Igwe, E. O., Charlton, K. E., Roodenrys, S., Kent, K., Fanning, K. & Netzel, M. E.** 2017. Anthocyanin-rich plum juice reduces ambulatory blood pressure but not acute cognitive function in younger and older adults: a pilot crossover dose-timing study. *Nutrition Research*, 47, 28-43. doi: 10.1016/j.nutres.2017.08.006
- Illa, E., Eduardo, I., Audergon, J. M., Barale, F., Dirlwanger, E., Li, X., Moing, A., Lambert, P., Le Dantec, L., Gao, Z., Poëssel, J. L., Pozzi, C., Rossini, L., Vecchietti, A., Arús, P. & Howad, W.** 2011. Saturating the *Prunus* (stone fruits) genome with candidate genes for fruit quality. *Molecular Breeding*, 28(4), 667-682. doi: 10.1007/s11032-010-9518-x
- Illa, E., Lambert, P., Quilot, B., Audergon, J. M., Dirlwanger, E., Howad, W., Dondini, L., Tartarini, S., Lain, O., Testolin, R., Bassi, D. & Arús, P.** 2009. Linkage map saturation, construction, and comparison in four populations of *Prunus*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(6), 168-175. doi: 10.1080/14620316.2009.11512616
- IMB Corp.** 2020. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0*. Armonk, NY: IBM Corp.
- Infante, R., Martínez-Gómez, P. & Predieri, S.** 2008. Quality oriented fruit breeding: Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 6(2), 342-356. doi: 10.1234/4.2008.1239
- Infante, R., Martínez-Gómez, P. & Predieri, S.** 2011. Breeding for fruit quality in *Prunus*. En: M. A. Jenks & P. J. Bebeli (Eds.), *Breeding for fruit quality* (pp. 201-229). doi: 10.1002/9780470959350.ch9
- Ingram, C.** 1948. *Ornamental Cherries*. C. Scribner's Sons (Ed.), Country Life, London. 259 pp.

- Jackson, L. K. & Sherman, W. B.** 1980. Peach and nectarine cultivars from the University of Florida breeding program 1950-90. *Proceedings of the Tropical Region of the American Society for Horticultural Science*, 24, 59-62.
- Jincheng, W., Zhaohui, T., Qun, C., Hailin, X. & Yulan, L.** 2006. The effects of different storage temperatures on lignification and related enzymes activities in loquat pulp. *Wuhan Botanical Research*, 24(3), 235-239.
- Joobeur, T., Periam, N., De Vicente, M. C., King, G. J. & Arús, P.** 2000. Development of a second generation linkage map for almond using RAPD and SSR markers. *Genome*, 43(4), 649-655. doi: 10.1139/g00-040
- Joobeur, T., Viruel, M. A., de Vicente, M. C., Jáuregui, B., Ballester, J., Dettori, M. T., Verde, I., Truco, M. J., Messeguer, R., Batlle, I., Quarta, R., Dirlewanger, E. & Arús, P.** 1998. Construction of a saturated linkage map for *Prunus* using an almond×peach F2 progeny. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(7), 1034-1041. doi: 10.1007/s001220050988
- Jun, J.H. & Chung, K. H.** 2007. Interspecific cross compatibility among plum, apricot and plumcot. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, 25(3), 217-222.
- Jun, J. H., Chung, K. H., Kang, S. J., Kwack, Y. B., Park, K. S., Yun, H. K. & Jeong, S. B.** 2008. "Honey Red", an early maturing Japanese plum. *Journal of the American Pomological Society*, 62(1), 27.
- Jun, J.H., Kwon, J. H. & Chung, K.H.** 2009. Morphological characteristics of interspecific hybrids between Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cv. Soldam and apricot (*P. armeniaca* L.) cv. Harcot. *Horticultural Science & Technology*, 27(2), 269-274.
- Jun, J. H., Kwon, J. H. & Chung, K. H.** 2011. "Harmony" plumcot. *Journal of the American Pomological Society*, 65(2), 47-51. doi: 10.21273/HORTSCI10741-16
- Kao, T. H. & Tsukamoto, T.** 2004. The molecular and genetic bases of S-RNase-based self-incompatibility. *The Plant Cell*, 16, S72-S83. doi: 10.1105/tpc.016154
- Karayiannis, I. & Ledbetter, C.** 2009. Susceptibility of certain apricot and plumcot cultivars to Plum pox virus infection. *Acta Horticulturae*, 825, 153-156. doi: 10.17660/ActaHortic.2009.825.21
- Karayiannis, I., Thomidis, T. & Tsaftaris, A.** 2008. Inheritance of resistance to Plum pox virus in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Tree Genetics and Genomes*, 4(2), 143-148. doi: 10.1007/s11295-007-0095-z
- Karp, D.** 2015. Luther Burbank 's Plums. *HortScience*, 50(2), 189-194. doi: 10.21273/HORTSCI.50.2.189
- Kassambara, A. & Mundt, F.** 2020. *Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses*. (R package version 1.0.7). doi: 10.32614/CRAN.package.factoextra
- Kim, D. O., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H. Y. & Lee, C. Y.** 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6509-6515. doi: 10.1021/jf0343074

- Klabunde, G. H. F., Dalbó, M. A. & Nodari, R. O.** 2014. DNA fingerprinting of Japanese plum (*Prunus salicina*) cultivars based on microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 14(3), 139-145. doi: 10.1590/1984-70332014v14n3a21
- Kritzinger, I.** 2015. *A Study of Broken Stones in Japanese Plums (Prunus salicina Lindl.)*. Tesis Doctoral, Universidad de Stellenbosch, Sudáfrica. <https://scholar.sun.ac.za>
- Kritzinger, I., Lötze, E. & Jooste, M.** 2017. Stone hardening and broken stones in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindl.) evaluated by means of computed tomography scans. *Scientia Horticulturae*, 221, 1-9. doi: 10.1016/j.scienta.2017.04.008
- Kruger, M. J., Davies, N., Myburgh, K. H. & Lecour, S.** 2014. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. *Food Research International*, 59, 41-52. doi: 10.1016/j.foodres.2014.01.046
- Kumar, P., Choudhary, M., Jat, B. S., Kumar, B., Singh, V., Kumar, V., Singla, D. & Rakshit, S.** 2021. Skim sequencing: An advanced NGS technology for crop improvement. *Journal of Genetics*, 100(2), 38. doi: 10.1007/s12041-021-01285-3
- Kwon, J. H., Choi, H. J., Nam, E. Y., Yun, S. K., Kim, S. J. & Lee, J. S.** 2020. Postharvest characteristics of plumcot cultivars bred in Republic of Korea. *Acta Horticulturae*, 1290, 191-196. doi: 10.17660/ActaHortic.2020.1290.33
- Kwon, J. H., Nam, E. Y., Jun, J. H., Chung, K. H., Yun, S. K., Kim, S. J. & Do, Y. S.** 2018. Asian plum diversity based on phenotypic traits in republic of Korea. *Korean Journal of Plant Resources*, 31(3), 254-267. doi: 10.7732/kjpr.2018.31.3.254
- Lalli, D. A., Abbott, A. G., Zhebentyayeva, T. N., Badenes, M. L., Damsteegt, V., Polák, J., Krška, B. & Salava, J.** 2008. A genetic linkage map for an apricot (*Prunus armeniaca* L.) BC1 population mapping Plum pox virus resistance. *Tree Genetics and Genomes*, 4(3), 481-493. doi: 10.1007/s11295-007-0125-x
- Lalli, D. A., Decroocq, V., Blenda, A. V., Schurdi-Levraud, V., Garay, L., Le Gall, O., Damsteegt, V., Reighard, G. L. & Abbott, A. G.** 2005. Identification and mapping of resistance gene analogs (RGAs) in *Prunus*: a resistance map for *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(8), 1504-1513. doi: 10.1007/s00122-005-0079-z
- Lambert, P., Campoy, J. A., Pacheco, I., Mauroux, J. B., Da Silva Linge, C., Micheletti, D., Bassi, D., Rossini, L., Dirlewanger, E., Pascal, T., Troggio, M., Aranzana, M. J., Patocchi, A. & Arús, P.** 2016. Identifying SNP markers tightly associated with six major genes in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using a high-density SNP array with an objective of marker-assisted selection (MAS). *Tree Genetics and Genomes*, 12(6), 121. doi: 10.1007/s11295-016-1080-1
- Lambert, P., Dicenta, F., Rubio, M. & Audergon, J. M.** 2007. QTL analysis of resistance to sharka disease in the apricot (*Prunus armeniaca* L.) "Polonais" x "Stark Early Orange" F1 progeny. *Tree Genetics and Genomes*, 3(4), 299-309. doi: 10.1007/s11295-006-0069-6

- Langmead, B., Wilks, C., Antonescu, V. & Charles, R.** 2019. Scaling read aligners to hundreds of threads on general-purpose processors. *Bioinformatics*, 35(3), 421-432. doi: 10.1093/bioinformatics/bty648
- Layne, R. E. C. & Sherman, W. B.** 1986. Interspecific hybridization of *Prunus*. *HortScience*, 21(1), 48-51. doi: 10.21273/HORTSCI.21.1.48
- Lê, S., Josse, J. & Husson, F.** 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software*, 25(1), 1-18. doi: 10.1016/j.envint.2008.06.007
- Ledbetter, C. A., Peterson, S. J. & Burgos, L.** 1994. Variability of horticultural characteristics among plumcot progenies. *Journal of Genetics and Breeding*, 48(2), 117-124.
- Lee, S. & Wen, J.** 2001. A phylogenetic analysis of *Prunus* and the *Amygdaloideae* (*Rosaceae*) using ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *American Journal of Botany*, 88(1), 150-160. doi: 10.2307/2657135
- Lesley, J. W.** 1940. A genetic study of saucer fruit shape and other characters in the peach. *Proceedings of American Society for Horticultural Science*, 37, 218-222.
- Li, H. & Durbin, R.** 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14), 1754-1760. doi: 10.1093/bioinformatics/btp324
- Li, P., Wu, W., Liu, X., Lin, Y. & Chen, J.** 2015. *Prunus salicina* "Crown", a yellow-fruited Chinese plum. *HortScience*, 50(12), 1822-1824. doi: 10.21273/HORTSCI.50.12.1822
- Li, X., Singh, J., Qin, M., Li, S., Zhang, X., Zhang, M., Khan, A., Zhang, S. & Wu, J.** 2019. Development of an integrated 200K SNP genotyping array and application for genetic mapping, genome assembly improvement and genome wide association studies in pear (*Pyrus*). *Plant Biotechnology Journal*, 17(8), 1582-1594. doi: 10.1111/pbi.13085
- Liu, C., Feng, C., Peng, W., Hao, J., Wang, J., Pan, J. & He, Y.** 2020. Chromosome-level draft genome of a diploid plum (*Prunus salicina*). *GigaScience*, 9(12), gaa130. doi: 10.1093/gigascience/giaa130
- Liu, W., Chen, X., Liu, G., Liang, Q., He, T. & Feng, J.** 2007. Interspecific hybridization of *Prunus persica* with *P. armeniaca* and *P. salicina* using embryo rescue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 88(3), 289-299. doi: 10.1007/s11240-007-9201-z
- Liu, W., Liu, N., Yu, X., Sun, M., Zhang, Y., Xu, M., Zhang, Q. & Liu, S.** 2013. Plum germplasm resources and breeding in Liaoning of China. *Acta Horticulturae*, 985, 43-46. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.985.4
- Llácer, G. & Cambra, M.** 1986. Occurrence of Plum pox virus in Spain in Japanese plum, a new natural host. *Plant Disease*, 70(2), 173. doi: 10.1094/PD-70-173c
- Looney, N. E. & Jackson, D.** 1999. Stonefruit. En: D. I. Jackson & N. E. Looney (Eds.), *Temperate and Subtropical Fruit Production* (2.^a ed., pp. 171-188). CABI Publishing, Wallingford, UK.

- López, G. & Dejong, T. M.** 2007. Spring temperatures have a major effect on early stages of peach fruit growth. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(4), 507-512. doi: 10.1080/14620316.2007.11512266
- López, M., Mnejja, M., Romero, M. A., Vargas, F. J. & Batlle, I.** 2005. Use of Sf specific PCR for early selection of self-compatible seedlings in almond breeding. *Options Méditerranéennes, Série A*, 63, 269-274.
- López-Girona, E., Zhang, Y., Eduardo, I., Mora, J. R. H., Alexiou, K. G., Arús, P. & Aranzana, M. J.** 2017. A deletion affecting an LRR-RLK gene co-segregates with the fruit flat shape trait in peach. *Scientific Reports*, 7(1), 6714. doi: 10.1038/s41598-017-07022-0
- Lora, J., Hormaza, J. I. & Herrero, M.** 2016. The diversity of the pollen tube pathway in plants: Toward an increasing control by the sporophyte. *Frontiers in Plant Science*, 7, 107. doi: 10.3389/fpls.2016.00107
- Lozano, M., Vidal-Aragón, M. C., Hernández, M. T., Ayuso, M. C., Bernalte, M. J., García, J. & Velardo, B.** 2009. Physicochemical and nutritional properties and volatile constituents of six Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars. *European Food Research and Technology*, 228(3), 403-410. doi: 10.1007/s00217-008-0946-3
- Lugli, S., Correale, R., Grandi, M., Sansavini, S., Bertolazzi, M., Pallotti, G. & Tartarini, S.** 2019. Bologna University's plum breeding program. *Acta Horticulturae*, 1260, 23-28. doi: 10.17660/ActaHortic.2019.1260.5
- MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.** 2022. *Anuario de estadística*. <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/>
- Marandel, G., Salava, J., Abbott, A., Candresse, T. & Decroocq, V.** 2009. Quantitative trait loci meta-analysis of Plum pox virus resistance in apricot (*Prunus armeniaca* L.): New insights on the organization and the identification of genomic resistance factors. *Molecular Plant Pathology*, 10(3), 347-360. doi: 10.1111/j.1364-3703.2009.00535.x
- Marchesano, B. M. O., Chiozzotto, R., Baccichet, I., Bassi, D. & Cirilli, M.** 2022. Development of an HRMA-Based Marker Assisted Selection (MAS) approach for cost-effective genotyping of S and M loci controlling self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Genes*, 13(3). doi: 10.3390/genes13030548
- Marti, A. F. I., Sasaki, C. A., Manganaris, G. A., Gasic, K. & Crisosto, C. H.** 2018. Genomic sequencing of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) mutants provides a new model for *Rosaceae* fruit ripening studies. *Frontiers in Plant Science*, 9, 21. doi: 10.3389/fpls.2018.00021
- Martínez-García, P. J., Fresnedo-Ramírez, J., Parfitt, D. E., Gradziel, T. M. & Crisosto, C. H.** 2013b. Effect prediction of identified SNPs linked to fruit quality and chilling injury in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Plant Molecular Biology*, 81(1-2), 161-174. doi: 10.1007/s11103-012-9989-8
- Martínez-García, P. J., Parfitt, D. E., Ogundiwin, E. A., Fass, J., Chan, H. M., Ahmad, R., Lurie, S., Dandekar, A., Gradziel, T. M. & Crisosto, C. H.** 2013a. High density SNP mapping and QTL

analysis for fruit quality characteristics in peach (*Prunus persica* L.). *Tree Genetics and Genomes*, 9(1), 19-36. doi: 10.1007/s11295-012-0522-7

Martínez-García, P. J., Peace, C. P., Parfitt, D. E., Ogundiwin, E. A., Fresnedo-Ramírez, J., Dandekar, A. M., Gradziel, T. M. & Crisosto, C. H. 2012. Influence of year and genetic factors on chilling injury susceptibility in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Euphytica*, 185(2), 267-280. doi: 10.1007/s10681-011-0572-1

Martínez-Gómez, P., Arulsekhar, S., Potter, D. & Gradziel, T. M. 2003. An extended interspecific gene pool available to peach and almond breeding as characterized using simple sequence repeat (SSR) markers. *Euphytica*, 131(3), 313-322. doi: 10.1023/A:1024028518263

Martínez-Gómez, P. & Dicenta, F. 2000. Evaluation of resistance of apricot cultivars to a Spanish isolate of Plum pox potyvirus (PPV). *Plant Breeding*, 119(2), 179-181. doi: 10.1046/j.1439-0523.2000.00457.x

Martínez-Gómez, P., Sánchez-Pérez, R. & Rubio, M. 2012. Clarifying omics concepts, challenges, and opportunities for *Prunus* breeding in the postgenomic era. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 16(5), 268-283. doi: 10.1089/omi.2011.0133

McCubbin, A. G. & Kao, T. 2000. Molecular recognition and response in pollen and pistil interactions. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16(1), 333-364. doi: 10.1146/annurev.cellbio.16.1.333

McGuire, R. G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.

Meier, U., Graf, H., Hack, H., Hess, M., Kennel, W., Klose, R., Mappes, D., Seipp, D., Stauss, R., Streif, J. & Boom, T. V. D. 1994. Phenological growth stages of pome fruits (*Malus domestica* Borkh. and *Pyrus communis* L.), stone fruits (*Prunus* species), currants (*Ribes* species) and strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 46, 141-153.

Merkouropoulos, G., Ganopoulos, I., Tsaftaris, A., Papadopoulos, I. & Drogoudi, P. 2017. Combination of high resolution melting (HRM) analysis and SSR molecular markers speeds up plum genotyping: Case study genotyping the Greek plum GeneBank collection. *Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation*, 15(4), 366-375. doi: 10.1017/S1479262116000022

Milošević, T. & Milošević, N. 2018. Plum (*Prunus* spp.) breeding. En Al-Khayri, J., Jain, S., Johnson, D. (Eds.), *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits*. (Vol. 3, pp. 165-215). Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-91944-7_5

Minas, I. S., Forcada, C. F., Dangl, G. S., Gradziel, T. M., Dandekar, A. M. & Crisosto, C. H. 2015. Discovery of non-climacteric and suppressed climacteric bud sport mutations originating from a climacteric Japanese plum cultivar (*Prunus salicina* Lindl.). *Frontiers in Plant Science*, 6, 316. doi: 10.3389/fpls.2015.00316

Minas, I. S., Tanou, G. & Molassiotis, A. 2018. Environmental and orchard bases of peach fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 235, 307-322. doi: 10.1016/j.scienta.2018.01.028

- Minolta Corporation.** 1994. *Precise Color Communication: Color Control from Feeling to Instrumentation*. Minolta.
- Mnejja, M., García-Mas, J., Audergon, J. M. & Arús, P.** 2010. *Prunus* microsatellite marker transferability across rosaceous crops. *Tree Genetics and Genomes*, 6(5), 689-700. doi: 10.1007/s11295-010-0284-z
- Mnejja, M., García-Mas, J., Howad, W., Badenes, M. L. & Arús, P.** 2004. Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. *Molecular Ecology Notes*, 4(2), 163-166. doi: 10.1111/j.1471-8286.2004.00603.x
- Morimoto, T., Kitamura, Y., Numaguchi, K., Akagi, T. & Tao, R.** 2019. Characterization of post-mating interspecific cross-compatibility in *Prunus* (Rosaceae). *Scientia Horticulturae*, 246, 693-699. doi: 10.1016/j.scienta.2018.11.045
- Mounzer, O. H., Conejero, W., Nicolás, E., Abrisqueta, I., Riego, D., Tapia, L. M., Vera, J., Abrisqueta, J. M. & Ruiz-Sánchez, M. C.** 2008. Growth pattern and phenological stages of early-maturing peach trees under a mediterranean climate. *HortScience*, 43(6), 1813-1818. doi: 10.21273/HORTSCI.43.6.1813
- Muñoz, C., Sepulveda, G., García-Huidobro, J. & Sherman, W. B.** 1986. Determining thermal time and base temperature required for fruit development in low-chilling peaches. *HortScience*, 21(3), 520-522. doi: 10.21273/HORTSCI.21.3.520
- Muzzaffar, S. & Masoodi, F. A.** 2018. Plum cultivars grown in Himalayan temperate conditions: Physicochemical, antioxidant and antiproliferative activity against three cancer cell lines. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 2247-2255. doi: 10.1007/s11694-018-9841-1
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G. & Baloch, F. S.** 2018. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 32(2), 261-285. doi: 10.1080/13102818.2017.1400401
- Nam, E. Y., Jun, J. H., Chung, K. H., Kwon, J. H., Yun, S. K., Yun, I. K. & Cho, K. H.** 2016. 'Tiffany' red-fleshed plumcot. *HortScience*, 51(10), 1304-1307. doi: 10.21273/HORTSCI10741-16
- Nam, E. Y., Jun, J. H., Chung, K. H., Yoon, I. K., Yun, S. K. & Kwon, J. H.** 2013. A new plumcot cultivar 'Symphony'. *Proceedings of the Korean Society for Horticultural Science*, 31(1), 136.
- Nam, E. Y., Jun, J. H., Kwon, J. H., Chung, K. H., Yoon, I. K. & Yun, S. K.** 2015. A new plumcot cultivar 'Shiny'. *Proceedings of the Korean Society for Horticultural Science*, 31(1), 143.
- Netzel, M., Fanning, K., Netzel, G., Zabarás, D., Dougal, R. & Stanley, R.** 2010. 'Queen Garnet' plum, a new plum variety rich in antioxidant compounds: first results from a pilot study with healthy human subjects. En: Division of Agricultural & Food Chemistry, American Chemical

Society, Cornucopia. *Abstracts of 240th American Chemical Society National Meeting*, Boston, MA, United States.

- Netzel, M., Fanning, K., Netzel, G., Zabarás, D., Karagianis, G., Treloar, T., Russell, D. & Stanley, R.** 2012. Urinary excretion of antioxidants in healthy humans following 'Queen Garnet' plum juice ingestion: A new plum variety rich in antioxidant compounds. *Journal of Food Biochemistry*, 36(2), 159-170. doi: 10.1111/j.1745-4514.2010.00522.x
- Neumüller, M., Dittrich, F., Hartmann, W., Hadersdorfer, J. & Treutter, D.** 2017. First report on the generation of *Prunus domestica* × *P. armeniaca* interspecific hybrids with hypersensitivity resistance to the Plum pox virus. *Acta Horticulturae*, 1172, 15-20. doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1172.3
- Niu, J. L., Liu, M. X. & Peng, Q. M.** 2015. Analysis of main index components and cluster of plumcot "Weihou" during different harvest periods. *Xingjiang Agricultural Sciences*, 52(1), 33-36.
- Nuñez-Lillo, G., Balladares, C., Pavez, C., Urra, C., Sanhueza, D., Vendramin, E., Dettori, M. T., Arús, P., Verde, I., Blanco-Herrera, F., Campos-Vargas, R. & Meneses, C.** 2019. High-density genetic map and QTL analysis of soluble solid content, maturity date, and mealiness in peach using genotyping by sequencing. *Scientia Horticulturae*, 257, 108734. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108734
- Ogawa, Y., Kondo, N. & Shibusawa, S.** 2003. Inside quality evaluation of fruit by X-ray image. *Proceedings IEEE/ASME International Conference on Advanced Intelligent Mechatronics*, 2, 1360-1365. doi: 10.1109/AIM.2003.1225541
- Ogundiwin, E. A., Peace, C. P., Gradziel, T. M., Parfitt, D. E., Bliss, F. A. & Crisosto, C. H.** 2009. A fruit quality gene map of *Prunus*. *BMC Genomics*, 10, 587. doi: 10.1186/1471-2164-10-587
- Okie, W. R.** 2005. 'Spring Satin' plumcot. *Journal of the American Pomological Society*, 59(3), 119-124.
- Okie, W. R.** 2006. Introgression of *Prunus* species in plum. *New York Fruit Quarterly*, 14(1), 29-37.
- Okie, W. R.** 2008. *Prunus domestica* (European plum) and *Prunus salicina* (Japanese plum). En: J. Janick & R.E. Paull (Eds.), *The Encyclopedia of Fruit and Nuts*. Cambridge (U.K): Cambridge University Press, 694-705.
- Okie, W. R. & Hancock, J. F.** 2008. Plums. En: J. F. Hancock (Ed.), *Temperate Fruit Crop Breeding* (pp. 337-357). Springer, Dordrecht. doi: 10.1007/978-1-4020-6907-9_11
- Okie, W. R. & Ramming, D. W.** 1999. Plum breeding worldwide. *HortTechnology*, 9(2), 162-176. doi: 10.21273/horttech.9.2.162
- Okie, W. R. & Weinberger, J. H.** 1996. Plum. En: J. Janick & J. N. Moore (Eds.), *Fruit Breeding, Tree and Tropical Fruits* (pp. 559-609). John Wiley & Sons, Ltd.
- Olukolu, B. A., Trainin, T., Fan, S., Kole, C., Bielenberg, D. G., Reighard, G. L., Abbott, A. G. & Holland, D.** 2009. Genetic linkage mapping for molecular dissection of chilling requirement and budbreak in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Genome*, 52(10), 819-828. doi: 10.1139/G09-050

- Ouellette, L. A., Reid, R. W., Blanchard, S. G. & Brouwer, C. R.** 2018. LinkageMapView-rendering high-resolution linkage and QTL maps. *Bioinformatics*, 34(2), 306-307. doi: 10.1093/bioinformatics/btx576
- Peace, C. P., Crisosto, C. H. & Gradziel, T. M.** 2005. Endopolygalacturonase: A candidate gene for freestone and melting flesh in peach. *Molecular Breeding*, 16(1), 21-31. doi: 10.1007/s11032-005-0828-3
- Peakall, R. & Smouse, P. E.** 2012. GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Pérez, M., Jiménez, S., Ebrahimzadeh, A., Verdejo, M., Chaves, A. & Lao, T.** 2008. Propuesta de una metodología para la determinación del color del tejido vegetal. *Actas de Horticultura*, 52, 237-242.
- Pérez, S. & Moore, J. N.** 1985. Prezygotic endogenous barriers to interspecific hybridization in *Prunus*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110(2), 267-273.
- Pérez-Jiménez, M., Guevara-Gázquez, A., Carrillo-Navarro, A. & Cos-Terrer, J.** 2021. How carbon source and seedcoat influence the in vitro culture of peach (*Prunus persica* L. Batsch) immature seeds. *HortScience*, 56(2), 136-137. doi: 10.21273/HORTSCI15502-20
- Petri, C., Albuquerque, N., Faize, M., Scorza, R. & Dardick, C.** 2018. Current achievements and future directions in genetic engineering of European plum (*Prunus domestica* L.). *Transgenic Research*, 27(3), 225-240. doi: 10.1007/s11248-018-0072-3
- Petri, C., Ruiz, D., Faize, M., Burgos, L. & Albuquerque, N.** 2020. *Prunus domestica* plum. En: Litz, R.E., Pliego-Alfaro, F., Hormaza, J.I. (Eds.), *Biotechnology of Fruit and Nut Crops* (pp. 512-531), CABI: High Springs, FL, USA. doi: 10.1079/9781780648279.051.
- Picañol, R., Eduardo, I., Aranzana, M. J., Howad, W., Batlle, I., Iglesias, I., Alonso, J. M. & Arús, P.** 2013. Combining linkage and association mapping to search for markers linked to the flat fruit character in peach. *Euphytica*, 190(2), 279-288. doi: 10.1007/s10681-012-0844-4
- Pilařová, P., Marandel, G., Decroocq, V., Salava, J., Krška, B. & Abbott, A. G.** 2010. Quantitative trait analysis of resistance to Plum pox virus in the apricot F1 progeny "Harlayne" × "Vestar". *Tree Genetics and Genomes*, 6(3), 467-475. doi: 10.1007/s11295-009-0264-3
- Poland, J. A., Brown, P. J., Sorrells, M. E. & Jannink, J. L.** 2012. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS ONE*, 7(2). doi: 10.1371/journal.pone.0032253
- Polo-Oltra, A., Romero, C., López, I., Badenes, M. L. & Zuriaga, E.** 2020. Cost-effective and time-efficient molecular assisted selection for PPV resistance in apricot based on ParPMC2 allele-specific PCR. *Agronomy*, 10(9), 1292. doi: 10.3390/agronomy10091292
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R. C., Oh, S., Smedmark, J. E. E., Morgan, D. R., Kerr, M., Robertson, K. R., Arsenault, M., Dickinson, T. A. & Campbell, C. S.** 2007. Phylogeny and

classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 266(1-2), 5-43. doi: 10.1007/s00606-007-0539-9

Provedo. 2017. Ciruelas que evocan al albaricoque. <https://www.provedo.com/es/ciruelas-evocan-al-albaricoque/>

Qiao, Y. S., Fang, J. G., Cong, Y., Zhou, J. & Zhang, Z. 2007. Analysis of genetic diversity of Japanese plum cultivars based on RAPD, ISSR and SSR markers. *Acta Horticulturae*, 763, 177-184. doi: 10.17660/ActaHortic.2007.763.23

Quarta, R., Dettori, M. T., Sartori, A. & Verde, I. 1998. Genetic linkage map and QTL analysis in peach. *Acta Horticulturae*, 521, 233-242. doi: 10.17660/ActaHortic.2000.521.26

Quero-García, J., Fodor, A., Reignier, A., Capdeville, G., Joly, J., Tauzin, Y., Fouilhaux, L. & Dirlewanger, E. 2009a. QTL detection of important agronomic traits for sweet cherry breeding. *Acta Horticulturae*, 1020, 57-64. doi: 10.17660/ActaHortic.2014.1020.5

Quilot, B., Wu, B. H., Kervella, J., Génard, M., Foulongne, M. & Moreau, K. 2004. QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between *Prunus persica* cultivars and the wild relative species *P. davidiana*. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(4), 884-897. doi: 10.1007/s00122-004-1703-z

Ragland, C. H. 1934. The development of the peach fruit, with special reference to split-pit and gumming. *Proceedings American Society for Horticultural Science*, 31, 1-21.

Raouf Malik, A., Raja, R. H. S. & Javaid, R. 2021. Physiological disorders in stone fruits. En: M. M., Mir, U., Iqbal, S. A., Mir. (Eds.) *Production Technology of Stone Fruits* (pp. 189-209). Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-15-8920-1_7

Rawandoozi, Z. J., Hartmann, T. P., Carpenedo, S., Gasic, K., da Silva Linge, C., Cai, L., Van de Weg, E. & Byrne, D. H. 2021. Mapping and characterization QTLs for phenological traits in seven pedigree-connected peach families. *BMC Genomics*, 22(187). doi: 10.1186/s12864-021-07483-8

Rehder, A. 1940. *Manual of Cultivated Trees and Shrubs Hardy in North America Exclusive of the Subtropical and Warmer Temperate Regions* (2.^a ed.). New York, Macmillan Company. 996 pp.

Revord, R. S., Lovell, S. T., Brown, P., Capik, J. & Molnar, T. J. 2020. Using genotyping-by-sequencing derived SNPs to examine the genetic structure and identify a core set of *Corylus americana* germplasm. *Tree Genetics & Genomes*, 16(65). doi: 10.1007/s11295-020-01462-y

Rodrigo, J. & Guerra, M. E. 2014. Cerezo y ciruelo. En: JJ., Hueso Martín, J., Cuevas González, (Eds.) *La Fruticultura del Siglo XXI en España* .107-124. doi:10.13140/2.1.1513.3446

Roeding, G. C. 1908. *New Products of the Trees: A Treatise on Luther Burbank's Late Introductions*. Fancher Creek Nurseries (Ed.), Fresno California. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.87113>

Romero, C., Vilanova, S., Burgos, L., Martínez-Calvo, J., Vicente, M., Llácer, G. & Badenes, M. L. 2004. Analysis of the S-locus structure in *Prunus armeniaca* L. Identification of S-haplotype

specific S-RNase and F-box genes. *Plant Molecular Biology*, 56, 145-157. doi: 10.1007/s11103-004-2651-3

- Romeu, J. F., Monforte, A. J., Sánchez, G., Granell, A., García-Brunton, J., Badenes, M. L. & Ríos, G.** 2014. Quantitative trait loci affecting reproductive phenology in peach. *BMC Plant Biology*, 14(52). doi: 10.1186/1471-2229-14-52
- Rosyara, U. R., Bink, M. C. A. M., van de Weg, E., Zhang, G., Wang, D., Sebolt, A., Dirlewanger, E., Quero-García, J., Schuster, M. & Iezzoni, A. F.** 2013. Fruit size QTL identification and the prediction of parental QTL genotypes and breeding values in multiple pedigreed populations of sweet cherry. *Molecular Breeding*, 32(4), 875-887. doi: 10.1007/s11032-013-9916-y
- RStudio Team.** 2023. *RStudio: Integrated Development for R* (2023.6.1.524). RStudio, PBC, Boston, MA. <http://www.posit.co/>
- Rubio, M., Dicenta, F. & Martínez-Gómez, P.** 2019. Plum pox virus: detection and management. En: X., Xu & M., Fountain (Eds.), *Integrated Management of Diseases and Insect Pests of Tree Fruit* (pp. 179-198). Burleigh Dodds Science Publishing. doi: 10.19103/as.2019.0046.10
- Rubio, M., Dicenta, F., Martínez-Gómez, P., Egea, J. & Ruiz, D.** 2011b. Evaluation of sharka resistance in new cultivars and selections of the apricot breeding programme at CEBAS-CSIC in Murcia (Spain). *Acta Horticulturae*, 899, 95-102. doi: 10.17660/actahortic.2011.899.11
- Rubio, M., García-Ibarra, A., Dicenta, F. & Martínez-Gómez, P.** 2011a. Plum pox virus (sharka) sensitivity in *Prunus salicina* and *Prunus cerasifera* cultivars against a Dideron-type isolate. *Plant Breeding*, 130(2), 283-286. doi: 10.1111/j.1439-0523.2010.01813.x
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P. & Dicenta, F.** 2023. Apricot breeding for multiple resistance to Plum pox virus and apple chlorotic leaf spot virus. *Scientia Horticulturae*, 309, 111706. doi: 10.1016/j.scienta.2022.111706
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., García, J. A. & Dicenta, F.** 2013. Interspecific transfer of resistance to Plum pox virus from almond to peach by grafting. *Annals of Applied Biology*, 163(3), 466-474. doi: 10.1111/aab.12069
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., García-Brunton, J., Pascal, T., García-Ibarra, A. & Dicenta, F.** 2012. Sensitivity of peach cultivars against a Dideron isolate of Plum pox virus. *Scientia Horticulturae*, 144, 81-86. doi: 10.1016/j.scienta.2012.06.038
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., Pinochet, J. & Dicenta, F.** 2005. Evaluation of resistance to sharka (Plum pox virus) of several *Prunus* rootstocks. *Plant Breeding*, 124(1), 67-70. doi: 10.1111/j.1439-0523.2004.01068.x
- Rubio, M., Pascal, T., Bachellez, A. & Lambert, P.** 2010. Quantitative trait loci analysis of Plum pox virus resistance in *Prunus davidiana* P1908: New insights on the organization of genomic resistance regions. *Tree Genetics and Genomes*, 6(2), 291-304. doi: 10.1007/s11295-009-0249-2

- Rubio, M., Ruiz, D., Egea, J., Martínez-Gómez, P. & Dicenta, F.** 2014. Opportunities of marker-assisted selection for Plum pox virus resistance in apricot breeding programs. *Tree Genetics and Genomes*, 10(3), 513-525. doi: 10.1007/s11295-014-0700-x
- Ruiz, D., Cos, J., Carrillo, A., Frutos, D., García, F. & Egea, J.** 2011. La mejora varietal, factor crucial en el presente y futuro del ciruelo japonés en España. *Vida Rural*, 338, 32-35.
- Ruiz, D., Cos, J., Egea, J., García, F., Nortes, M. D., Carrillo, A. & Guevara, A.** 2019. Progress in the Japanese plum (*Prunus salicina* L.) breeding program developed by CEBAS-CSIC and IMIDA in Murcia, Spain. *Acta Horticulturae*, 1260, 47-48. doi: 10.17660/ActaHortic.2019.1260.9
- Ruiz, D., Cos, J., Nicolás-Almansa, M., Egea, J., García, F., Carrillo, A., Rubio, M., López, D., Salazar, J. A. & Guevara, A.** 2021. New promising Japanese plum cultivars for warm areas from CEBAS-CSIC/IMIDA breeding programme. *Acta Horticulturae*, 1322, 55-60. doi: 10.17660/ActaHortic.2021.1322.9
- Ruiz, D. & Egea, J.** 2008. Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in apricot (*Prunus armeniaca* L.) germplasm. *Euphytica*, 163(1), 143-158. doi: 10.1007/s10681-007-9640-y
- Ruiz, D., Egea, J., Salazar, J. A. & Campoy, J. A.** 2018. Chilling and heat requirements of Japanese plum cultivars for flowering. *Scientia Horticulturae*, 242, 164-169. doi: 10.1016/j.scienta.2018.07.014
- Ruiz, D., Egea, J., Tomás-Barberán, F. A. & Gil, M. I.** 2005. Carotenoids from new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties and their relationship with flesh and skin color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6368-6374. doi: 10.1021/jf0480703
- Ruiz, D., Egea, J., Ureña, R., García, F., Carrillo, A., Frutos, D. & Cos, J.** 2010a. Nuevo programa de mejora genética de ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.). *Actas de Horticultura*, 55, 243-244.
- Ruiz, D., Lambert, P., Audergon, J. M., Dondini, L., Tartarini, S., Adami, M., Gennari, F., Cervellati, C., De Franceschi, P., Sansavini, S., Bureau, S., Gouble, B., Reich, M., Renard, C. M. G. C., Bassi, D & Testolin, R.** 2010b. Identification of QTLs for fruit quality traits in apricot. *Acta Horticulturae*, 862, 587-592. doi: 10.17660/ActaHortic.2010.862.93
- Ruiz, D., Reich, M., Bureau, S., Renard, C. M. G. C. & Audergon, J. M.** 2008. Application of reflectance colorimeter measurements and infrared spectroscopy methods to rapid and nondestructive evaluation of carotenoids content in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 4916-4922. doi: 10.1021/jf7036032
- Ruiz, D., Salazar, J. A., Nortes, M. D., Martínez-Gómez, P., Egea, J., Audergon, J. M., Clauzel, G., Blanc, A., Lambert, P., Bureau, S., Gouble, B., Reich, M., Relling, P., Renard, C. M. G. C., Dondini, L. & Tartarini, S.** 2012. Inheritance of fruit quality traits in apricot progenies. *Acta Horticulturae*, 966, 93-99. doi: 10.17660/ActaHortic.2012.966.14
- Sahamishirazi, S., Moehring, J., Claupein, W. & Graeff-Hoenninger, S.** 2017. Quality assessment of 178 cultivars of plum regarding phenolic, anthocyanin and sugar content. *Food Chemistry*, 214, 694-701. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.07.070

- Salazar, J. A., Pacheco, I., Shinya, P., Zapata, P., Silva, C., Aradhya, M., Velasco, D., Ruiz, D., Martínez-Gómez, P. & Infante, R.** 2017. Genotyping by sequencing for SNP-Based linkage analysis and identification of QTLs linked to fruit quality traits in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-14. doi: 10.3389/fpls.2017.00476
- Salazar, J. A., Pacheco, I., Silva, C., Zapata, P., Shinya, P., Ruiz, D., Martínez-Gómez, P. & Infante, R.** 2018. Development and applicability of GBS approach for genomic studies in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 94(3), 284-294. doi: 10.1080/14620316.2018.1543559
- Salazar, J. A., Pacheco, I., Zapata, P., Shinya, P., Ruiz, D., Martínez-Gómez, P. & Infante, R.** 2020. Identification of loci controlling phenology, fruit quality and post-harvest quantitative parameters in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Postharvest Biology and Technology*, 169, 111292. doi: 10.1016/j.postharvbio.2020.111292
- Salazar, J. A., Ruiz, D., Campoy, J. A., Sánchez-Pérez, R., Crisosto, C. H., Martínez-García, P. J., Blenda, A., Jung, S., Main, D., Martínez-Gómez, P. & Rubio, M.** 2014. Quantitative Trait Loci (QTL) and Mendelian Trait Loci (MTL) analysis in *Prunus*: A breeding perspective and beyond. *Plant Molecular Biology Reporter*, 32(1), 1-18. doi: 10.1007/s11105-013-0643-7
- Salazar, J. A., Ruiz, D., Campoy, J. A., Tartarini, S., Dondini, L. & Martínez-Gómez, P.** 2016. Inheritance of reproductive phenology traits and related QTL identification in apricot. *Tree Genetics and Genomes*, 12(4). doi: 10.1007/s11295-016-1027-6
- Salazar, J. A., Ruiz, D., Egea, J. & Martínez-Gómez, P.** 2013. Transmission of fruit quality traits in apricot (*Prunus armeniaca* L.) and analysis of linked Quantitative Trait Loci (QTLs) using Simple Sequence Repeat (SSR) markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 31(6), 1506-1517. doi: 10.1007/s11105-013-0625-9
- Salazar Martínez, J. A.** 2014. Bases genéticas y moleculares de la calidad del fruto en albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.). Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, España. <http://hdl.handle.net/10201/41207>
- Sallom, A., Fatahi, R., Zamani, Z. & Ebadi, A.** 2021. Optimization in vitro conditions for plum × apricot embryo rescue and modeling some critical factors by using artificial neural networks technology. *Scientia Horticulturae*, 289, 110487. doi: 10.1016/j.scienta.2021.110487
- Sánchez-Navarro, J. A., Aparicio, F., Herranz, M. C., Minafra, A., Myrta, A. & Pallás, V.** 2005. Simultaneous detection and identification of eight stone fruit viruses by one-step RT-PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 111, 77-84. doi: 10.21273/hortsci.40.5.1401
- Sánchez-Pérez, R., Dicenta, F. & Martínez-Gómez, P.** 2004. Identification of S-alleles in almond using multiplex PCR. *Euphytica*, 138(3), 263-269. doi: 10.1023/B:EUPH.0000047097.96271.bf
- Sánchez-Pérez, R., Dicenta, F. & Martínez-Gómez, P.** 2012. Inheritance of chilling and heat requirements for flowering in almond and QTL analysis. *Tree Genetics and Genomes*, 8(2), 379-389. doi: 10.1007/s11295-011-0448-5

- Sánchez-Pérez, R., Howad, W., Dicenta, F., Arús, P. & Martínez-Gómez, P.** 2007a. Mapping major genes and quantitative trait loci controlling agronomic traits in almond. *Plant Breeding*, 126(3), 310-318. doi: 10.1111/j.1439-0523.2007.01329.x
- Sánchez-Pérez, R., Ortega, E., Duval, H., Martínez-Gómez, P. & Dicenta, F.** 2007b. Inheritance and relationships of important agronomic traits in almond. *Euphytica*, 155(3), 381-391. doi: 10.1007/s10681-006-9339-5
- Sandefur, P., Oraguzie, N. & Peace, C.** 2016. A DNA test for routine prediction in breeding of sweet cherry fruit color, Pav-Rf-SSR. *Molecular Breeding*, 36(3), 33. doi: 10.1007/s11032-016-0458-y
- Santhakumar, A. B., Kundur, A. R., Fanning, K., Netzel, M., Stanley, R. & Singh, I.** 2015. Consumption of anthocyanin-rich Queen Garnet plum juice reduces platelet activation related thrombogenesis in healthy volunteers. *Journal of Functional Foods*, 12, 11-22. doi: 10.1016/j.jff.2014.10.026
- Saure, M. C.** 1985. Dormancy release in deciduous fruit trees. *Horticultural Reviews*, 7, 239-300.
- Schmidt, H.** 1998. On the genetics of fruit colour in sweet cherries. *Acta Horticulturae*, 468, 77-82. doi: 10.17660/ActaHortic.1998.468.6
- Scorza, R. & Sherman, W. B.** 1996. Peaches. En: J. Janick & J. N. Moore (Eds.), *Fruit Breeding, Tree and Tropical Fruits* (pp. 325-440). John Wiley & Sons, New York.
- Sicard, O., Marandel, G., Soriano, J. M., Lalli, D. A., Lambert, P., Salava, J., Badenes, M. L., Abbott, A. & Decroocq, V.** 2008. Flanking the major Plum pox virus resistance locus in apricot with co-dominant markers (SSRs) derived from candidate resistance genes. *Tree Genetics and Genomes*, 4(2), 359-365. doi: 10.1007/s11295-007-0114-0
- Simão, F. A., Waterhouse, R. M., Ioannidis, P., Kriventseva, E. V. & Zdobnov, E. M.** 2015. BUSCO: Assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs. *Bioinformatics*, 31(19), 3210-3212. doi: 10.1093/bioinformatics/btv351
- Simonavice, E., Liu, P.-Y., Ilich, J. Z., Kim, J.-S., Arjmandi, B. & Panton, L. B.** 2014. The effects of a 6-month resistance training and dried plum consumption intervention on strength, body composition, blood markers of bone turnover, and inflammation in breast cancer survivors. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 39(6), 730-739. doi: 10.1139/apnm-2013-028
- Sims, E. T. & Comin, D.** 1963. Evaluation of objective maturity indices for Halehaven peaches. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 82, 125-130.
- Singh, D., Kumar, R. & Selvan Thiru.** 1997. Interspecific hybridization between plums and apricots to develop plumcots/cotplums. *Journal of Tree Sciences*, 16(2), 96-100.
- Singh, S. P., Singh, Z. & Swinny, E. E.** 2009. Sugars and organic acids in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindl.) as influenced by maturation, harvest date, storage temperature and period. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(10), 1973-1982. doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02015.x

- Sociás R. & Felipe, A. J.** 1987. Self-compatibility in almond: transmission and recent advances in breeding. *Acta Horticulturae*, 224, 307-318. doi: 10.17660/ActaHortic.1988.224.38
- Socquet-Juglard, D., Christen, D., Devènes, G., Gessler, C., Duffy, B. & Patocchi, A.** 2013. Mapping architectural, phenological, and fruit quality QTLs in apricot. *Plant Molecular Biology Reporter*, 31(2), 387-397. doi: 10.1007/s11105-012-0511-x
- Sonneveld, T., Robbins, T. P., Bošković, R. & Tobutt, K. R.** 2001. Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific PCR detection. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(6), 1046-1055. doi: 10.1007/s001220000525
- Sonneveld, T., Robbins, T. P. & Tobutt, K. R.** 2006. Improved discrimination of self-incompatibility S-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. *Plant Breeding*, 125(3), 305-307. doi: 10.1111/j.1439-0523.2006.01205.x
- Sooriyapathirana, S. S., Khan, A., Sebolt, A. M., Wang, D., Bushakra, J. M., Lin-Wang, K., Allan, A. C., Gardiner, S. E., Chagné, D. & Iezzoni, A. F.** 2010. QTL analysis and candidate gene mapping for skin and flesh color in sweet cherry fruit (*Prunus avium* L.). *Tree Genetics and Genomes*, 6(6), 821-832. doi: 10.1007/s11295-010-0294-x
- Soriano, J. M., Domingo, M. L., Zuriaga, E., Romero, C., Zhebentyayeva, T., Abbott, A. G. & Badenes, M. L.** 2012. Identification of simple sequence repeat markers tightly linked to Plum pox virus resistance in apricot. *Molecular Breeding*, 30(2), 1017-1026. doi: 10.1007/s11032-011-9685-4
- Soriano, J. M., Vera-Ruiz, E. M., Vilanova, S., Martínez-Calvo, J., Llácer, G., Badenes, M. L. & Romero, C.** 2008. Identification and mapping of a locus conferring plum pox virus resistance in two apricot-improved linkage maps. *Tree Genetics and Genomes*, 4(3), 391-402. doi: 10.1007/s11295-007-0118-9
- Soriano, J. M., Vilanova, S., Romero, C., Llácer, G. & Badenes, M. L.** 2005. Characterization and mapping of NBS-LRR resistance gene analogs in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 110(5), 980-989. doi: 10.1007/s00122-005-1920-0
- Stacewicz-Sapuntzakis, M., Bowen, P. E., Hussain, E. A., Damayanti-Wood, B. I. & Farnsworth, N. R.** 2001. Chemical composition and potential health effects of prunes: A functional food? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(4), 254-286. doi: 10.1080/20014091091814
- Sutherland, B. G., Tobutt, K. R. & Robbins, T. P.** 2008. Trans-specific S-RNase and SFB alleles in *Prunus* self-incompatibility haplotypes. *Molecular Genetics and Genomics*, 279(1), 95-106. doi: 10.1007/s00438-007-0300-7
- Sutula, C.L., Gillett, J.M., Morrissey, S.M. & Ramsdell, D. C.** 1986. Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. *Plant Disease*, 70(8), 722-726. doi: 10.1094/PD-70-722
- Swarts, K., Li, H., Romero Navarro, J. A., An, D., Romay, M. C., Hearne, S., Acharya, C., Glaubitz, J. C., Mitchell, S., Elshire, R. J., Buckler, E. S. & Bradbury, P. J.** 2014. Novel methods to

optimize genotypic imputation for Low-Coverage, Next-Generation Sequence data in crop plants. *The Plant Genome*, 7(3). doi: 10.3835/plantgenome2014.05.0023

Szymajda, M., Napiórkowska, B., Korbin, M. & Żurawicz, E. 2015. Studies on the interspecific crossing compatibility among three *Prunus* species and their hybrids. *Horticultural Science*, 42(2), 70-82. doi: 10.17221/273/2014-hortsci

Szymajda, M., Studnicki, M., Kuras, A. & Żurawicz, E. 2022. Cross-compatibility in interspecific hybridization between three *Prunus* species. *South African Journal of Botany*, 146, 624-633. doi: 10.1016/j.sajb.2021.11.036

Tadeo, F. R., Terol, J., Rodrigo, M. J., Licciardello, C. & Sadka, A. 2020. Fruit growth and development. En M. Talon, M. Caruso, & F. G. Gmitter (Eds.), *The Genus Citrus* (pp. 245–269). Woodhead Publishing. doi: 10.1016/B978-0-12-812163-4.00012-7

Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. doi: 10.1093/molbev/msab120

Tani, E., Polidoros, A. N. & Tsiftaris, A. S. 2007. Characterization and expression analysis of FRUITFULL- and SHATTERPROOF-like genes from peach (*Prunus persica*) and their role in split-pit formation. *Tree Physiology*, 27(5), 649-659. doi: 10.1093/treephys/27.5.649

Tani, E., Tsaballa, A., Stedel, C., Kalloniati, C., Papaefthimiou, D., Polidoros, A., Darzentas, N., Ganopoulos, I., Flemetakis, E., Katinakis, P. & Tsiftaris, A. 2011. The study of a SPATULA-like bHLH transcription factor expressed during peach (*Prunus persica*) fruit development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(6), 654-663. doi: 10.1016/j.plaphy.2011.01.020

Tao, R., Yamane, H., Sassa, H., Mori, H., Gradziel, T. M., Dandekar, A. M. & Sugiura, A. 1997. Identification of stylar RNases associated with gametophytic self-incompatibility in almond (*Prunus dulcis*). *Plant and Cell Physiology*, 38(3), 304-311. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a029167

Tao, R., Yamane, H., Sugiura, A., Murayama, H., Sassa, H. & Mori, H. 1999. Molecular typing of S-alleles through identification, characterization and cDNA cloning for S-RNases in sweet cherry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124(3), 224-23. doi: 10.21273/jashs.124.3.224

Theiler-Hedtrich, R. 1994. Inheritance of tree and fruit characters in progenies from crosses of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Euphytica*, 77(1), 37-44. doi: 10.1007/BF02551458

Thérèse Navarro, A., Bourke, P. M., van de Weg, E., Clot, C. R., Arens, P., Finkers, R. & Maliepaard, C. 2023. Smooth Descent: A ploidy-aware algorithm to improve linkage mapping in the presence of genotyping errors. *Frontiers in Genetics*, 14, 1049988. doi: 10.3389/fgene.2023.1049988

Tomás-Barberán, F. A., Ruiz, D., Valero, D., Rivera, D., Obón, C., Sánchez-Roca, C. & Gil, M. I. 2013. Health benefits from pomegranates and stone fruit, including plums, peaches, apricots and cherries. En: M. Skinner & D. Hunter (Eds.), *Bioactives in Fruit* (pp. 125-167). John Wiley & Sons, Ltd. doi: 10.1002/9781118635551.ch7

- Tong, Z., Qu, S., Zhang, J., Wang, F., Tao, J., Gao, Z. & Zhang, Z.** 2012. A modified protocol for RNA extraction from different peach tissues suitable for gene isolation and real-time PCR analysis. *Molecular Biotechnology*, 50(3), 229-236. doi: 10.1007/s12033-011-9433-3
- Topp, B. L., Russell, D. M., Neumüller, M., Dalbó, M. A. & Liu, W.** 2012. Plum. En Badenes, M., Byrne, D. (Eds.), *Fruit Breeding* (pp. 571-621). Handbook of Plant Breeding, Springer, US. doi: 10.1007/978-1-4419-0763-9_15
- UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales).** 2011. *TG/84/4* Corr. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad del ciruelo japonés. Ginebra. Código UPOV: PRUNU_SAL. <https://doi.org/10.34667/tind.49869>
- Usenik, V., Kastelec, D., Veberič, R. & Štampar, F.** 2008. Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.). *Food Chemistry*, 111(4), 830-836. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.04.057
- Valderrama-Soto, D., Salazar, J., Sepúlveda-González, A., Silva-Andrade, C., Gardana, C., Morales, H., Battistoni, B., Jiménez-Muñoz, P., González, M., Peña-Neira, Á., Infante, R. & Pacheco, I.** 2021. Detection of Quantitative Trait Loci controlling the content of phenolic compounds in an asian plum (*Prunus salicina* Lindl.) F1 population. *Frontiers in Plant Science*, 12. doi: 10.3389/fpls.2021.679059
- Van Nocker, S. & Gardiner, S. E.** 2014. Breeding better cultivars, faster: Applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. *Horticulture Research*, 1, 14022. doi: 10.1038/hortres.2014.22
- Van Ooijen, J. W.** 2009. *MapQTL 6* ® Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. <https://www.kyazma.nl/index.php/MapQTL/>
- Van Ooijen, J. W.** 2011. Multipoint maximum likelihood mapping in a full-sib family of an outbreeding species. *Genetics Research*, 93(5), 343-349. doi: 10.1017/S0016672311000279
- Varady-Burguetti, C., Hámori-Szabo, J. & Faskebti, E.** 1983. Determination of maturity in apricots by instrumental measurement of flesh firmness and colour. *Acta Alimentaria*, 12, 412-413.
- Veerappan, K., Natarajan, S., Chung, H. & Park, J.** 2021. Molecular insights of fruit quality traits in peaches, *Prunus persica*. *Plants*, 10(10), 2191. doi: 10.3390/plants10102191
- Vendramin, E., Pea, G., Dondini, L., Pacheco, I., Dettori, M. T., Gazza, L., Scalabrin, S., Strozzi, F., Tartarini, S., Bassi, D., Verde, I. & Rossini, L.** 2014. A unique mutation in a MYB gene cosegregates with the nectarine phenotype in peach. *PLoS ONE*, 9(3). doi: 10.1371/journal.pone.0090574
- Vera Ruiz, E. M., Soriano, J. M., Romero, C., Zhebentyayeva, T., Terol, J., Zuriaga, E., Llácer, G., Abbott, A. G. & Badenes, M. L.** 2011. Narrowing down the apricot Plum pox virus resistance locus and comparative analysis with the peach genome syntenic region. *Molecular Plant Pathology*, 12(6), 535-547. doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00691.x

- Verde, I., Abbott, A. G., Scalabrin, S., Jung, S., Shu, S., Marroni, F., Zhebentyayeva, T., Dettori, M. T., Grimwood, J., Cattonaro, F., Zuccolo, A., Rossini, L., Jenkins, J., Vendramin, E., Meisel, L. A., Decroocq, V., Sosinski, B., Prochnik, S., Mitros, T., Policriti, A., Cipriani, G., Dondini, L., Ficklin, S., Goodstein, D., Xuan, P., Fabbro, C., Aramini, V., Copetti, D., González, S., Horner, D. S., Falchi, R., Lucas, S., Mica, E., Maldonado, J., Lazzari, B., Bielenberg, D., Pirona, R., Miculan, M., Barakat, A., Testolin, R., Stella, A., Tartarini, S., Tonutti, P., Arús, P., Orellana, A., Wells, C., Main, D., Vizzotto, G., Silva, H., Salamini, F., Schmutz, J., Morgante, M. & Rokhsar, D. S.** 2013. The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. *Nature Genetics*, 45(5), 487-494. doi: 10.1038/ng.2586
- Verde, I., Bassil, N., Scalabrin, S., Gilmore, B., Lawley, C. T., Gasic, K., Micheletti, D., Rosyara, U. R., Cattonaro, F., Vendramin, E., Main, D., Aramini, V., Blas, A. L., Mockler, T. C., Bryant, D. W., Wilhelm, L., Troggio, M., Sosinski, B., Aranzana, M. J., Arús, P., Iezzoni, A., Morgante, M. & Peace, C.** 2012. Development and evaluation of a 9k SNP array for peach by internationally coordinated SNP detection and validation in breeding germplasm. *PLoS ONE*, 7(4). doi: 10.1371/journal.pone.0035668
- Verde, I., Jenkins, J., Dondini, L., Micali, S., Pagliarani, G., Vendramin, E., Paris, R., Aramini, V., Gazza, L., Rossini, L., Bassi, D., Troggio, M., Shu, S., Grimwood, J., Tartarini, S., Dettori, M. T. & Schmutz, J.** 2017. The Peach v2.0 release: High-resolution linkage mapping and deep resequencing improve chromosome-scale assembly and contiguity. *BMC Genomics*, 18(1), 225. doi: 10.1186/s12864-017-3606-9
- Verde, I., Quarta, R., Cedrola, C. & Dettori, M. T.** 2002. QTL analysis of agronomic traits in a BC1 peach population. *Acta Horticulturae*, 592, 291-297. doi: 10.17660/ActaHortic.2002.592.41
- Vieira, E. A., Onofre Nodari, R., Cibele De Mesquita Dantas, A., Henri, J.-P., Ducroquet, J., Dalbó, M. & Borges, C. V.** 2005. Genetic mapping of Japanese plum. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 5, 29-37. doi: 10.12702/1984-7033.v05n01a04
- Vilanova, S., Badenes, M. L., Burgos, L., Martínez-Calvo, J., Llácer, G. & Romero, C.** 2006. Self-compatibility of two apricot selections is associated with two pollen-part mutations of different nature. *Plant Physiology*, 142(2), 629-641. doi: 10.1104/pp.106.083865
- Vilanova, S., Romero, C., Abbott, A. G., Llácer, G. & Badenes, M. L.** 2003. An apricot (*Prunus armeniaca* L.) F2 progeny linkage map based on SSR and AFLP markers, mapping Plum pox virus resistance and self-incompatibility traits. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(2), 239-247. doi: 10.1007/s00122-003-1243-y
- Vilanova, S., Romero, C., Llácer, G., Badenes, M. L. & Burgos, L.** 2005. Identification of self-(in)compatibility alleles in apricot by PCR and sequence analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130(6), 893-898. doi: 10.21273/jashs.130.6.893
- Visagie, T. R.** 1984. Maturity indices for nectarines. *Deciduous Fruit Grower*, 34, 362-363.
- Walkowiak-Tomczak, D.** 2008. Characteristics of plums as a raw material with valuable nutritive and dietary properties-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58(4), 401-405.

- Wang, D., Karle, R. & Iezzoni, A. F.** 2000. QTL analysis of flower and fruit traits in sour cherry. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 535-544.
- Wang, L., Sang, W., Xu, R. & Cao, J.** 2020a. Alteration of flesh color and enhancement of bioactive substances via the stimulation of anthocyanin biosynthesis in 'Friar' plum fruit by low temperature and the removal. *Food Chemistry*, 310, 125862. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125862
- Wang, N., Yuan, Y., Wang, H., Yu, D., Liu, Y., Zhang, A., Gowda, M., Nair, S. K., Hao, Z., Lu, Y., San Vicente, F., Prasanna, B. M., Li, X. & Zhang, X.** 2020b. Applications of genotyping-by-sequencing (GBS) in maize genetics and breeding. *Scientific Reports*, 10(1), 16308. doi: 10.1038/s41598-020-73321-8
- Watari, A., Hanada, T., Yamane, H., Esumi, T., Tao, R., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Beppu, K. & Kataoka, I.** 2007. A low transcriptional level of Se-RNase in the Se-haplotype confers self-compatibility in Japanese plum. *Journal of the American Society for Horticultural*, 132(3), 396-406. doi: 10.21273/JASHS.132.3.396
- Wei, T. & Simko, V.** 2021. *R package «corrplot»: Visualization of a correlation matrix (Version 0.92)*. <https://github.com/taiyun/corrplot>
- Wei, X., Shen, F., Zhang, Q., Liu, N., Zhang, Y., Xu, M., Liu, S., Zhang, Y., Ma, X. & Liu, W.** 2021. Genetic diversity analysis of Chinese plum (*Prunus salicina* L.) based on whole-genome resequencing. *Tree Genetics & Genomes*, 17(3), 26. doi: 10.1007/s11295-021-01506-x
- Weinberger, J. H. & Thompson, L. A.** 1962. Inheritance of certain fruit and leaf characters in Japanese plums. *Proceedings American Society for Horticultural Science*, 81, 172-179.
- Woodbridge, C. G.** 1978. Split-pit in peaches and nutrient levels¹. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 103(2), 278-280. doi: 10.21273/JASHS.103.2.278
- Wünsch, A.** 2009. Cross-transferable polymorphic SSR loci in *Prunus* species. *Scientia Horticulturae*, 120(3), 348-352. doi: 10.1016/j.scienta.2008.11.012
- Wünsch, A. & Hormaza, J. I.** 2004. S-Allele identification by PCR analysis in sweet cherry cultivars. *Plant Breeding*, 123, 327-331. doi: 10.1111/j.1439-0523.2004.00984.x
- Xiang, Y., Huang, C. H., Hu, Y., Wen, J., Li, S., Yi, T., Chen, H., Xiang, J. & Ma, H.** 2017. Evolution of *Rosaceae* fruit types based on nuclear phylogeny in the context of geological times and genome duplication. *Molecular Biology and Evolution*, 34(2), 262-281. doi: 10.1093/molbev/msw242
- Xu, Y. & Crouch, J. H.** 2008. Marker-assisted selection in plant breeding: From publications to practice. *Crop Science*, 48(2), 391-407. doi: 10.2135/cropsci2007.04.0191
- Yamaguchi, M., Yoshida, M., Kyotani, H., Nakamura, Y., Nishimura, K., Haji, T. & Miyake, M.** 1998. New Japanese plum cultivar 'Honey Rosa'. *Bulletin of the National Institute of Fruit Tree Science*, 30(31), 1-14.

- Yamamoto, T., Shimada, T., Imai, T., Yaegaki, H., Haji, T., Matsuta, N., Yamaguchi, M. & Hayashi, T.** 2001. Characterization of morphological traits based on a genetic linkage map in peach. *Breeding Science*, 51(4), 271-278. doi: 10.1270/jsbbs.51.271
- Yaman, M. & Uzun, A.** 2020. Evaluation of superior hybrid individuals with intra and interspecific hybridization breeding in apricot. *International Journal of Fruit Science*, 20(S3), S2045-S2055. doi: 10.1080/15538362.2020.1852151
- Yamane, H., Tao, R. & Sugiura, A.** 1999. Identification and cDNA cloning for S-RNases in self-incompatible Japanese Plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. Sordum). *Plant Biotechnology*, 16(5), 389-396. doi: 10.5511/plantbiotechnology.16.389
- Yamane, H., Tao, R., Sugiura, A., Hauck, N. R. & Iezzoni, A. F.** 2001. Identification and characterization of S-RNases in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(6), 661-667. doi: 10.21273/jashs.126.6.66
- Yoshida, M.** 1987. The origin of fruits, 2: Plums. *Fruit Japan*, 42(2), 49-53.
- Yoshida, M., Kyotani, H. & Yasuno, M.** 1975. Studies on interspecific crossing in *Prunus* spp.: I. Cross compatibility. *Japanese Journal of Breeding*, 25(1), 17-23. doi: 10.1270/jsbbs1951.25.17
- Zeballos, J. L., Abidi, W., Giménez, R., Monforte, A. J., Moreno, M. Á. & Gogorcena, Y.** 2016. Mapping QTLs associated with fruit quality traits in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using SNP maps. *Tree Genetics and Genomes*, 12(3). doi: 10.1007/s11295-016-0996-9
- Zhang, G., Sebolt, A. M., Sooriyapathirana, S. S., Wang, D., Bink, M. C., Olmstead, J. W. & Iezzoni, A. F.** 2010. Fruit size QTL analysis of an F1 population derived from a cross between a domesticated sweet cherry cultivar and a wild forest sweet cherry. *Tree Genetics and Genomes*, 6(1), 25-36. doi: 10.1007/s11295-009-0225-x
- Zhang, Q. P., Wei, X., Liu, N., Zhang, Y. P., Xu, M., Zhang, Y. J., Ma, X. X., & Liu, W. S.** 2020. Construction of an SNP-based high-density genetic map for Japanese plum in a Chinese population using specific length fragment sequencing. *Tree Genetics and Genomes*, 16(18). doi: 10.1007/s11295-019-1385-y
- Zhang, S. J., Huang, S. X., Heng, W., Wu, H. Q., Wu, J. & Zhang, S. L.** 2008. Identification of S-genotypes in 17 Chinese cultivars of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) and molecular characterisation of 13 novel S-alleles. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 83(5), 635-640. doi: 10.1080/14620316.2008.11512435
- Zhang, S. L., Huang, S. X., Kitashiba, H. & Nishio, T.** 2007. Identification of S-haplotype-specific F-box gene in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Sexual Plant Reproduction*, 20(1), 1-8. doi: 10.1007/s00497-006-0037-1
- Zhivondov, A.** 2012. «Standesto», the first Bulgarian plumcot cultivar. *Acta Horticulturae*, 966, 219-222. doi: 10.17660/ActaHortic.2012.966.34
- Zhivondov, A. & Uzundzhalieva, K.** 2012. Taxonomic classification of plum-apricot hybrids. *Acta Horticulturae*, 966, 211-218. doi: 10.17660/actahortic.2012.966.33

- Zhou, H., Ma, R., Gao, L., Zhang, J., Zhang, A., Zhang, X., Ren, F., Zhang, W., Liao, L., Yang, Q., Xu, S., Otieno Ogutu, C., Zhao, J., Yu, M., Jiang, Q., Korban, S. S. & Han, Y.** 2021. A 1.7-Mb chromosomal inversion downstream of a *PpOFP1* gene is responsible for flat fruit shape in peach. *Plant Biotechnology Journal*, 19(1), 192-205. doi: 10.1111/pbi.13455
- Zimin, A. V., Puiu, D., Luo, M. C., Zhu, T., Koren, S., Marçais, G., Yorke, J. A., Dvořák, J. & Salzberg, S. L.** 2017. Hybrid assembly of the large and highly repetitive genome of *Aegilops tauschii*, a progenitor of bread wheat, with the MaSuRCA mega-reads algorithm. *Genome Research*, 27(5), 787-792. doi: 10.1101/gr.213405.116
- Zuriaga, E., Romero, C., Blanca, J. M. & Badenes, M. L.** 2018. Resistance to Plum pox virus (PPV) in apricot (*Prunus armeniaca* L.) is associated with down-regulation of two MATHd genes. *BMC Plant Biology*, 18(1), 1-13. doi: 10.1186/s12870-018-1237-1
- Zuriaga, E., Soriano, J. M., Zhebentyayeva, T., Romero, C., Dardick, C., Cañizares, J. & Badenes, M. L.** 2013. Genomic analysis reveals MATH gene(s) as candidate(s) for Plum pox virus (PPV) resistance in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Molecular Plant Pathology*, 14(7), 663-677. doi: 10.1111/mpp.12037





ANEXO

8. ANEXO

Tabla S1. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Inicio de floración	BS	2019	3.1	F5_19**	29,701	[29,701; 29,701]	30,670	8,398	S3_8100233	S3_8047571	S3_8100233	3
		2020	3.1	F5_20**	29,701	[29,701; 30,670]	30,670	9,101	S3_8100233	S3_8005688	S3_8100233	3
		2021	3.1	F5_21*	29,701	[29,701; 29,701]	29,701	7,062	S3_8100233	S3_8100233	S3_8100233	3
	PIO	2019	3	F5_19**	6,460	[12,290; 12,290]	12,330	8,792	S3_4299512	S3_5503377	S3_5394444	3
		2020	3	F5_20*	12,290	[12,290; 12,290]	12,290	7,548	S3_5394444	S3_5394444	S3_5394444	3
		2021	3	F5_21**	6,464	[12,290; 12,290]	12,332	8,722	S3_4299512	S3_5503377	S3_5394444	3
		2019	4	F5_19**	61,330	[63,590; 80,980]	81,090	9,635	S4_26026601	S4_30719777	S4_29107816	3
		2020	4	F5_20**	66,642	[66,642; 80,976]	80,976	8,297	S4_27474167	S4_31640668	S4_29107816	3
		2021	4	F5_21***	60,220	[61,327; 80,976]	81,092	11,363	S4_25657097	S4_30719777	S4_27535090	3
Plena floración	BS	2021	1	F50_21*	85,406	[85,406; 87,675]	87,675	7,028	S1_32383334	S1_32563574	S1_32563574	1
	PIO	2020	3	F90_20*	28,160	[28,160; 30,044]	30,044	7,280	S3_13757210	S3_14668415	S3_13784253	1
Final de floración		2019	4	F90_19**	60,220	[61,327; 63,588]	76,582	7,976	S4_25657097	S4_28776290	S4_26026601	2
		2021	4	F90_21**	56,600	[60,220; 81,113]	81,113	10,283	S4_23195219	S4_30100028	S4_26204183	2
Intensidad de floración	PIO	2019	4	IF_19**	63,588	[63,588; 66,642]	81,092	9,996	S4_26258734	S4_30100028	S4_26258734	3
		2020	4	IF_20**	63,588	[63,588; 66,642]	81,092	9,996	S4_26258734	S4_30719777	S4_26258734	3
		2021	4	IF_21**	63,588	[63,588; 66,642]	81,092	9,996	S4_26258734	S4_30719777	S4_26258734	3
		2019	7.1	IF_19**	6,987	[6,987; 8,076]	8,076	8,981	S7_10103281	S7_10737280	S7_10737280	3
		2020	7.1	IF_20**	6,987	[6,987; 8,076]	8,076	8,981	S7_10103281	S7_10737280	S7_10737280	3
		2021	7.1	IF_21**	6,987	[6,987; 8,076]	8,076	8,981	S7_10103281	S7_10737280	S7_10737280	3
		2019	7.2	IF_19**	14,005	[14,005; 16,499]	16,499	10,225	S7_20461521	S7_21171707	S7_20461521	3
		2020	7.2	IF_20**	14,005	[14,005; 16,499]	16,499	10,225	S7_20461521	S7_21171707	S7_20461521	3
		2021	7.2	IF_21**	14,005	[14,005; 16,499]	16,499	10,225	S7_20461521	S7_21171707	S7_20461521	3

Tabla S1. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Fecha de maduración	BS	2020	4	FM_20**	0,000	[8,373; 21,498]	21,498	8,328	S4_3450711	S4_2889224	S4_3450711	1
		2019	4	FM_19*****	47,728	[122,031; 124,643]	132,609	16,075	S4_4305868	S4_5892324	S4_5730378	3
		2020	4	FM_20**	47,728	[58,640; 64,533]	74,460	10,534	S4_4305868	S4_3677766	S4_3452356	3
		2020	4	FM_20*****	89,821	[114,05; 124,643]	132,609	15,281	S4_4343708	S4_5892324	S4_5730378	3
		2021	4	FM_21**	58,640	[58,640; 64,533]	66,890	8,437	S4_3452356	S4_3626042	S4_3452356	3
		2021	4	FM_21****	110,306	[122,031; 124,643]	132,609	13,730	S4_4368915	S4_5892324	S4_5730378	3
	PIO	2019	1.1	FM_19***	28,578	[34,245; 38,410]	40,081	12,112	S1_36502473	S1_39367450	S1_39702792	3
		2020	1.1	FM_20***	35,504	[36,349; 38,410]	40,081	11,009	S1_38728814	S1_39367450	S1_39702792	3
		2021	1.1	FM_21****	30,426	[38,410; 40,081]	40,081	12,150	S1_37601969	S1_39367450	S1_39702792	3
		2019	1.2	FM_19**	0,000	[0,104; 0,104]	0,104	8,399	S1_46982582	S1_48642975	S1_48642975	3
		2020	1.2	FM_20**	0,000	[0,000; 0,104]	0,104	8,794	S1_52314789	S1_52258876	S1_48642975	3
		2021	1.2	FM_21**	0,000	[0,000; 0,104]	14,135	9,363	S1_53963445	S1_54381296	S1_48642975	3
		2019	1.2	FM_19*	20,125	[20,125; 20,125]	20,125	7,461	S1_52314789	S1_52258876	S1_52314789	3
		2019	1.2	FM_19*	23,458	[23,458; 24,296]	24,296	7,510	S1_53963445	S1_54381296	S1_54381296	3
		2020	1.2	FM_20*	20,125	[20,125; 20,125]	21,746	7,452	S1_52314789	S1_52959740	S1_52314789	3
		2020	1.2	FM_20*	23,458	[23,458; 24,296]	24,296	7,658	S1_53963445	S1_54381296	S1_53963445	3
		2021	1.2	FM_21**	19,086	[20,125; 24,296]	24,296	9,752	S1_51498765	S1_54381296	S1_54381296	3
		2019	2	FM_19***	77,897	[78,731; 94,317]	94,317	11,862	S2_28903298	S2_33849550	S2_33502837	3
		2020	2	FM_20**	77,897	[78,731; 93,399]	93,399	10,291	S2_28903298	S2_33849481	S2_30195768	3
		2021	2	FM_21***	77,897	[80,390; 94,317]	94,317	11,337	S2_28958581	S2_33849550	S2_30195768	3

Tabla S1. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Periodo de desarrollo del fruto	BS	2019	4	PDF_19*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,185	S4_3450711	S4_3450711	S4_3450711	3
		2020	4	PDF_20**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	10,211	S4_3450711	S4_3450711	S4_3450711	3
		2021	4	PDF_21**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,411	S4_3450711	S4_3450711	S4_3450711	3
		2019	4	PDF_19*	58,640	[58,640; 58,640]	58,640	7,143	S4_3452356	S4_3452356	S4_3452356	3
		2020	4	PDF_20**	47,728	[47,728; 75,348]	101,579	9,988	S4_4305868	S4_4363564	S4_3452356	3
		2021	4	PDF_21**	47,728	[58,640; 60,351]	74,460	8,343	S4_4305868	S4_3677766	S4_3452356	3
		2019	4	PDF_19**	110,306	[114,050; 124,643]	132,609	10,630	S4_4368915	S4_5892324	S4_5716486	3
		2020	4	PDF_20**	110,306	[110,306; 132,609]	132,609	13,341	S4_4368915	S4_5892324	S4_5716486	3
		2021	4	PDF_21***	110,306	[122,031; 124,643]	132,609	11,957	S4_4368915	S4_5892324	S4_5716486	3
	PIO	2019	1.1	PDF_19***	28,578	[35,504; 38,410]	40,081	12,025	S1_36502473	S1_39367450	S1_38993792	3
		2020	1.1	PDF_20****	28,578	[35,504; 38,410]	40,081	13,974	S1_36502473	S1_39367450	S1_38993792	3
		2021	1.1	PDF_21****	28,578	[28,578; 36,994]	40,081	13,407	S1_36502473	S1_39367450	S1_38993792	3
		2019	1.2	PDF_19***	0,000	[11,736; 14,259]	22,624	11,806	S1_46982582	S1_53646267	S1_50229542	3
		2020	1.2	PDF_20**	0,000	[11,736; 15,286]	21,746	9,283	S1_46982582	S1_52959740	S1_50229542	3
		2021	1.2	PDF_21***	0,000	[11,736; 20,125]	22,624	11,859	S1_46982582	S1_53646267	S1_50229542	3
		2019	2	PDF_19***	84,566	[86,224; 93,399]	94,317	11,337	S2_31243908	S2_33849481	S2_33499908	3
		2020	2	PDF_20**	86,224	[88,785; 92,216]	93,399	9,642	S2_33132577	S2_33849481	S2_33499908	3
		2021	2	PDF_21**	84,566	[86,224; 93,399]	93,399	10,114	S2_31243908	S2_33849481	S2_33499908	3
		2019	7.2	PDF_19**	22,495	[22,620; 28,790]	34,327	10,280	S7_21898001	S7_22978860	S7_22233123	3
		2020	7.2	PDF_20**	22,620	[25,374; 25,374]	25,374	8,193	S7_21911383	S7_22444963	S7_22233123	3
		2021	7.2	PDF_21**	22,495	[22,620; 25,374]	28,790	9,452	S7_21898001	S7_24146566	S7_22233123	3
2019	8.2	PDF_19**	4,235	[5,609; 5,609]	5,613	8,974	S8_13464983	S8_13658390	S8_14265616	3		
2019	8.2	PDF_19**	13,900	[13,900; 16,714]	23,685	8,476	S8_16496854	S8_18037034	S8_17085482	3		
2020	8.2	PDF_20***	0,000	[0,749; 22,614]	23,685	11,255	S8_10220446	S8_18037034	S8_14265616	3		
2021	8.2	PDF_21**	1,428	[5,609; 16,714]	23,685	9,309	S8_11250200	S8_18037034	S8_14265616	3		

Tabla S1. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Productividad	BS	2019	1	P_19****	0,000	[2,374; 9,436]	85,219	14,463	S1_22725173	S1_32366489	S1_21058354	3
		2020	1	P_20*****	0,000	[0,000; 17,787]	85,219	16,645	S1_22725173	S1_32366489	S1_21058354	3
		2021	1	P_21*****	0,000	[0,000; 17,787]	87,708	18,878	S1_22725173	S1_32601297	S1_21058354	3
		2019	3.1	P_19***	19,491	[19,491; 23,762]	27,875	11,186	S3_9263549	S3_2437684	S3_8264661	3
		2020	3.1	P_20***	18,502	[19,491; 24,596]	33,044	11,041	S3_10518042	S3_7959190	S3_9263549	3
		2021	3.1	P_21***	18,502	[19,491; 23,762]	33,172	14,291	S3_10518042	S3_7959392	S3_9263549	3
		2020	4	P_20*	6,641	[6,641; 8,373]	8,373	7,384	S4_3335530	S4_3356115	S4_3335530	2
		2021	4	P_21**	0,000	[6,641; 8,373]	30,566	9,927	S4_3450711	S4_2181235	S4_3335530	2
		2021	4	P_21**	50,506	[58,640; 66,890]	103,510	8,125	S4_3452479	S4_2422556	S4_3626042	1
	2020	5	P_20*	51,189	[51,189; 54,800]	54,800	7,134	S5_13685810	S5_13815745	S5_13815745	1	
	2021	5	P_21**	5,942	[10,777; 12,661]	14,342	9,825	S5_2064501	S5_2478624	S5_3591958	1	
	2019	6	P_19*	5,945	[5,945; 7,406]	7,406	7,606	S6_8560380	S6_9849505	S6_9849505	3	
	2020	6	P_20**	5,945	[5,945; 7,406]	13,043	9,577	S6_8560380	S6_10443532	S6_9849505	3	
	2021	6	P_21**	5,945	[5,945; 7,406]	13,043	9,847	S6_8560380	S6_10443532	S6_9849505	3	
	2019	7.1	P_19*	0,000	[0,000; 0,926]	2,929	7,580	S7_14316605	S7_14497564	S7_14316605	3	
	2020	7.1	P_20*	0,000	[0,000; 0,926]	2,929	7,255	S7_14316605	S7_14497564	S7_15263157	3	
	2021	7.1	P_21**	0,000	[0,000; 0,926]	2,929	8,386	S7_14316605	S7_14497564	S7_15263157	3	
	PIO	2019	5	P_19**	0,373	[0,373; 4,169]	17,972	8,928	S5_5831474	S5_15907793	S5_5831474	3
		2020	5	P_20**	0,373	[1,752; 4,169]	4,169	8,050	S5_5831474	S5_5378352	S5_6850920	3
		2021	5	P_21**	0,000	[0,373; 4,169]	6,152	9,231	S5_5926191	S5_4817155	S5_5831474	3
		2019	5	P_19**	20,499	[23,641; 25,76]	29,409	8,805	S5_16582391	S5_17150403	S5_16796426	3
2020		5	P_20**	16,840	[23,641; 25,76]	29,600	9,330	S5_16210329	S5_17328008	S5_16796426	3	
2021		5	P_21*****	8,965	[16,840; 29,600]	34,470	15,505	S5_8216103	S5_18259949	S5_16796426	3	

Tabla S2. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Inicio de floración	RB	2021	1.1	F5_21**	10,785	[12,020; 18,022]	18,022	8,443	S1_11202590	S1_14294845	S1_14294845	1
		2021	2	F5_21*	58,952	[58,952; 63,164]	63,164	7,062	S2_22238151	S2_21594495	S2_21594495	1
		2019	2	F5_19*	33,106	[33,106; 33,106]	33,106	6,676	S2_20743177	S2_20743177	S2_20743177	3
		2020	2	F5_20*	33,106	[33,106; 44,466]	44,466	7,038	S2_20743177	S2_21057373	S2_20743177	3
		2021	2	F5_21***	33,106	[33,106; 34,725]	35,193	10,837	S2_20743177	S2_21064443	S2_20710381	3
		2021	2	F5_21**	43,265	[44,466; 44,890]	44,900	9,531	S2_18606785	S2_11737778	S2_21057373	3
	BS	2019	3.3	F5_19**	0,000	[0,000; 4,021]	6,002	10,676	S3_22540873	S3_26126216	S3_22540873	3
		2020	3.3	F5_20**	0,000	[0,000; 4,021]	6,002	10,624	S3_22540873	S3_26126216	S3_22540873	3
		2021	3.3	F5_21**	0,000	[0,000; 3,031]	6,002	11,597	S3_22540873	S3_26874795	S3_22540873	3
		2019	6	F5_19***	66,300	[66,300; 82,947]	116,999	11,968	S6_28972634	S6_30588803	S6_28972634	3
		2020	6	F5_20***	66,300	[66,300; 116,999]	116,999	11,298	S6_28972634	S6_30588803	S6_28972634	3
		2021	6	F5_21**	66,300	[66,300; 66,300]	66,300	8,471	S6_28972634	S6_28972634	S6_28972634	3
		2019	6	F5_19**	137,408	[137,408; 168,800]	168,800	10,967	S6_30422050	S6_31747085	S6_31747085	2
		2020	6	F5_20**	137,408	[137,408; 168,800]	168,800	9,764	S6_30422050	S6_31747085	S6_29018337	2

Tabla S2. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Plena floración	RB	2019	1.3	F50_19*****	28,980	[33,118; 35,088]	35,088	16,872	S1_48642975	S1_53718338	S1_51003440	3
		2020	1.3	F50_20****	28,980	[28,980; 29,147]	35,088	13,496	S1_48642975	S1_54272240	S1_49558809	3
		2021	1.3	F50_21*****	2,964	[28,980; 35,088]	35,088	16,604	S1_38763850	S1_54272240	S1_51003440	3
		2019	2	F50_19***	7,572	[7,572; 8,550]	35,193	11,227	S2_3011996	S2_21064443	S2_21064443	3
		2019	2	F50_19**	43,265	[43,265; 44,900]	44,900	10,513	S2_18606785	S2_11737778	S2_11736717	3
		2020	2	F50_20**	8,550	[8,550; 8,550]	8,550	9,756	S2_1331661	S2_1331661	S2_1331661	3
		2020	2	F50_20**	12,122	[30,901; 34,725]	34,725	7,606	S2_11068091	S2_20710381	S2_20743177	3
		2020	2	F50_20*	43,265	[43,265; 44,466]	44,466	7,364	S2_18606785	S2_21057373	S2_18606785	3
		2021	2	F50_21**	7,572	[10,846; 30,901]	44,466	9,250	S2_3011996	S2_21057373	S2_1349597	3
		2019	2	F50_19*	58,952	[58,952; 58,952]	58,952	6,669	S2_22238151	S2_22238151	S2_22238151	1
		2020	4.1	F50_20**	0,000	[0,315; 0,315]	0,315	8,249	S4_2376637	S4_2382607	S4_2382607	1
		2020	4.1	F50_20*	5,040	[5,040; 7,225]	9,305	7,389	S4_7659057	S4_10948288	S4_7933411	1
		2021	8.2	F50_21***	0,000	[0,000; 0,995]	0,995	9,763	S8_9560003	S8_11553384	S8_11795915	1
		2019	8.3	F50_19****	58,296	[72,310; 73,335]	73,335	12,672	S8_18151296	S8_27373007	S8_27718815	3
		2020	8.3	F50_20****	59,431	[72,350; 73,335]	73,335	14,091	S8_20492899	S8_27718815	S8_27538564	3
	2021	8.3	F50_21*	58,296	[58,296; 58,306]	58,306	7,201	S8_18151296	S8_19804443	S8_18586191	3	
	2021	8.3	F50_21****	69,248	[73,335; 73,335]	73,335	12,385	S8_23387111	S8_27373007	S8_27668999	3	
	2020	3.1	F50_20**	1,045	[1,045; 3,080]	5,019	10,584	S3_1506332	S3_4305604	S3_2288940	1	
	2020	3.3	F50_20***	0,000	[6,002; 7,308]	8,983	11,410	S3_22540873	S3_28013170	S3_26870286	1	
	2020	3.3	F50_20***	13,909	[15,225; 15,235]	15,235	11,950	S3_28787051	S3_29272593	S3_29272593	1	
	2020	3.3	F50_20*	38,426	[38,426; 38,78]	38,780	7,686	S3_29765718	S3_29757257	S3_29765718	1	
	2019	6	F50_19*****	66,300	[82,893; 89,558]	89,558	15,678	S6_28972634	S6_30658401	S6_31346377	3	
	2020	6	F50_20*****	66,300	[66,300; 89,558]	102,063	16,741	S6_28972634	S6_30636904	S6_31346377	3	
	2021	6	F50_21**	66,300	[72,508; 82,947]	89,558	10,534	S6_28972634	S6_30658401	S6_31346377	3	
	2019	6	F50_19*****	116,999	[155,745; 168,8]	168,800	16,337	S6_30588803	S6_31747085	S6_32102679	3	
	2020	6	F50_20*****	116,999	[116,999; 168,8]	168,800	24,046	S6_30588803	S6_31747085	S6_32102679	3	
	2021	6	F50_21****	137,408	[155,745; 159,962]	168,800	14,495	S6_30422050	S6_31747085	S6_32438362	3	
	2019	7	F50_19**	0,000	[0,000; 3,888]	7,975	10,224	S7_1356685	S7_5602198	S7_1356685	2	
	2021	7	F50_21**	0,000	[0,000; 3,888]	3,888	8,676	S7_1356685	S7_2860735	S7_1356685	2	
	2021	7	F50_21**	6,239	[6,239; 7,975]	7,975	8,420	S7_3489970	S7_5602198	S7_3878254	2	
2020	7	F50_20*	29,800	[29,800; 33,682]	33,682	7,865	S7_14497564	S7_15955743	S7_14497564	2		
2021	7	F50_21**	16,298	[29,638; 33,682]	33,682	8,144	S7_10758741	S7_15955743	S7_15955743	2		

Tabla S2. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Final de floración	RB	2021	1.1	F90_21**	7,862	[7,862; 7,862]	7,862	7,965	S1_9393720	S1_9393720	S1_9393720	1
		2019	1.3	F90_19*****	28,980	[29,147; 33,635]	35,088	17,632	S1_48642975	S1_54272240	S1_50379308	3
		2020	1.3	F90_20*****	0,656	[28,980; 33,635]	35,088	13,841	S1_36333731	S1_54272240	S1_49558809	3
		2021	1.3	F90_21*****	28,980	[29,147; 33,635]	35,088	17,005	S1_48642975	S1_54272240	S1_49558809	3
		2021	3	F90_21*	85,762	[85,762; 88,924]	88,924	7,337	S3_21345654	S3_20805029	S3_21345654	1
		2020	4.1	F90_20**	0,000	[5,671; 9,305]	9,305	8,875	S4_1676522	S4_10948288	S4_9900040	1
		2020	4.1	F90_20*	16,276	[16,276; 16,276]	16,276	7,250	S4_15811505	S4_15811505	S4_15811505	1
		2021	4.1	F90_21*	19,236	[19,236; 19,236]	19,236	6,823	S4_16771790	S4_16771790	S4_16771790	1
	2019	8.2	F90_19*	0,552	[0,552; 0,995]	0,995	7,581	S8_11213239	S8_11553384	S8_11795915	1	
	2019	8.3	F90_19*****	42,121	[72,350; 73,335]	73,335	16,620	S8_15048145	S8_27718815	S8_27668999	3	
	2020	8.3	F90_20*****	42,121	[69,351; 73,335]	73,335	18,348	S8_15048145	S8_27718815	S8_27538564	3	
	2021	8.3	F90_21*****	38,698	[68,899; 73,335]	73,335	17,425	S8_14265616	S8_27718815	S8_27169134	3	
	2019	1.2	F90_19**	36,569	[36,569; 37,061]	37,061	8,405	S1_31348528	S1_31057601	S1_31057601	1	
	2019	6	F90_19**	66,300	[72,508; 82,947]	88,025	10,112	S6_28972634	S6_30658090	S6_31346377	3	
2020	6	F90_20*****	66,300	[72,508; 82,947]	89,558	13,983	S6_28972634	S6_30658401	S6_30413561	3		
2021	6	F90_21**	72,508	[72,508; 82,947]	89,558	10,373	S6_30413561	S6_30658401	S6_30413561	3		
2019	6	F90_19**	116,999	[155,745; 159,962]	168,800	11,347	S6_30588803	S6_31747085	S6_32438362	3		
2020	6	F90_20*****	116,999	[137,408; 159,962]	168,800	18,530	S6_30588803	S6_31747085	S6_32438362	3		
2021	6	F90_21**	116,999	[155,745; 159,962]	168,800	11,528	S6_30588803	S6_31747085	S6_32438362	3		
Intensidad de floración	RB	2019	2	IF_19*****	0,000	[7,645; 22,781]	44,900	23,334	S2_3438931	S2_11737778	S2_1349597	3
		2020	2	IF_20*****	0,000	[7,645; 22,781]	44,900	23,334	S2_3438931	S2_11737778	S2_1349597	3
		2021	2	IF_21*****	0,000	[7,645; 22,781]	44,900	23,334	S2_3438931	S2_11737778	S2_1349597	3
	2019	4.2	IF_19*	11,889	[11,889; 16,084]	16,084	7,566	S4_25840036	S4_26130483	S4_26022733	3	
	2020	4.2	IF_20*	11,889	[11,889; 16,084]	16,084	7,566	S4_25840036	S4_26130483	S4_26022733	3	
	2021	4.2	IF_21*	11,889	[11,889; 16,084]	16,084	7,566	S4_25840036	S4_26130483	S4_26022733	3	
	2019	8.2	IF_19*	0,000	[0,000; 0,995]	0,995	10,236	S8_9560003	S8_11553384	S8_11795915	3	
	2020	8.2	IF_20*	0,000	[0,000; 0,995]	0,995	10,236	S8_9560003	S8_11553384	S8_11795915	3	
	2021	8.2	IF_21*	0,000	[0,000; 0,995]	0,995	10,236	S8_9560003	S8_11553384	S8_11795915	3	
	2019	1.2	IF_19**	45,051	[45,051; 45,051]	45,051	8,845	S1_32366422	S1_32366422	S1_32366422	3	
	2020	1.2	IF_20**	45,051	[45,051; 45,051]	45,051	8,845	S1_32366422	S1_32366422	S1_32366422	3	
	2021	1.2	IF_21**	45,051	[45,051; 45,051]	45,051	8,845	S1_32366422	S1_32366422	S1_32366422	3	
2019	6	IF_19**	72,508	[72,508; 72,508]	72,508	9,677	S6_30413561	S6_30413561	S6_30413561	3		
2020	6	IF_20**	72,508	[72,508; 72,508]	72,508	9,677	S6_30413561	S6_30413561	S6_30413561	3		
2021	6	IF_21**	72,508	[72,508; 72,508]	72,508	9,677	S6_30413561	S6_30413561	S6_30413561	3		

Tabla S2. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C	
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.		
Fecha de maduración	RB	2019	3	FM_19**	45,221	[45,221; 45,423]	49,796	7,952	S3_26272370	S3_27193644	S3_26272370	3	
		2020	3	FM_20*	45,221	[45,221; 45,423]	45,423	7,692	S3_26272370	S3_26260519	S3_26272370	3	
		2021	3	FM_21*	45,221	[45,221; 45,423]	45,423	7,217	S3_26272370	S3_26260519	S3_26260519	3	
		2019	3	FM_19**	54,858	[54,942; 57,534]	57,534	8,749	S3_27821354	S3_25866323	S3_25851543	3	
		2020	3	FM_20**	54,858	[54,942; 57,534]	57,534	8,439	S3_27821354	S3_25866323	S3_25851543	3	
		2021	3	FM_21**	54,858	[54,942; 57,534]	57,534	8,139	S3_27821354	S3_25866323	S3_25851543	3	
	2019	4.1	FM_19**	15,280	[15,290; 16,276]	17,261	8,051	S4_14382419	S4_16257675	S4_14726355	2		
	2020	4.1	FM_20*	15,290	[16,276; 16,276]	16,276	7,143	S4_14726355	S4_15803936	S4_14726355	2		
	2019	4.1	FM_19**	17,813	[18,246; 19,236]	19,236	9,715	S4_16379859	S4_16461899	S4_16762211	2		
	2020	4.1	FM_20**	18,246	[18,246; 19,236]	19,236	8,096	S4_16762211	S4_16771790	S4_16762211	2		
	2019	4.2	FM_19*****	0,000	[3,543; 16,084]	17,503	18,262	S4_23195219	S4_26258734	S4_25017134	3		
	2020	4.2	FM_20*****	0,000	[3,543; 16,359]	17,503	17,635	S4_23368247	S4_26258734	S4_25017134	3		
	2021	4.2	FM_21*****	0,000	[3,543; 16,359]	17,503	20,879	S4_23195219	S4_26258734	S4_25017134	3		
	2019	5	FM_19**	62,875	[74,338; 78,431]	78,431	8,728	S5_17333608	S5_20226909	S5_18244515	3		
	2020	5	FM_20**	74,338	[74,338; 78,431]	78,431	8,463	S5_18244515	S5_20226909	S5_18244515	3		
	2021	5	FM_21*	74,338	[74,338; 78,431]	78,431	7,192	S5_18244515	S5_20226909	S5_18244515	3		
	Periodo de desarrollo del fruto	RB	2019	3	PDF_19**	45,221	[54,858; 57,534]	57,534	9,498	S3_26272370	S3_25866323	S3_27200935	3
			2020	3	PDF_20*	45,221	[45,221; 45,221]	45,221	6,711	S3_26272370	S3_26272370	S3_26272370	3
2020			3	PDF_20*	49,796	[49,796; 49,796]	49,796	6,852	S3_27193644	S3_27193644	S3_27193644	3	
2020			3	PDF_20**	54,858	[57,529; 57,534]	57,534	7,884	S3_27821354	S3_25866323	S3_25851543	3	
2021			3	PDF_21**	36,272	[53,898; 57,534]	57,534	10,469	S3_25196304	S3_25866323	S3_27200935	3	
2021			4.1	PDF_21**	15,280	[15,290; 16,276]	19,236	8,262	S4_14382419	S4_16461899	S4_14726355	1	
2019		4.2	PDF_19*****	0,000	[3,543; 16,084]	17,503	16,521	S4_23195219	S4_26258734	S4_26130483	3		
2020		4.2	PDF_20*****	0,000	[3,543; 16,084]	17,503	16,358	S4_23514126	S4_26258734	S4_26130483	3		
2021		4.2	PDF_21*****	0,000	[3,543; 16,812]	17,503	15,837	S4_23195219	S4_26258734	S4_26130483	3		
2019		3.3	PDF_19***	38,003	[41,864; 42,530]	42,530	10,976	S3_29916034	S3_31551230	S3_31551230	3		
2020		3.3	PDF_20**	39,026	[41,864; 42,530]	42,530	9,729	S3_29888104	S3_31551230	S3_31551230	3		
2021		3.3	PDF_21*	42,530	[42,530; 42,530]	42,530	7,414	S3_31551230	S3_31551230	S3_31551230	3		
2019		5	PDF_19**	77,337	[78,323; 78,431]	78,431	8,932	S5_19427100	S5_20226909	S5_20226909	3		
2020		5	PDF_20*	78,431	[78,431; 78,431]	78,431	7,016	S5_20226909	S5_20226909	S5_20226909	3		
2021		5	PDF_21*	78,431	[78,431; 78,431]	78,431	7,070	S5_20226909	S5_20226909	S5_20226909	3		

Tabla S2. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Productividad	RB	2019	2	P_19**	8,550	[8,550; 8,550]	8,550	8,103	S2_1331661	S2_1331661	S2_1331661	3
		2020	2	P_20**	8,550	[8,550; 8,550]	8,550	8,103	S2_1331661	S2_1331661	S2_1331661	3
		2021	2	P_21**	8,550	[8,550; 8,550]	8,550	8,103	S2_1331661	S2_1331661	S2_1331661	3
		2019	2	P_19**	22,781	[33,106; 35,459]	44,890	10,410	S2_1349597	S2_12391794	S2_20710381	3
		2020	2	P_20**	22,781	[33,106; 35,459]	44,890	10,410	S2_1349597	S2_12391794	S2_20710381	3
		2021	2	P_21**	22,781	[33,106; 35,459]	44,890	10,410	S2_1331661	S2_12391794	S2_20710381	3
		2019	4.1	P_19*	4,070	[4,070; 4,070]	4,070	6,791	S4_7064434	S4_7064434	S4_7064434	3
		2020	4.1	P_20*	4,070	[4,070; 4,070]	4,070	6,791	S4_7064434	S4_7064434	S4_7064434	3
		2021	4.1	P_21*	4,070	[4,070; 4,070]	4,070	6,791	S4_7064434	S4_7064434	S4_7064434	3
	2019	4.1	P_19**	17,813	[18,246; 19,236]	19,236	10,115	S4_16379859	S4_16461899	S4_16895832	3	
	2020	4.1	P_20**	17,813	[18,246; 19,236]	19,236	10,115	S4_16379859	S4_16461899	S4_16895832	3	
	2021	4.1	P_21**	17,813	[18,246; 19,236]	19,236	10,115	S4_16379859	S4_16461899	S4_16895832	3	
	2019	BS	1.2	P_19*****	0,000	[5,426; 26,183]	36,569	16,905	S1_25517118	S1_31348528	S1_27714189	3
	2020		1.2	P_20*****	0,000	[5,426; 26,183]	36,569	16,905	S1_25517118	S1_31348528	S1_27714189	3
	2021		1.2	P_21*****	0,000	[5,426; 26,183]	36,569	16,905	S1_25517118	S1_31348528	S1_27714189	3
	2019		1.2	P_19****	37,061	[44,701; 48,082]	53,418	13,047	S1_31057601	S1_32882269	S1_32366422	3
	2020		1.2	P_20****	37,061	[44,701; 48,082]	53,418	13,047	S1_31057601	S1_32882269	S1_32366422	3
	2021		1.2	P_21****	37,061	[44,701; 48,082]	53,418	13,047	S1_31057601	S1_32882269	S1_32366422	3

Tabla S3. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Inicio de floración	RB	2019	2.2	F5_19*	17,668	[17,668; 17,668]	17,668	7,358	S2_25272613	S2_25272613	S2_25272613	2
		2021	2.2	F5_21**	17,668	[17,668; 17,668]	17,668	8,815	S2_25272613	S2_25272613	S2_25272613	2
	2019	4	F5_19**	37,193	[37,456; 38,842]	39,056	8,679	S4_23190643	S4_23514126	S4_23381682	3	
	2020	4	F5_20****	4,904	[8,123; 23,431]	71,977	13,305	S4_17677755	S4_26370064	S4_19494943	3	
	2021	4	F5_21**	31,264	[50,652; 50,652]	62,013	8,799	S4_22873421	S4_25571859	S4_24403596	3	
	2019	4	F5_19*****	82,831	[104,052; 116,324]	116,348	15,607	S4_28523958	S4_29770379	S4_29459225	3	
	2020	4	F5_20****	81,320	[93,449; 104,052]	116,348	13,417	S4_27838662	S4_29770379	S4_28542930	3	
	2021	4	F5_21****	90,132	[104,052; 116,324]	116,324	12,827	S4_28524017	S4_29767743	S4_29459225	3	
	2020	1.2	F5_20***	22,373	[22,373; 27,566]	63,556	11,055	S1_32857418	S1_34909788	S1_33097495	2	
	2021	1.2	F5_21*	27,566	[27,566; 27,566]	27,566	7,580	S1_33097495	S1_33097495	S1_33097495	2	
		2021	6	F5_21*	57,844	[57,844; 57,844]	57,844	6,793	S6_35568262	S6_35568262	S6_35568262	1
Plena floración	RB	2019	2.2	F50_19*	4,720	[4,720; 4,720]	4,720	6,846	S2_24781853	S2_24781853	S2_24781853	2
		2021	2.2	F50_21**	4,720	[4,720; 17,668]	17,668	8,540	S2_24781853	S2_25272613	S2_24781853	2
	2019	4	F50_19***	83,147	[90,132; 93,449]	116,324	11,483	S4_28256006	S4_29767743	S4_28542930	3	
	2020	4	F50_20****	81,320	[93,449; 111,695]	116,348	12,822	S4_27838662	S4_29770379	S4_28542930	3	
	2021	4	F50_21***	90,132	[90,132; 93,449]	116,324	10,938	S4_28524017	S4_29761322	S4_28542930	3	
	2019	6.1	F50_19*	64,254	[64,254; 64,254]	64,254	6,643	S6_18734736	S6_18734736	S6_18734736	1	
	2019	2.2	F50_19**	9,168	[10,470; 10,548]	12,604	8,517	S2_19548034	S2_19919071	S2_19778205	2	
	2021	2.2	F50_21***	8,252	[9,168; 12,604]	24,880	10,981	S2_19079835	S2_21900549	S2_19778205	2	
	2020	5	F50_20*	58,968	[58,968; 58,968]	58,968	7,428	S5_16054810	S5_16054810	S5_16054810	1	
	2020	5	F50_20*	103,876	[103,876; 103,876]	103,876	6,729	S5_20327132	S5_20327132	S5_20327132	1	
Final de floración	RB	2019	4	F90_19**	21,008	[21,008; 23,431]	23,431	8,970	S4_19494943	S4_21169779	S4_19494943	2
		2020	4	F90_20**	5,736	[21,008; 21,208]	23,431	8,498	S4_18319034	S4_21169779	S4_19494943	2
	2019	4	F90_19*	31,264	[31,264; 37,193]	37,193	7,563	S4_22873421	S4_23190643	S4_23047991	1	
	2019	4	F90_19***	90,132	[90,132; 93,449]	116,324	11,304	S4_28524017	S4_29761322	S4_28542930	2	
	2020	4	F90_20**	90,132	[90,132; 93,449]	116,261	10,012	S4_28524017	S4_29504997	S4_28542930	2	
	2021	8	F90_21*	46,553	[46,553; 46,553]	46,553	6,789	S8_26992166	S8_26992166	S8_26992166	1	
Intensidad de floración	SRP	2019	5	IF_19*	68,353	[68,353; 68,353]	68,353	6,791	S5_17910098	S5_17910098	S5_17910098	2
		2020	5	IF_20*	68,353	[68,353; 68,353]	68,353	7,266	S5_17910098	S5_17910098	S5_17910098	2
	2019	5	IF_19*	96,620	[98,239; 101,596]	121,906	7,416	S5_18937962	S5_21755470	S5_18937962	3	
	2020	5	IF_20*	96,620	[98,239; 101,596]	121,906	7,805	S5_18937962	S5_21755470	S5_18937962	3	
	2021	5	IF_21**	96,620	[96,620; 96,795]	121,906	8,471	S5_18937962	S5_21755470	S5_18937962	3	

Tabla S3. Continuación. Descripción de los QTLs de fenología identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C		
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.			
Fecha de maduración	RB	2019	4	FM_19*****	4,904	[21,008; 23,431]	42,237	19,482	S4_17677755	S4_23807142	S4_19494943	3		
		2020	4	FM_20*****	4,904	[21,008; 23,431]	42,237	18,230	S4_17677755	S4_23807142	S4_19494943	3		
		2021	4	FM_21*****	4,904	[21,008; 23,431]	31,410	18,254	S4_17677755	S4_23047991	S4_19494943	3		
		2021	6.1	BF_21**	20,339	[20,339; 21,847]	22,003	9,458	S6_8323460	S6_9361776	S6_8323460	1		
		2021	6.1	BF_21*	29,100	[29,100; 29,125]	29,125	6,972	S6_13245490	S6_13305909	S6_13245490	1		
	SRP	2019	1.1	FM_19*	35,274	[35,274; 35,274]	35,274	6,876	S1_6571219	S1_6571219	S1_6571219	3		
		2020	1.1	FM_20*	35,274	[35,274; 35,274]	35,274	7,182	S1_6571219	S1_6571219	S1_6571219	3		
		2021	1.1	FM_21*	35,274	[35,274; 35,274]	35,274	6,965	S1_6571219	S1_6571219	S1_6571219	3		
		Periodo de desarrollo del fruto	RB	2019	4	PDF_19*****	0,025	[21,008; 23,431]	31,410	17,687	S4_16964832	S4_23047991	S4_19494943	3
				2020	4	PDF_20*****	4,904	[21,008; 21,208]	31,410	17,941	S4_17677755	S4_23047991	S4_19494943	3
2021	4			PDF_21*****	0,025	[21,008; 24,529]	31,410	18,127	S4_16964832	S4_23047991	S4_19494943	3		
2020	6.2			PDF_20*	0,000	[0,000; 6,908]	6,908	6,884	S6_27717887	S6_32034879	S6_27717887	1		
2020	6.2			PDF_20**	9,854	[12,868; 12,868]	12,868	8,018	S6_33984792	S6_21037658	S6_20743026	1		
SRP	2020		1.1	PDF_20***	25,547	[35,274; 35,274]	35,274	11,324	S1_6074605	S1_6571219	S1_6571219	2		
	2021		1.1	PDF_21*	35,274	[35,274; 35,274]	35,274	7,556	S1_6571219	S1_6571219	S1_6571219	2		
	2020		4	PDF_20*	149,370	[149,37; 149,37]	149,370	7,426	S4_23219593	S4_23219593	S4_23219593	1		
	Productividad		SRP	2020	2.3	P_20*	6,431	[6,431; 6,431]	6,431	6,642	S2_34148615	S2_34148615	S2_34148615	1
				2020	3	P_20*	45,858	[45,858; 45,858]	45,858	6,828	S3_5842133	S3_5842133	S3_5842133	2
2021		3		P_21*	45,858	[45,858; 45,868]	45,868	7,349	S3_5842133	S3_5786908	S3_5842133	2		
2021		3		P_21*	69,969	[69,969; 70,456]	70,456	6,827	S3_9024452	S3_9263549	S3_9024452	1		

Tabla S4. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Peso del fruto	BS	2019	4	PF_19*	122,031	[122,031; 124,643]	124,643	7,051	S4_5716486	S4_5730378	S4_5716486	2
		2021	4	PF_21**	114,050	[114,05; 124,643]	124,643	8,424	S4_4422517	S4_5730378	S4_5730378	2
		2021	4	PF_21*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,710	S4_3450711	S4_3450711	S4_3450711	1
		2021	4	PF_21*	64,533	[64,533; 66,89]	66,890	6,928	S4_3544946	S4_3626042	S4_3544946	1
	PIO	2019	1.1	PF_19*****	0,017	[5,891; 40,081]	40,081	20,165	S1_29741701	S1_39367450	S1_39002565	3
		2020	1.1	PF_20*****	0,017	[0,863; 40,081]	40,081	16,693	S1_29741701	S1_39367450	S1_33839910	3
		2021	1.1	PF_21****	0,846	[6,645; 40,081]	40,081	18,156	S1_30607242	S1_39367450	S1_39002565	3
		2019	1.2	PF_19*****	0,000	[11,736; 16,634]	21,791	16,346	S1_47345352	S1_53542588	S1_50028951	3
		2020	1.2	PF_20****	11,736	[11,736; 15,286]	22,624	12,971	S1_50028951	S1_53935170	S1_50229542	3
		2021	1.2	PF_21****	6,816	[11,736; 14,259]	21,746	12,849	S1_49464512	S1_52959740	S1_50028951	3
		2019	8.2	PF_19*****	1,428	[13,900; 19,571]	23,685	13,487	S8_10878310	S8_18037034	S8_16889344	3
		2020	8.2	PF_20****	2,256	[8,609; 20,530]	23,685	12,277	S8_11272229	S8_18037034	S8_16889344	3
		2021	8.2	PF_21****	8,609	[13,900; 20,530]	22,614	11,574	S8_15310659	S8_18445713	S8_16889344	3
		Diámetro ecuatorial	BS	2019	4	Ø EC_19***	114,050	[122,031; 124,643]	124,643	9,090	S4_4422517	S4_5730378
2020	4			Ø EC_20***	58,640	[64,533; 89,821]	124,643	11,936	S4_3452356	S4_5730378	S4_5730378	3
2021	4			Ø EC_21**	101,597	[122,031; 124,643]	124,643	9,125	S4_4363564	S4_5730378	S4_5730378	3
PIO	2019		1.1	Ø EC_19***	12,712	[31,421; 40,048]	40,081	11,776	S1_34881817	S1_39367450	S1_38993792	3
	2020		1.1	Ø EC_20****	17,209	[28,578; 38,410]	40,081	12,211	S1_35912650	S1_39367450	S1_38993792	3
	2021		1.1	Ø EC_21***	6,645	[31,421; 38,410]	40,081	11,494	S1_32912427	S1_39367450	S1_38993792	3
	2019		1.2	Ø EC_19**	0,000	[0,000; 0,104]	0,104	9,266	S1_47345352	S1_48642975	S1_48642975	1
	2019		1.2	Ø EC_19*	11,736	[11,736; 14,135]	14,135	7,748	S1_49649386	S1_50229542	S1_49649386	1
	2019		2	Ø EC_19**	64,920	[64,920; 84,566]	92,216	10,017	S2_26269611	S2_33514396	S2_28958581	3
	2020		2	Ø EC_20**	64,920	[64,920; 67,489]	80,390	8,152	S2_26269611	S2_30467631	S2_28958581	3
	2021		2	Ø EC_21**	64,920	[64,920; 67,489]	67,489	8,625	S2_26269611	S2_26598108	S2_26598108	3
	2019		8.2	Ø EC_19**	1,991	[3,090; 3,090]	3,090	8,751	S8_11014909	S8_12478306	S8_11786928	3
	2020		8.2	Ø EC_20**	2,256	[3,090; 3,090]	3,090	8,261	S8_11272229	S8_12478306	S8_11786928	3
	2021		8.2	Ø EC_21*	2,256	[3,090; 3,090]	3,090	8,340	S8_11272229	S8_12478306	S8_11786928	3
2019	8.2	Ø EC_19**	13,900	[13,900; 16,714]	20,530	9,570	S8_16511659	S8_17936833	S8_16701131	3		
2020	8.2	Ø EC_20*	14,982	[14,982; 16,681]	16,681	7,222	S8_16674748	S8_16984372	S8_16701131	3		
2021	8.2	Ø EC_21**	13,900	[13,900; 16,714]	20,530	9,591	S8_16496854	S8_17936833	S8_16889344	3		

Tabla S4. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Diámetro sutural	BS	2019	4	Ø SUT_19**	64,533	[66,890; 66,890]	74,460	7,956	S4_3544946	S4_3677766	S4_3626042	3
		2020	4	Ø SUT_20**	64,533	[64,533; 74,460]	75,348	8,710	S4_3544946	S4_3677766	S4_3544946	3
		2021	4	Ø SUT_21*	64,533	[64,533; 66,890]	66,890	6,950	S4_3544946	S4_3626042	S4_3626042	3
		2019	4	Ø SUT_19**	110,306	[114,050; 122,031]	124,643	9,759	S4_4368915	S4_5730378	S4_5730378	3
		2020	4	Ø SUT_20**	122,031	[124,643; 124,643]	124,643	8,914	S4_5716486	S4_5730378	S4_5730378	3
		2021	4	Ø SUT_21**	114,050	[124,643; 124,643]	124,643	8,545	S4_4422517	S4_5730378	S4_5730378	3
	PIO	2019	1.1	Ø SUT_19*****	0,863	[16,935; 40,081]	40,081	16,271	S1_30695992	S1_39367450	S1_39002565	3
		2020	1.1	Ø SUT_20*****	0,846	[16,935; 38,410]	40,081	15,187	S1_30607242	S1_39367450	S1_39002565	3
		2021	1.1	Ø SUT_21*****	0,846	[16,935; 40,081]	40,081	15,571	S1_30607242	S1_39367450	S1_39002565	3
		2019	1.2	Ø SUT_19**	11,736	[11,736; 14,259]	20,125	8,220	S1_50028951	S1_52293096	S1_50028951	2
		2021	1.2	Ø SUT_21**	11,736	[11,736; 20,125]	24,296	8,525	S1_50028951	S1_54341918	S1_50229542	2
		2019	8.2	Ø SUT_19**	13,900	[13,900; 16,714]	19,571	9,805	S8_16511659	S8_17742287	S8_16701131	3
		2020	8.2	Ø SUT_20**	13,900	[13,900; 16,714]	16,714	10,098	S8_16511659	S8_17031425	S8_16701131	3
		2021	8.2	Ø SUT_21**	13,900	[13,900; 16,714]	19,571	10,098	S8_16511659	S8_17742287	S8_16701131	3
Diámetro polar	BS	2019	3.2	Ø POL_19**	0,000	[0,021; 0,021]	0,906	7,906	S3_15526069	S3_21522917	S3_17695639	1
		PIO	2019	1.1	Ø POL_19*****	0,398	[5,891; 40,081]	40,081	30,393	S1_29244722	S1_39367450	S1_38993792
	PIO	2020	1.1	Ø POL_20*****	0,017	[0,863; 40,081]	40,081	29,250	S1_30607242	S1_39367450	S1_38993792	3
		2021	1.1	Ø POL_21*****	0,017	[0,863; 40,081]	40,081	28,265	S1_30607242	S1_39367450	S1_38993792	3
		2019	1.2	Ø POL_19*	11,736	[11,736; 11,736]	11,736	7,878	S1_49558809	S1_50028951	S1_49558809	2
		2021	1.2	Ø POL_21*	11,736	[11,736; 14,135]	14,135	7,785	S1_49558809	S1_50229542	S1_49558809	2
		2019	8.2	Ø POL_19****	1,428	[3,090; 16,714]	21,629	14,579	S8_11213239	S8_18133449	S8_16511659	3
		2020	8.2	Ø POL_20****	1,991	[5,609; 16,714]	21,629	14,049	S8_13608895	S8_18133449	S8_16511659	3
2021	8.2	Ø POL_21****	1,428	[4,235; 16,714]	23,685	15,397	S8_13464983	S8_18037034	S8_16511659	3		
Forma	BS	2019	3.2	FORMA_19**	4,624	[7,315; 7,315]	7,315	8,040	S3_21538674	S3_22967767	S3_22967767	3
		2020	3.2	FORMA_20**	4,624	[7,315; 7,315]	7,315	8,040	S3_21538674	S3_22967767	S3_22967767	3
		2021	3.2	FORMA_21**	4,624	[7,315; 7,315]	7,315	8,040	S3_21538674	S3_22967767	S3_22967767	3

Tabla S4. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Profundidad de sutura	PIO	2019	1.1	PROF.SUT_19*	3,840	[8,380; 16,940]	16,940	7,373	S1_32375916	S1_35884919	S1_34881817	3
		2020	1.1	PROF.SUT_20*	3,840	[8,380; 16,940]	16,940	7,373	S1_32375916	S1_35884919	S1_34881817	3
		2021	1.1	PROF.SUT_21*	12,691	[16,150; 16,935]	16,935	7,359	S1_34963242	S1_35884919	S1_35611411	3
	PIO	2019	1.2	PROF.SUT_19**	23,458	[24,296; 24,362]	24,362	10,324	S1_53963445	S1_54399353	S1_54399353	3
		2020	1.2	PROF.SUT_20**	23,458	[24,296; 24,362]	24,362	10,324	S1_53963445	S1_54399353	S1_54399353	3
		2021	1.2	PROF.SUT_21**	22,624	[24,296; 24,362]	24,362	10,483	S1_53954183	S1_54399353	S1_54399353	3
	PIO	2019	7.2	PROF.SUT_19*	14,005	[14,005; 14,005]	14,005	6,794	S7_20461521	S7_20461521	S7_20461521	3
		2020	7.2	PROF.SUT_20*	14,005	[14,005; 14,005]	14,005	6,794	S7_20461521	S7_20461521	S7_20461521	3
		2021	7.2	PROF.SUT_21*	14,005	[14,005; 14,005]	14,005	6,794	S7_20461521	S7_20461521	S7_20461521	3
Lenticelas	BS	2019	3.2	LENT_19*****	0,000	[0,000; 7,315]	8,257	15,854	S3_15526069	S3_24084759	S3_22785835	3
		2020	3.2	LENT_20*****	0,000	[0,000; 7,315]	9,673	15,854	S3_15526069	S3_24660653	S3_22785835	3
		2021	3.2	LENT_21*****	0,000	[0,906; 7,315]	9,673	15,854	S3_15526069	S3_24660653	S3_22785835	3
	PIO	2019	7.3	LENT_19***	0,000	[0,830; 0,851]	0,851	11,697	S7_27935399	S7_28078249	S7_28078249	3
		2020	7.3	LENT_20***	0,000	[0,830; 0,851]	0,851	11,697	S7_27935399	S7_28078249	S7_28078249	3
		2021	7.3	LENT_21***	0,000	[0,830; 0,851]	0,851	11,697	S7_27935399	S7_28078249	S7_28078249	3
Adhesión del hueso a la pulpa	BS	2019	4	AD_19*	83,967	[83,967; 83,967]	83,967	7,304	S4_4182871	S4_4182871	S4_4182871	3
		2020	4	AD_20**	83,967	[83,967; 83,967]	83,967	8,509	S4_4182871	S4_4182871	S4_4182871	3
		2021	4	AD_21*	83,967	[83,967; 83,967]	83,967	6,733	S4_4182871	S4_4182871	S4_4182871	3
	PIO	2019	4	AD_19*	122,031	[122,031; 124,643]	124,643	7,208	S4_5716486	S4_5730378	S4_5730378	3
		2020	4	AD_20**	122,031	[122,031; 124,643]	124,643	8,071	S4_5716486	S4_5730378	S4_5730378	3
		2021	4	AD_21*	124,643	[124,643; 124,643]	124,643	7,366	S4_5730378	S4_5730378	S4_5730378	3
	PIO	2019	7.2	AD_19**	1,964	[1,964; 1,984]	1,984	8,637	S7_2852243	S7_2820193	S7_2852243	3
		2020	7.2	AD_20**	1,964	[1,964; 1,964]	1,984	8,845	S7_2852243	S7_2820193	S7_2852243	3
		2021	7.2	AD_21**	1,964	[1,964; 1,964]	1,984	8,329	S7_2852243	S7_2820193	S7_2852243	3
PIO	2019	4	AD_19**	0,000	[0,956; 1,387]	3,935	8,661	S4_953266	S4_5635655	S4_3270116	3	
	2020	4	AD_20**	0,000	[0,956; 0,956]	1,392	8,500	S4_953266	S4_2971022	S4_1629917	3	
	2021	4	AD_21**	0,956	[0,956; 0,956]	0,956	8,391	S4_1629917	S4_1629917	S4_1629917	3	

Tabla S4 Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Hueso roto	BS	2019	5	HUESOROTO_19*****	54,850	[74,553; 78,740]	78,976	15,359	S5_13901599	S5_17333195	S5_16094396	3
		2020	5	HUESOROTO_20***	74,553	[78,740; 78,740]	78,740	11,719	S5_17341258	S5_16094396	S5_16094396	3
		2021	5	HUESOROTO_21*****	74,553	[78,740; 78,740]	78,976	14,935	S5_17341258	S5_17333195	S5_16094396	3
	PIO	2019	1.2	HUESOROTO_19**	0,000	[6,816; 6,816]	6,816	10,018	S1_46982582	S1_49464512	S1_49464512	2
		2020	1.2	HUESOROTO_20*	6,816	[6,816; 6,816]	6,816	7,493	S1_49464512	S1_49464512	S1_49464512	2
		2019	5	HUESOROTO_19*****	17,972	[20,511; 31,818]	34,470	11,716	S5_16386184	S5_18259949	S5_16674322	2
		2020	5	HUESOROTO_20*	29,074	[33,582; 34,47]	34,470	7,583	S5_17211437	S5_18259949	S5_17709682	2
Firmeza	BS	2019	3.2	FIRMEZA_19**	0,012	[0,906; 0,906]	0,906	8,907	S3_21307383	S3_21522917	S3_21522917	2
		2021	3.2	FIRMEZA_21****	0,000	[0,012; 0,906]	7,315	14,879	S3_15526069	S3_22540873	S3_21522917	2
		2019	4	FIRMEZA_19****	0,000	[0,000; 0,000]	8,373	12,482	S4_3450711	S4_3450711	S4_3450711	3
		2020	4	FIRMEZA_20**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,954	S4_3450711	S4_3450711	S4_3450711	3
		2021	4	FIRMEZA_21**	0,000	[0,000; 0,000]	8,373	9,338	S4_3450711	S4_3450711	S4_3450711	3
	PIO	2019	4	FIRMEZA_19**	54,923	[58,640; 60,351]	60,351	10,189	S4_3527641	S4_3452403	S4_3452356	3
		2020	4	FIRMEZA_20*	60,351	[60,351; 60,351]	60,351	6,934	S4_3452403	S4_3452403	S4_3452403	3
		2021	4	FIRMEZA_21*	58,640	[58,640; 60,351]	60,351	7,434	S4_3452356	S4_3452403	S4_3452403	3
		2019	4	FIRMEZA_19**	94,053	[114,05; 124,643]	124,643	9,876	S4_4350035	S4_5730378	S4_5730378	3
		2020	4	FIRMEZA_20**	114,050	[114,05; 122,031]	122,031	8,035	S4_4422517	S4_5716486	S4_4422517	3
		2021	4	FIRMEZA_21**	114,050	[114,05; 124,643]	124,643	8,169	S4_4422517	S4_5730378	S4_5716486	3
		2019	1.1	FIRMEZA_19****	28,578	[35,504; 38,410]	40,081	13,510	S1_36502473	S1_39367450	S1_39702792	3
		2020	1.1	FIRMEZA_20***	28,578	[36,349; 38,410]	40,081	12,575	S1_36502473	S1_39367450	S1_39702792	3
		2021	1.1	FIRMEZA_21****	28,578	[36,349; 38,410]	40,081	12,197	S1_36502473	S1_39367450	S1_39702792	3
		2021	2	FIRMEZA_21****	34,297	[37,859; 54,507]	54,507	11,883	S2_19552289	S2_24688653	S2_22319564	1

Tabla S4. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Color fondo visual	PIO	2019	5	FONDO.V_19**	33,582	[34,470; 34,470]	34,470	7,944	S5_17709682	S5_18259949	S5_18259949	3
		2020	5	FONDO.V_20**	33,582	[34,470; 34,470]	34,470	7,944	S5_17709682	S5_18259949	S5_18259949	3
		2021	5	FONDO.V_21**	33,582	[34,470; 34,470]	34,470	7,944	S5_17709682	S5_18259949	S5_18259949	3
Color piel visual	BS	2019	3.2	PIEL.V_19*****	0,000	[0,000; 7,315]	9,673	24,270	S3_15526069	S3_24660653	S3_20860507	3
		2020	3.2	PIEL.V_20*****	0,000	[0,000; 7,315]	9,673	24,270	S3_15526069	S3_24660653	S3_20860507	3
		2021	3.2	PIEL.V_21*****	0,000	[0,000; 8,257]	9,673	22,467	S3_15526069	S3_24660653	S3_21307383	3
	PIO	2019	4	PIEL.V_19*****	30,566	[83,967; 132,609]	132,609	25,453	S4_2181235	S4_5892324	S4_5716486	3
		2020	4	PIEL.V_20*****	30,566	[83,967; 132,609]	132,609	25,453	S4_2181235	S4_5892324	S4_5716486	3
		2021	4	PIEL.V_21*****	30,566	[83,967; 132,609]	132,609	25,453	S4_2181235	S4_5892324	S4_5716486	3
	BS	2019	1.1	PIEL.V_19**	28,578	[35,504; 38,41]	40,048	9,852	S1_36502473	S1_39367450	S1_38891649	3
		2020	1.1	PIEL.V_20**	30,733	[35,504; 38,41]	40,048	9,852	S1_37730961	S1_39367450	S1_38993792	3
		2021	1.1	PIEL.V_21**	28,578	[35,504; 38,41]	40,048	9,852	S1_36502473	S1_39367450	S1_38993792	3
		2019	8.2	PIEL.V_19****	1,428	[4,235; 13,900]	16,681	12,447	S8_10878310	S8_16984372	S8_14265616	3
		2020	8.2	PIEL.V_20****	1,428	[4,235; 13,900]	16,681	12,447	S8_10878310	S8_16984372	S8_14265616	3
		2021	8.2	PIEL.V_21****	1,428	[4,235; 13,900]	16,681	12,447	S8_10878310	S8_16984372	S8_14265616	3
Ángulo Hue de color de piel	BS	2019	3.2	PIEL.H_19*****	0,000	[0,000; 4,624]	7,315	18,147	S3_15526069	S3_22540873	S3_21522917	3
		2020	3.2	PIEL.H_20*****	0,000	[0,000; 4,624]	7,315	17,270	S3_15526069	S3_22540873	S3_21522917	3
		2021	3.2	PIEL.H_21****	0,000	[0,000; 4,624]	7,315	14,377	S3_15526069	S3_22785835	S3_20860507	3
	PIO	2019	1.1	PIEL.H_19****	0,000	[0,000; 2,524]	8,379	14,202	S1_28553957	S1_33674187	S1_31241546	3
		2020	1.1	PIEL.H_20****	0,000	[0,000; 2,524]	7,403	14,945	S1_28553957	S1_33507923	S1_28927521	3
		2021	1.1	PIEL.H_21*****	0,000	[0,000; 3,984]	8,491	17,437	S1_28553957	S1_34089733	S1_28927521	3
		2019	1.1	PIEL.H_19****	16,799	[38,410; 38,41]	40,048	12,360	S1_35877201	S1_39367450	S1_40132263	3
		2020	1.1	PIEL.H_20****	16,935	[38,410; 40,081]	40,081	12,947	S1_35884919	S1_39367450	S1_40132263	3
		2021	1.1	PIEL.H_21*****	16,150	[28,578; 40,081]	40,081	16,993	S1_35611411	S1_39367450	S1_40132263	3
	BS	2019	3	PIEL.H_19*	22,256	[22,256; 22,738]	22,738	6,966	S3_11321511	S3_12009399	S3_11321511	2
		2021	3	PIEL.H_21*	22,256	[22,256; 22,738]	22,738	6,875	S3_11321511	S3_12009399	S3_11321511	2
		2019	8.2	PIEL.H_19**	0,000	[1,428; 1,991]	1,991	10,271	S8_10220446	S8_11014909	S8_10886882	3
2020		8.2	PIEL.H_20*	0,749	[0,749; 1,991]	1,991	9,495	S8_10305950	S8_11014909	S8_10886882	3	
2021		8.2	PIEL.H_21**	0,749	[0,749; 1,991]	1,991	9,450	S8_10305950	S8_11014909	S8_10886882	3	

Tabla S4. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Parámetro C de color de piel	BS	2019	1	PIEL.C_19*****	26,718	[38,276; 42,919]	45,085	12,474	S1_20079056	S1_19304970	S1_19079231	3
		2020	1	PIEL.C_20***	26,718	[42,919; 42,919]	45,085	11,638	S1_20079056	S1_19304970	S1_19079231	3
		2021	1	PIEL.C_21*****	26,718	[31,977; 42,919]	45,085	12,171	S1_20079056	S1_19304970	S1_19079231	3
		2019	3.2	PIEL.C_19*****	0,000	[0,000; 4,624]	7,315	14,907	S3_15526069	S3_22785835	S3_20860507	3
		2020	3.2	PIEL.C_20*****	0,000	[0,000; 4,624]	7,315	17,521	S3_15526069	S3_22540873	S3_20860507	3
		2021	3.2	PIEL.C_21*****	0,000	[0,000; 4,624]	7,315	14,254	S3_15526069	S3_22785835	S3_20860507	3
		2019	5	PIEL.C_19*	2,713	[2,713; 4,312]	5,942	7,162	S5_681276	S5_1266013	S5_1266013	1
		2019	1.1	PIEL.C_19***	0,000	[0,863; 2,524]	3,984	11,142	S1_28553957	S1_32337290	S1_28407796	3
		2020	1.1	PIEL.C_20***	0,000	[0,846; 2,524]	3,984	11,485	S1_28553957	S1_32337290	S1_31717406	3
	2021	1.1	PIEL.C_21**	0,017	[0,017; 3,984]	3,984	10,335	S1_28407796	S1_32337290	S1_31717406	3	
	2019	1.1	PIEL.C_19**	38,410	[39,172; 38,410]	40,048	8,497	S1_39372599	S1_39367450	S1_39266193	3	
	2020	1.1	PIEL.C_20***	38,410	[39,172; 40,081]	40,081	8,047	S1_39702792	S1_39367450	S1_39266193	3	
	2021	1.1	PIEL.C_21**	38,410	[39,172; 40,081]	40,081	8,086	S1_39246200	S1_39367450	S1_39266193	3	
	2019	5	PIEL.C_19**	18,233	[18,233; 20,511]	33,112	9,553	S5_16415851	S5_17715751	S5_16637302	3	
	2020	5	PIEL.C_20***	18,233	[18,233; 20,511]	33,112	10,851	S5_16415851	S5_17715751	S5_16582391	3	
	2021	5	PIEL.C_21**	18,233	[18,233; 24,180]	33,112	8,842	S5_16415851	S5_17715751	S5_16582391	3	
	2019	7.1	PIEL.C_19**	1,348	[1,348; 6,987]	8,076	10,436	S7_6010747	S7_10737280	S7_6010747	3	
	2020	7.1	PIEL.C_20**	1,348	[1,348; 1,348]	8,076	8,74	S7_5841043	S7_10737280	S7_6010747	3	
2021	7.1	PIEL.C_21**	1,348	[1,348; 1,365]	8,076	9,308	S7_6010747	S7_10737280	S7_6010747	3		
Parámetro L de color de piel	BS	2019	3.2	PIEL.L_19*****	0,000	[0,000; 4,624]	9,673	23,55	S3_15526069	S3_24084759	S3_20860507	3
		2020	3.2	PIEL.L_20*****	0,000	[0,000; 4,624]	8,257	22,705	S3_15526069	S3_24084759	S3_20860507	3
		2021	3.2	PIEL.L_21*****	0,000	[0,000; 4,624]	9,673	24,835	S3_15526069	S3_24084759	S3_20860507	3
	PIO	2019	1.1	PIEL.L_19*****	0,000	[0,000; 0,846]	3,984	12,363	S1_28553957	S1_32337290	S1_29741839	3
		2020	1.1	PIEL.L_20***	0,000	[0,017; 0,846]	2,524	11,014	S1_28553957	S1_31768328	S1_28927521	3
		2021	1.1	PIEL.L_21*****	0,000	[0,000; 2,454]	3,843	13,633	S1_28553957	S1_32337290	S1_30607242	3
		2019	1.1	PIEL.L_19**	36,349	[38,410; 38,410]	39,172	10,447	S1_38891649	S1_39266193	S1_40418503	3
		2020	1.1	PIEL.L_20***	36,349	[38,410; 38,410]	39,172	11,011	S1_38891649	S1_39266193	S1_40132263	3
		2021	1.1	PIEL.L_21**	36,349	[36,994; 38,410]	38,41	9,312	S1_38891649	S1_39246200	S1_40132263	3
		2019	7.1	PIEL.L_19*	1,348	[1,348; 1,348]	1,348	6,944	S7_3894954	S7_3895043	S7_3690192	3
		2020	7.1	PIEL.L_20*	1,348	[1,348; 1,348]	1,348	6,811	S7_3894954	S7_3894954	S7_3894954	3
		2021	7.1	PIEL.L_21**	1,344	[1,348; 1,348]	1,348	8,167	S7_3591649	S7_5816568	S7_3894954	3

Tabla S4. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *, $p < 0,005$ se representa como **, $p < 0,001$ se representa como ***, $p < 0,0005$ se representa como ****, $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Color pulpa visual	BS	2019	3.1	PULPA.V 19*****	18.502	[18.502: 24.596]	33.172	15.634	S3 10518042	S3 7959392	S3 10518042	3
		2020	3.1	PULPA.V 20*****	18.502	[18.502: 24.596]	33.172	15.634	S3 10518042	S3 7959392	S3 10518042	3
		2021	3.1	PULPA.V 21*****	18.502	[18.502: 24.596]	33.172	15.634	S3 10518042	S3 7959392	S3 10518042	3
		2019	3.2	PULPA.V 19*****	0.000	[0.000: 7.315]	9.673	35.380	S3 15526069	S3 24660653	S3 15526069	3
		2020	3.2	PULPA.V 20*****	0.000	[0.000: 8.257]	9.673	35.380	S3 15526069	S3 24660653	S3 15526069	3
		2021	3.2	PULPA.V 21*****	0.000	[0.000: 8.257]	9.673	35.380	S3 15526069	S3 24660653	S3 15526069	3
		2019	5	PULPA.V 19***	4.312	[10.166: 14.342]	14.342	11.125	S5 886679	S5 2478624	S5 2478624	3
		2020	5	PULPA.V 20***	4.312	[10.166: 14.342]	14.342	11.125	S5 886679	S5 2478624	S5 2478624	3
		2021	5	PULPA.V 21***	4.312	[10.166: 14.342]	14.342	11.125	S5 886679	S5 2478624	S5 2478624	3
	PIO	2019	4	PULPA.V 19*	0.000	[0.000: 0.956]	0.956	7.560	S4 953266	S4 1629917	S4 1629917	3
		2020	4	PULPA.V 20*	0.000	[0.000: 0.956]	0.956	7.560	S4 953266	S4 1629917	S4 1629917	3
		2021	4	PULPA.V 21*	0.000	[0.000: 0.956]	0.956	7.560	S4 953266	S4 1629917	S4 1629917	3
		2019	5	PULPA.V 19*	16.840	[16.840: 20.511]	20.511	7.912	S5 16210329	S5 16637302	S5 16214736	3
		2020	5	PULPA.V 20*	16.840	[16.840: 20.511]	20.511	7.912	S5 16210329	S5 16637302	S5 16214736	3
		2021	5	PULPA.V 21*	16.840	[16.840: 20.511]	20.511	7.912	S5 16210329	S5 16637302	S5 16214736	3
		2019	5	PULPA.V 19***	31.818	[31.818: 34.470]	34.470	11.079	S5 17519167	S5 18259949	S5 18259949	3
		2020	5	PULPA.V 20***	31.818	[31.818: 34.470]	34.470	11.079	S5 17519167	S5 18259949	S5 18259949	3
		2021	5	PULPA.V 21***	31.818	[31.818: 34.470]	34.470	11.079	S5 17519167	S5 18259949	S5 18259949	3
Ángulo Hue de color de pulpa	BS	2019	3.1	PULPA.H 19****	18.502	[18.502: 20.392]	30.670	13.272	S3 10518042	S3 8005688	S3 10518042	3
		2020	3.1	PULPA.H 20****	18.502	[18.502: 23.762]	30.670	14.468	S3 10518042	S3 8005688	S3 10518042	3
		2021	3.1	PULPA.H 21****	18.502	[18.502: 20.392]	24.596	14.319	S3 10518042	S3 7959392	S3 8434354	3
		2019	3.2	PULPA.H 19*****	0.000	[0.000: 7.315]	9.673	36.613	S3 15526069	S3 24660653	S3 15526069	3
		2020	3.2	PULPA.H 20*****	0.000	[0.000: 8.257]	9.673	34.751	S3 15526069	S3 24660653	S3 15526069	3
		2021	3.2	PULPA.H 21*****	0.000	[0.000: 7.315]	9.673	36.408	S3 15526069	S3 24660653	S3 15526069	3
		2019	5	PULPA.H 19**	4.312	[10.166: 14.342]	14.342	9.922	S5 886679	S5 2478624	S5 2478624	3
		2020	5	PULPA.H 20**	4.312	[10.166: 14.342]	14.342	9.740	S5 886679	S5 2478624	S5 2478624	3
		2021	5	PULPA.H 21**	5.942	[12.648: 14.342]	14.342	8.193	S5 2064501	S5 2478624	S5 2478624	3
	PIO	2019	5	PULPA.H 19**	126.801	[126.801: 127.037]	127.037	8.772	S5 21720444	S5 21679702	S5 21720444	3
		2020	5	PULPA.H 20**	120.475	[126.801: 127.037]	127.037	8.592	S5 22640407	S5 21679702	S5 21720444	3
		2021	5	PULPA.H 21*	126.801	[126.801: 127.037]	127.037	7.107	S5 21720444	S5 21679702	S5 21679702	3
		2019	5	PULPA.H 19**	16.840	[16.840: 20.511]	23.641	9.893	S5 16210329	S5 16796025	S5 16214736	3
		2020	5	PULPA.H 20**	16.840	[16.840: 20.511]	23.641	8.286	S5 16210329	S5 16796025	S5 16674322	3
		2021	5	PULPA.H 21*	16.840	[16.840: 20.511]	23.641	9.927	S5 16210329	S5 16796025	S5 16214736	3
		2019	5	PULPA.H 19***	25.279	[31.818: 34.470]	34.470	10.867	S5 16796426	S5 18259949	S5 18259949	3
		2020	5	PULPA.H 20**	25.279	[31.818: 34.470]	34.470	8.955	S5 16796426	S5 18259949	S5 18259949	3
		2021	5	PULPA.H 21*	25.279	[31.818: 34.470]	34.470	10.818	S5 16796426	S5 18259949	S5 18259949	3

Tabla S4. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos del fruto identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Parámetro C de color de pulpa	BS	2019	3.2	PULPA.C_19*****	0,000	[0,000; 7,315]	9,673	20,698	S3_15526069	S3_24660653	S3_15526069	3
		2020	3.2	PULPA.C_20*****	0,000	[0,000; 7,315]	9,673	22,373	S3_15526069	S3_24660653	S3_21538674	3
		2021	3.2	PULPA.C_21*****	0,000	[0,000; 7,315]	9,673	22,217	S3_15526069	S3_24660653	S3_15526069	3
	PIO	2021	4	PULPA.C_21*	0,000	[0,000; 0,956]	0,956	7,560	S4_953266	S4_1629917	S4_1629917	1
		2021	5	PULPA.C_21*	9,946	[16,840; 18,233]	25,760	7,637	S5_9974256	S5_16758970	S5_16415851	1
		2021	5	PULPA.C_21***	31,818	[31,818; 34,470]	34,470	11,079	S5_17519167	S5_18259949	S5_18259949	1
		2020	7.3	PULPA.C_20*	0,407	[0,407; 0,407]	0,407	7,400	S7_28435994	S7_28435994	S7_28435994	1
Parámetro L de color de pulpa	BS	2019	3.1	PULPA.L_19**	1,652	[18,502; 20,392]	23,762	8,231	S3_5352234	S3_8253111	S3_10518042	3
		2020	3.1	PULPA.L_20*	1,652	[18,502; 20,392]	23,762	7,738	S3_5352234	S3_8253111	S3_10518042	3
		2021	3.1	PULPA.L_19**	1,652	[18,502; 19,491]	24,596	8,271	S3_5352234	S3_8230947	S3_10518042	3
		2019	3.2	PULPA.L_19*****	0,000	[0,000; 8,257]	9,673	33,080	S3_15526069	S3_24660653	S3_15526069	3
		2020	3.2	PULPA.L_20*****	0,000	[0,000; 8,257]	9,673	32,795	S3_15526069	S3_24660653	S3_15526069	3
		2021	3.2	PULPA.L_21*****	0,000	[0,000; 8,257]	9,673	33,047	S3_15526069	S3_24660653	S3_15526069	3
		2019	5	PULPA.L_19*	5,942	[10,777; 14,342]	14,342	7,528	S5_2064501	S5_2478624	S5_3966090	1
		2019	5	PULPA.L_19**	112,257	[112,257; 125,633]	137,745	10,237	S5_20716785	S5_21211971	S5_21679702	3
	PIO	2020	5	PULPA.L_20**	114,857	[126,801; 127,037]	137,745	9,811	S5_20877205	S5_21211971	S5_21679702	3
		2021	5	PULPA.L_21**	112,257	[126,801; 127,037]	137,745	10,213	S5_20716785	S5_21211971	S5_21679702	3
		2019	1.1	PULPA.L_19*	36,994	[36,994; 38,410]	38,410	6,950	S1_38993792	S1_40132263	S1_38993792	2
		2021	1.1	PULPA.L_21*	36,349	[36,349; 38,410]	38,410	7,475	S1_38891649	S1_39702792	S1_38993792	2
		2019	1.2	PULPA.L_19**	23,458	[24,288; 24,288]	24,296	8,375	S1_53963445	S1_54381296	S1_54048730	2
2020	1.2	PULPA.L_20**	23,458	[24,288; 24,288]	24,296	8,675	S1_53963445	S1_54381296	S1_54048730	2		
2020	7.3	PULPA.L_20*	0,830	[0,830; 0,851]	0,851	7,062	S7_28318552	S7_28078249	S7_28318552	1		

Tabla S5. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Peso del fruto	RB	2019	1.2	PF_19*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	7,711	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2020	1.2	PF_20*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	7,150	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2021	1.2	PF_21*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	6,780	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2020	1.3	PF_20*	1,462	[1,462; 2,964]	2,964	7,077	S1_36336012	S1_37885517	S1_37885517	1
		2019	2	PF_19*****	9,771	[34,725; 44,89]	63,164	14,494	S2_6726214	S2_21594495	S2_20710381	3
		2020	2	PF_20*****	9,771	[34,725; 35,459]	63,164	13,109	S2_6726214	S2_21594495	S2_20710381	3
		2021	2	PF_21*****	22,781	[34,725; 44,900]	63,164	13,351	S2_1349597	S2_21594495	S2_20710381	3
		2020	4.2	PF_20*	14,879	[14,898; 16,084]	16,084	7,346	S4_26026601	S4_26130483	S4_26026601	2
		2021	4.2	PF_21*	14,879	[14,879; 14,879]	14,879	6,880	S4_26026601	S4_26026601	S4_26026601	2
		2019	5.3	PF_19**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	9,232	S5_12383552	S5_12674192	S5_9974256	3
		2020	5.3	PF_20**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	10,099	S5_12383552	S5_12674192	S5_9974256	3
		2021	5.3	PF_21**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	9,544	S5_12383552	S5_12674192	S5_9974256	3
		2019	5.3	PF_19**	5,589	[5,589; 7,014]	7,014	7,505	S5_16406457	S5_16386184	S5_16406457	3
		2020	5.3	PF_20**	5,589	[5,589; 7,014]	7,014	7,216	S5_16406457	S5_16386184	S5_16406457	3
	2021	5.3	PF_21**	5,589	[5,589; 7,014]	7,014	6,826	S5_16406457	S5_16700898	S5_16406457	3	
	2019	5.3	PF_19*****	9,978	[12,863; 13,593]	15,172	12,583	S5_17519167	S5_19412843	S5_17929401	3	
	2020	5.3	PF_20*****	9,978	[12,863; 15,172]	15,172	13,407	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2021	5.3	PF_21*****	11,968	[12,863; 13,593]	15,172	12,789	S5_17715764	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2019	7	PF_19*	117,357	[117,357; 117,357]	117,357	7,009	S7_28860173	S7_28930758	S7_28860173	1	
	BS	2019	3.1	PF_19**	1,045	[1,045; 6,004]	6,004	10,112	S3_1426279	S3_6363950	S3_2523481	3
		2020	3.1	PF_20**	1,045	[3,021; 5,019]	6,004	8,114	S3_1426279	S3_5842133	S3_2523481	3
2021		3.1	PF_21**	1,045	[3,021; 5,019]	6,004	8,629	S3_1426279	S3_5842133	S3_2523481	3	
2019		3.2	PF_19*	39,443	[39,443; 39,443]	39,443	6,957	S3_17871224	S3_17871224	S3_17871224	2	
2020		3.2	PF_20**	39,443	[39,443; 39,443]	39,443	8,284	S3_17871224	S3_17871224	S3_17871224	2	
2019		5	PF_19**	29,591	[37,074; 41,708]	41,708	9,107	S5_12185233	S5_14428315	S5_13901599	3	
2020		5	PF_20**	11,562	[37,074; 41,708]	41,894	9,547	S5_3932595	S5_14496878	S5_13901599	3	
2021		5	PF_21**	11,562	[11,916; 16,28]	41,708	9,173	S5_3932595	S5_14428315	S5_4912510	3	

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Diámetro ecuatorial	RB	2019	1.2	Ø EC_19**	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	10,573	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2020	1.2	Ø EC_20**	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	10,303	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2021	1.2	Ø EC_21**	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	10,044	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2019	2	Ø EC_19**	9,771	[9,771; 9,771]	9,771	7,362	S2_6726214	S2_6726214	S2_6726214	3
		2019	2	Ø EC_19**	52,133	[52,133; 52,133]	52,133	8,083	S2_22896019	S2_22896019	S2_22896019	3
		2020	2	Ø EC_20**	9,771	[9,771; 9,771]	9,771	9,004	S2_6726214	S2_6726214	S2_6726214	3
		2020	2	Ø EC_20*	22,781	[22,781; 22,781]	22,781	7,003	S2_1349597	S2_1349597	S2_1349597	3
		2020	2	Ø EC_20*	52,133	[52,133; 52,133]	52,133	7,590	S2_22896019	S2_22896019	S2_22896019	3
		2021	2	Ø EC_21*	9,771	[9,771; 22,781]	55,118	9,903	S2_6726214	S2_23517434	S2_6726214	3
	2019	5.3	Ø EC_19***	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	11,522	S5_12383552	S5_12674192	S5_9974256	3	
	2020	5.3	Ø EC_20***	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	8,300	S5_12383552	S5_12674192	S5_9974256	3	
	2021	5.3	Ø EC_21***	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	10,959	S5_12383552	S5_12674192	S5_9974256	3	
	2019	5.3	Ø EC_19**	5,589	[5,589; 7,014]	7,014	8,659	S5_16406457	S5_16386184	S5_16406457	3	
	2020	5.3	Ø EC_20**	5,589	[5,589; 7,014]	7,014	8,300	S5_16406457	S5_16386184	S5_16406457	3	
	2021	5.3	Ø EC_21**	5,589	[5,589; 7,014]	7,014	8,064	S5_16406457	S5_16386184	S5_16406457	3	
	2019	5.3	Ø EC_19*****	9,978	[12,863; 13,593]	15,172	14,824	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2020	5.3	Ø EC_20*****	9,978	[12,863; 13,593]	15,172	14,343	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2021	5.3	Ø EC_21*****	9,978	[12,863; 13,593]	15,172	14,003	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2019	BS	3.1	Ø EC_19**	1,045	[1,045; 5,019]	5,019	9,122	S3_1426279	S3_4309125	S3_2288940	3
	2020		3.1	Ø EC_20**	1,045	[1,045; 5,019]	5,019	8,689	S3_1426279	S3_4407585	S3_1693132	3
	2021		3.1	Ø EC_21**	1,045	[1,045; 5,019]	5,019	7,677	S3_1426279	S3_4305604	S3_1693132	3
2019	5		Ø EC_19*****	5,393	[11,562; 41,708]	52,059	13,986	S5_2478349	S5_16199173	S5_4912510	3	
2020	5		Ø EC_20*****	5,393	[11,562; 16,280]	52,059	13,382	S5_2478349	S5_16199173	S5_4912510	3	
2021	5		Ø EC_21*****	6,689	[11,562; 16,280]	41,894	11,961	S5_2489305	S5_14496878	S5_4912510	3	

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Diámetro polar	RB	2019	1.2	Ø POL_19*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	7,736	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2020	1.2	Ø POL_20*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	7,763	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2021	1.2	Ø POL_21*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	7,754	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2019	1.3	Ø POL_19*****	0,000	[0,656; 5,925]	29,147	19,020	S1_36203862	S1_49547260	S1_38474582	3
		2020	1.3	Ø POL_20*****	0,000	[0,656; 4,939]	29,147	18,706	S1_36203862	S1_49547260	S1_38474582	3
		2021	1.3	Ø POL_21*****	0,000	[0,656; 4,939]	29,147	18,741	S1_36203862	S1_49547260	S1_38474582	3
		2019	2	Ø POL_19**	3,188	[5,433; 5,433]	5,433	9,257	S2_4147331	S2_5431281	S2_5431281	3
		2020	2	Ø POL_20**	3,188	[5,433; 5,433]	5,433	9,304	S2_4147331	S2_5431281	S2_5431281	3
		2021	2	Ø POL_21**	3,188	[5,433; 5,433]	5,433	9,304	S2_4147331	S2_5431281	S2_5431281	3
	2019	2	Ø POL_19**	10,846	[22,781; 22,781]	30,901	8,748	S2_1340644	S2_11149902	S2_1349597	3	
	2020	2	Ø POL_20**	10,846	[22,781; 22,781]	30,901	8,790	S2_1340644	S2_11149902	S2_1349597	3	
	2021	2	Ø POL_21**	10,846	[22,781; 22,781]	30,901	8,790	S2_1340644	S2_11149902	S2_1349597	3	
	2019	2	Ø POL_19*	35,459	[43,56; 44,038]	52,133	7,694	S2_18701186	S2_22896019	S2_1349597	3	
	2020	2	Ø POL_20*	35,459	[43,56; 44,038]	52,133	7,499	S2_18701186	S2_22896019	S2_11522526	3	
	2021	2	Ø POL_21*	35,459	[43,56; 44,038]	52,133	7,499	S2_18701186	S2_22896019	S2_11522526	3	
	2019	5.3	Ø POL_19**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	8,731	S5_12383552	S5_12674192	S5_12383552	3	
	2020	5.3	Ø POL_20**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	8,755	S5_12383552	S5_12674192	S5_12383552	3	
	2021	5.3	Ø POL_21**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	8,614	S5_12383552	S5_12674192	S5_12383552	3	
	2019	5.3	Ø POL_19*	7,014	[7,014; 7,014]	7,014	6,661	S5_16386184	S5_16386184	S5_16386184	2	
	2020	5.3	Ø POL_20*	7,014	[7,014; 7,014]	7,014	6,635	S5_16386184	S5_16386184	S5_16386184	2	
	2019	5.3	Ø POL_19**	9,978	[12,863; 15,172]	15,172	10,805	S5_17519167	S5_12674192	S5_18205888	3	
	2020	5.3	Ø POL_20***	9,978	[12,863; 15,172]	15,172	10,851	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2021	5.3	Ø POL_21***	12,863	[13,593; 13,593]	15,172	10,851	S5_17929401	S5_19412843	S5_18205888	3	
	BS	2019	2	Ø POL_19*	18,067	[18,067; 22,507]	22,507	7,202	S2_2994285	S2_1823517	S2_1823517	3
		2020	2	Ø POL_20*	18,067	[18,067; 22,507]	22,507	6,877	S2_2994285	S2_1823517	S2_1823517	3
		2021	2	Ø POL_21*	18,067	[18,067; 22,507]	22,507	6,877	S2_2994285	S2_1823517	S2_1823517	3
		2019	3.1	Ø POL_19**	1,045	[5,019; 6,004]	6,004	8,174	S3_1506332	S3_5786908	S3_4309125	3
		2020	3.1	Ø POL_20**	1,045	[5,019; 6,004]	6,004	8,928	S3_1506332	S3_5786908	S3_4309125	3
2021		3.1	Ø POL_21**	1,045	[5,019; 6,004]	6,004	9,031	S3_1506332	S3_5786908	S3_4309125	3	
2019		6	Ø POL_19***	102,063	[102,063; 102,063]	102,063	12,011	S6_30636904	S6_30636904	S6_30636904	3	
2020		6	Ø POL_20***	102,063	[102,063; 102,063]	102,063	11,683	S6_30636904	S6_30636904	S6_30636904	3	
2021		6	Ø POL_21***	102,063	[102,063; 102,063]	102,063	11,812	S6_30636904	S6_30636904	S6_30636904	3	

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Diámetro sutural	RB	2019	1.2	Ø SUT_19*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	6,798	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	2
		2020	1.2	Ø SUT_20*	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	6,903	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	2
		2019	5.3	Ø SUT_19**	0,000	[0,000; 3,192]	7,014	9,081	S5_12383552	S5_16386184	S5_9974256	3
	2020	5.3	Ø SUT_20**	0,000	[0,000; 3,192]	7,014	9,548	S5_12383552	S5_16700898	S5_9974256	3	
	2021	5.3	Ø SUT_21**	0,000	[0,000; 3,192]	7,014	9,961	S5_12383552	S5_16700898	S5_9974256	3	
	2019	5.3	Ø SUT_19***	9,978	[12,863; 13,593]	15,172	12,038	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2020	5.3	Ø SUT_20***	11,968	[12,863; 13,593]	15,172	12,615	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2021	5.3	Ø SUT_21***	11,968	[12,863; 13,593]	15,172	12,828	S5_17519167	S5_19412843	S5_18205888	3	
	2019	6	Ø SUT_20*	8,887	[8,887; 10,204]	14,422	6,674	S6_28207624	S6_27040662	S6_28207624	1	
	2019	7	Ø SUT_19**	77,391	[87,664; 90,703]	92,766	8,921	S7_21743031	S7_25150300	S7_23722450	3	
	2020	7	Ø SUT_20**	77,391	[87,664; 92,766]	92,766	8,924	S7_21743031	S7_25150300	S7_23722450	3	
	2021	7	Ø SUT_21**	86,040	[87,664; 87,669]	90,659	8,545	S7_23343623	S7_24156945	S7_23722450	3	
	2019	7	Ø SUT_19**	107,924	[117,357; 118,347]	118,352	10,314	S7_27107071	S7_29390397	S7_28860173	3	
	2020	7	Ø SUT_20**	100,767	[117,357; 118,347]	118,352	12,218	S7_27107071	S7_29390397	S7_28860173	3	
	2021	7	Ø SUT_21**	117,357	[118,347; 118,347]	118,352	9,738	S7_28860173	S7_29390397	S7_29161883	3	
	BS	2019	3.1	Ø SUT_19**	1,045	[1,045; 5,019]	6,004	10,449	S3_1506332	S3_5842133	S3_2523481	3
		2020	3.1	Ø SUT_20****	1,045	[1,045; 5,019]	6,004	14,350	S3_1506332	S3_6363950	S3_2523481	3
		2021	3.1	Ø SUT_21**	1,045	[1,045; 3,080]	3,080	10,085	S3_1506332	S3_2523664	S3_1506332	3
2019		5	Ø SUT_19*	11,916	[11,916; 16,280]	16,280	7,147	S5_4104590	S5_5272688	S5_4912510	2	
2020		5	Ø SUT_20*	11,916	[11,916; 14,147]	14,147	6,902	S5_4104590	S5_4912510	S5_4912510	2	
Forma		RB	2019	1.3	FORMA_19*	2,964	[3,954; 4,939]	4,939	6,864	S1_38474582	S1_40048006	S1_39125199
	2020		1.3	FORMA_20*	2,964	[3,954; 4,939]	4,939	6,864	S1_38474582	S1_40048006	S1_39125199	3
	2021		1.3	FORMA_21*	2,964	[3,954; 4,939]	4,939	6,864	S1_38474582	S1_40048006	S1_39125199	3
	BS	2019	5	FORMA_19*	77,337	[77,337; 77,337]	77,337	6,964	S5_19427100	S5_19427100	S5_19427100	3
		2020	5	FORMA_20*	77,337	[77,337; 77,337]	77,337	6,964	S5_19427100	S5_19427100	S5_19427100	3
		2021	5	FORMA_21*	77,337	[77,337; 77,337]	77,337	6,964	S5_19427100	S5_19427100	S5_19427100	3
Profundidad de sutura	RB	2019	1.1	PROF.SUT_19**	0,000	[0,054; 4,011]	9,034	8,381	S1_2568402	S1_10502277	S1_9138722	3
		2020	1.1	PROF.SUT_20**	0,000	[0,054; 4,011]	9,034	8,381	S1_2568402	S1_10502277	S1_9138722	3
		2021	1.1	PROF.SUT_21*	4,011	[4,011; 4,011]	4,011	6,762	S1_9138722	S1_9138722	S1_9138722	3
	BS	2019	2	PROF.SUT_19*	22,507	[22,507; 22,507]	22,507	7,216	S2_1823517	S2_1823517	S2_1823517	2
		2020	2	PROF.SUT_20*	22,507	[22,507; 22,507]	22,507	7,216	S2_1823517	S2_1823517	S2_1823517	2

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Profundidad de sutura	BS	2019	2	PROF.SUT_19*	38,946	[38,946; 39,677]	39,677	7,560	S2_13503475	S2_14665973	S2_13487434	2
		2020	2	PROF.SUT_20*	38,946	[38,946; 39,677]	39,677	7,560	S2_13503475	S2_14665973	S2_13487434	2
	RB	2019	2	PROF.SUT_19**	50,046	[50,046; 51,187]	51,187	8,932	S2_19071447	S2_19548034	S2_19071447	3
		2020	2	PROF.SUT_20**	50,046	[50,046; 51,187]	51,187	8,932	S2_19071447	S2_19548034	S2_19071447	3
		2021	2	PROF.SUT_21*	50,046	[50,046; 50,046]	50,046	7,842	S2_19071447	S2_18854082	S2_19071447	3
Adhesión del hueso a la pulpa	RB	2019	1.2	AD_19**	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	8,399	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2020	1.2	AD_20**	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	8,411	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
		2021	1.2	AD_21**	1,666	[1,666; 2,144]	2,144	7,411	S1_33839910	S1_34089733	S1_34089733	3
	BS	2021	2	AD_21*	22,781	[22,781; 22,781]	22,781	6,792	S2_1349597	S2_1349597	S2_1349597	1
		2019	3	AD_19*	2,765	[2,765; 3,441]	3,441	6,708	S3_6234082	S3_6232667	S3_6234082	1
		2019	3	AD_19**	37,507	[47,443; 49,796]	57,534	9,774	S3_25080820	S3_25866323	S3_26681289	3
		2020	3	AD_20**	38,482	[47,443; 47,468]	49,796	8,227	S3_25174866	S3_27193644	S3_26681289	3
		2021	3	AD_21**	37,507	[47,443; 49,796]	49,796	8,906	S3_25080820	S3_27193644	S3_26681289	3
		2021	4.2	AD_21*	3,543	[6,994; 8,273]	10,482	7,229	S4_25017134	S4_25741280	S4_25192596	1
		2019	5.3	AD_19**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	8,399	S5_12383552	S5_12674192	S5_12383552	3
		2020	5.3	AD_20**	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	8,087	S5_12383552	S5_12674192	S5_12383552	3
		2021	5.3	AD_21*	0,000	[0,000; 3,192]	3,192	7,411	S5_12383552	S5_12674192	S5_12383552	3
		2019	5.3	AD_19*	15,172	[15,172; 15,172]	15,172	8,125	S5_19412843	S5_19412843	S5_19412843	3
		2020	5.3	AD_20*	15,172	[15,172; 15,172]	15,172	8,138	S5_19412843	S5_19412843	S5_19412843	3
		2021	5.3	AD_21*	15,172	[15,172; 15,172]	15,172	7,232	S5_19412843	S5_19412843	S5_19412843	3
Hueso roto	BS	2019	1.2	AD_19*	30,140	[30,140; 30,140]	30,140	7,033	S1_28654206	S1_28654206	S1_28654206	1
		2019	3.3	AD_19*****	0,000	[38,003; 42,530]	42,530	18,080	S3_22540873	S3_31551230	S3_31551230	3
		2020	3.3	AD_20*****	0,000	[38,003; 42,530]	42,530	14,940	S3_22540873	S3_31551230	S3_31551230	3
		2021	3.3	AD_21*****	0,000	[38,003; 42,530]	42,530	20,664	S3_22540873	S3_31551230	S3_31551230	3
Hueso roto	RB	2019	4.1	HUESOROTO_19*	15,280	[15,280; 15,699]	15,699	7,361	S4_14382419	S4_15005732	S4_14726355	1
		2021	4.1	HUESOROTO_21*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,034	S4_2376637	S4_2376637	S4_2376637	1
		2020	4.2	HUESOROTO_20*	0,000	[0,000; 5,426]	5,426	7,362	S4_23514126	S4_24612479	S4_24612479	1
	2020	4.2	HUESOROTO_20*	16,359	[16,359; 16,359]	16,359	7,905	S4_26130496	S4_26130496	S4_26130496	1	
	BS	2019	1.1	HUESOROTO_19*	2,217	[2,217; 2,217]	2,217	7,441	S1_7030490	S1_7030490	S1_7030490	1
2019	2	HUESOROTO_19*	79,993	[79,993; 79,993]	79,993	6,729	S2_22639985	S2_22639985	S2_22639985	1		
2019	7	HUESOROTO_19*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,661	S7_1356685	S7_1356685	S7_1356685	1		

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Lenticelas	RB	2019	1.1	LENT 19**	2,853	[3,923; 7,862]	8,044	8,266	S1 7549651	S1 10133630	S1 8815330	3
		2020	1.1	LENT 20**	3,923	[3,977; 7,862]	8,044	8,266	S1 8621253	S1 10133630	S1 8815330	3
		2021	1.1	LENT 21**	2,853	[3,923; 7,862]	8,044	8,266	S1 7549651	S1 10133630	S1 8815330	3
		2019	3	LENT 19*****	0,000	[6,639; 17,439]	40,913	17,990	S3 4391125	S3 24147007	S3 9140750	3
		2020	3	LENT 20*****	0,000	[6,639; 17,439]	40,913	17,990	S3 4391125	S3 24147007	S3 9140750	3
		2021	3	LENT 21*****	0,000	[6,639; 17,439]	40,913	17,990	S3 4391125	S3 24147007	S3 9140750	3
		2019	3	LENT 19**	52,350	[60,692; 60,967]	60,967	9,932	S3 27896102	S3 22744305	S3 22744305	3
		2020	3	LENT 20**	52,350	[60,692; 60,967]	60,967	9,932	S3 27896102	S3 22744305	S3 22744305	3
		2021	3	LENT 21**	52,350	[60,692; 60,967]	60,967	9,932	S3 27896102	S3 22744305	S3 22744305	3
	BS	2019	2	LENT 19*****	11,397	[14,011; 51,187]	60,948	16,293	S2 3646408	S2 20543291	S2 19071447	3
		2020	2	LENT 20*****	11,397	[14,011; 51,187]	60,948	16,293	S2 3646408	S2 20543291	S2 19071447	3
		2021	2	LENT 21*****	11,397	[14,011; 51,187]	60,948	16,293	S2 3646408	S2 20543291	S2 19071447	3
		2019	2	LENT 19**	64,942	[82,253; 97,471]	103,242	10,047	S2 21827004	S2 27027153	S2 25460169	3
		2020	2	LENT 20**	64,942	[82,253; 97,471]	103,242	10,047	S2 21827004	S2 27027153	S2 25460169	3
		2021	2	LENT 21**	64,942	[82,253; 97,471]	103,242	10,047	S2 21827004	S2 27027153	S2 25460169	3
		2019	3.3	LENT 19**	0,000	[0,000; 0,000]	5,011	9,485	S3 22540873	S3 25561771	S3 22540873	3
		2020	3.3	LENT 20**	0,000	[0,000; 0,000]	5,011	9,485	S3 22540873	S3 25561771	S3 22540873	3
		2021	3.3	LENT 21**	0,000	[0,000; 0,000]	5,011	9,485	S3 22540873	S3 25561771	S3 22540873	3
		2019	5	LENT 19*	77,337	[77,337; 86,823]	86,823	7,852	S5 19427100	S5 20862704	S5 20862704	3
		2020	5	LENT 20*	77,337	[77,337; 86,823]	86,823	7,852	S5 19427100	S5 20862704	S5 20862704	3
		2021	5	LENT 21*	77,337	[77,337; 86,823]	86,823	7,852	S5 19427100	S5 20862704	S5 20862704	3
2019	6	LENT 19*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	6,799	S6 26870204	S6 26870204	S6 26870204	3		
2020	6	LENT 20*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	6,799	S6 26870204	S6 26870204	S6 26870204	3		
2021	6	LENT 21*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	6,799	S6 26870204	S6 26870204	S6 26870204	3		
2019	6	LENT 19*	13,597	[13,597; 13,597]	13,597	6,736	S6 27936392	S6 27936392	S6 27936392	3		
2020	6	LENT 20*	13,597	[13,597; 13,597]	13,597	6,736	S6 27936392	S6 27936392	S6 27936392	3		
2021	6	LENT 21*	13,597	[13,597; 13,597]	13,597	6,736	S6 27936392	S6 27936392	S6 27936392	3		
2019	6	LENT 19*	19,274	[19,274; 19,274]	19,274	6,904	S6 27989441	S6 27989441	S6 27989441	3		
2020	6	LENT 20*	19,274	[19,274; 19,274]	19,274	6,904	S6 27989441	S6 27989441	S6 27989441	3		
2021	6	LENT 21*	19,274	[19,274; 19,274]	19,274	6,904	S6 27989441	S6 27989441	S6 27989441	3		
2019	6	LENT 19**	31,306	[31,306; 31,306]	31,306	8,095	S6 28338003	S6 28338003	S6 28338003	3		
2020	6	LENT 20**	31,306	[31,306; 31,306]	31,306	8,095	S6 28338003	S6 28338003	S6 28338003	3		
2021	6	LENT 21**	31,306	[31,306; 31,306]	31,306	8,095	S6 28338003	S6 28338003	S6 28338003	3		

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Firmeza	RB	2019	1.3	FIRMEZA_19**	0,000	[0,000; 5,536]	5,925	9,658	S1_36203862	S1_40291114	S1_38474582	3
		2020	1.3	FIRMEZA_20**	0,000	[1,462; 5,925]	5,925	10,170	S1_36203862	S1_40291114	S1_38474582	3
		2021	1.3	FIRMEZA_21**	0,000	[3,954; 5,925]	5,925	8,609	S1_36203862	S1_40291114	S1_39125199	3
		2019	3	FIRMEZA_19**	27,498	[36,272; 40,913]	49,796	10,083	S3_15551317	S3_27193644	S3_25174866	3
		2020	3	FIRMEZA_20**	27,498	[37,507; 40,913]	45,221	9,064	S3_15551317	S3_26272370	S3_25174866	3
		2021	3	FIRMEZA_21**	24,347	[36,272; 40,913]	49,796	9,981	S3_15204842	S3_27193644	S3_25174866	3
		2019	3	FIRMEZA_19**	55,113	[57,529; 57,534]	57,534	8,550	S3_27540274	S3_25866323	S3_25851543	3
		2020	3	FIRMEZA_20**	57,529	[57,529; 57,534]	57,534	7,669	S3_25851543	S3_25866323	S3_25851543	3
		2021	3	FIRMEZA_21**	55,113	[57,529; 57,534]	60,967	8,534	S3_27540274	S3_23039032	S3_25851543	3
		2019	4.2	FIRMEZA_19**	0,000	[3,543; 10,482]	17,503	10,786	S4_23368247	S4_26258734	S4_25017134	3
		2020	4.2	FIRMEZA_20**	0,000	[3,543; 10,482]	16,359	10,751	S4_23368247	S4_26130496	S4_25017134	3
		2021	4.2	FIRMEZA_21**	0,000	[6,994; 10,482]	16,359	8,682	S4_23368247	S4_26130496	S4_25078602	3
	BS	2019	1.2	FIRMEZA_19**	5,426	[5,426; 9,788]	9,788	10,741	S1_25805619	S1_27714189	S1_25805619	3
		2020	1.2	FIRMEZA_20**	0,000	[5,426; 9,788]	15,981	12,387	S1_25517118	S1_25871411	S1_25805619	3
		2021	1.2	FIRMEZA_21**	5,426	[5,426; 9,788]	9,788	9,847	S1_25805619	S1_27714189	S1_25805619	3
		2019	1.2	FIRMEZA_19**	25,517	[25,517; 37,061]	37,061	10,291	S1_28457466	S1_31057601	S1_28457466	3
		2020	1.2	FIRMEZA_20***	25,517	[25,517; 37,061]	37,061	12,059	S1_28457466	S1_31057601	S1_28457466	3
		2021	1.2	FIRMEZA_21**	25,517	[25,517; 37,061]	37,061	9,463	S1_28457466	S1_31057601	S1_28457466	3
		2020	3.1	FIRMEZA_19*	6,004	[6,004; 6,004]	6,004	6,927	S3_6363950	S3_6363950	S3_6363950	2
		2021	3.1	FIRMEZA_21*	6,004	[6,004; 6,004]	6,004	7,819	S3_6363950	S3_5842133	S3_6363950	2
		2019	3.3	FIRMEZA_19**	0,000	[0,000; 3,031]	4,021	8,506	S3_22540873	S3_25118939	S3_22540873	3
		2020	3.3	FIRMEZA_20**	0,000	[0,000; 3,031]	5,011	8,890	S3_22540873	S3_25561771	S3_24659471	3
		2021	3.3	FIRMEZA_21**	0,000	[0,000; 4,021]	6,002	9,945	S3_22540873	S3_26126216	S3_24659471	3
		2019	3.3	FIRMEZA_19*	15,235	[15,235; 15,235]	15,235	7,064	S3_29272593	S3_29272593	S3_29272593	3
		2020	3.3	FIRMEZA_20*	15,235	[15,235; 15,235]	15,235	6,659	S3_29272593	S3_29272593	S3_29272593	3
		2021	3.3	FIRMEZA_21**	15,225	[15,235; 15,235]	38,003	8,890	S3_29173778	S3_29916034	S3_29272593	3
2019	3.3	FIRMEZA_19**	41,864	[41,864; 42,530]	42,530	8,722	S3_31620688	S3_31551230	S3_31551230	3		
2020	3.3	FIRMEZA_20*	42,530	[42,530; 42,530]	42,530	7,056	S3_31551230	S3_31551230	S3_31551230	3		
2021	3.3	FIRMEZA_21**	41,287	[41,864; 42,530]	42,530	10,320	S3_30671078	S3_31551230	S3_31551230	3		
2019	5	FIRMEZA_19*****	58,407	[74,338; 92,633]	95,290	19,783	S5_17333195	S5_22053717	S5_20862704	3		
2020	5	FIRMEZA_20*****	58,407	[74,338; 92,633]	95,290	20,756	S5_17333195	S5_22053717	S5_19427100	3		
2021	5	FIRMEZA_21*****	58,407	[74,338; 92,633]	95,290	21,780	S5_17333195	S5_22053717	S5_19427100	3		

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Color fondo visual	RB	2019	2	FONDO.V 19**	7,645	[12,122; 15,274]	30,901	8,347	S2 1977791	S2 11149902	S2 11068091	3
		2020	2	FONDO.V_20**	7,645	[12,122; 15,274]	30,901	8,347	S2_1977791	S2_11149902	S2_11068091	3
		2021	2	FONDO.V 21**	7,645	[12,122; 15,274]	30,901	8,347	S2 1977791	S2 11149902	S2 11068091	3
		2019	3	FONDO.V 19*****	0,000	[12,330; 17,439]	41,992	14,824	S3 4391125	S3 23239700	S3 12468085	3
		2020	3	FONDO.V_20*****	0,000	[12,330; 17,439]	41,992	14,824	S3_4391125	S3_23239700	S3_12468085	3
		2021	3	FONDO.V 21*****	0,000	[12,330; 17,439]	41,992	14,824	S3 4391125	S3 23239700	S3 12468085	3
		2019	3	FONDO.V 19**	57,529	[57,529; 57,529]	60,962	8,061	S3 25851543	S3 22744305	S3 25851543	3
		2020	3	FONDO.V_20**	57,529	[57,529; 57,529]	60,962	8,061	S3_25851543	S3_22744305	S3_25851543	3
		2021	3	FONDO.V 21**	57,529	[57,529; 57,529]	60,962	8,061	S3 25851543	S3 22744305	S3 25851543	3
	2019	4.2	FONDO.V 19**	16,812	[17,503; 17,503]	17,503	9,245	S4 26238212	S4 26258734	S4 26258734	3	
	2020	4.2	FONDO.V_20**	16,812	[17,503; 17,503]	17,503	9,245	S4_26238212	S4_26258734	S4_26258734	3	
	2021	4.2	FONDO.V 21**	16,812	[17,503; 17,503]	17,503	9,245	S4 26238212	S4 26258734	S4 26258734	3	
	2019	BS	2	FONDO.V 19**	83,837	[87,324; 97,471]	97,471	8,274	S2 23450340	S2 25460169	S2 25460169	3
	2020		2	FONDO.V_20**	83,837	[87,324; 97,471]	97,471	8,274	S2_23450340	S2_25460169	S2_25460169	3
	2021		2	FONDO.V 21**	83,837	[87,324; 97,471]	97,471	8,274	S2 23450340	S2 25460169	S2 25460169	3
	2019		3.1	FONDO.V 19*	3,021	[3,021; 3,021]	3,021	6,871	S3 2523481	S3 2523481	S3 2523481	3
	2020		3.1	FONDO.V_20*	3,021	[3,021; 3,021]	3,021	6,871	S3_2523481	S3_2523481	S3_2523481	3
	2021		3.1	FONDO.V 21*	3,021	[3,021; 3,021]	3,021	6,871	S3 2523481	S3_2523481	S3_2523481	3
	2019		5	FONDO.V 19****	77,337	[92,633; 95,29]	103,936	15,062	S5 19427100	S5 23127511	S5 21755470	3
	2020		5	FONDO.V_20****	77,337	[92,633; 95,29]	103,936	15,062	S5_19427100	S5_23127511	S5_21755470	3
	2021		5	FONDO.V 21****	77,337	[92,633; 95,29]	103,936	15,062	S5 19427100	S5 23127511	S5 21755470	3
	2019	6	FONDO.V 19*	88,025	[88,025; 88,025]	88,025	7,491	S6 30658090	S6 30658090	S6 30658090	3	
	2020	6	FONDO.V_20*	88,025	[88,025; 88,025]	88,025	7,491	S6_30658090	S6_30658090	S6_30658090	3	
	2021	6	FONDO.V 21*	88,025	[88,025; 88,025]	88,025	7,491	S6 30658090	S6 30658090	S6 30658090	3	
	2019	6	FONDO.V 19*	116,999	[116,999; 116,999]	116,999	7,586	S6 30588803	S6 30588803	S6 30588803	3	
	2020	6	FONDO.V_20*	116,999	[116,999; 116,999]	116,999	7,586	S6_30588803	S6_30588803	S6_30588803	3	
	2021	6	FONDO.V 21*	116,999	[116,999; 116,999]	116,999	7,586	S6_30588803	S6_30588803	S6_30588803	3	
2019	6	FONDO.V 19*	166,076	[166,076; 168,8]	168,800	7,207	S6 31937409	S6 31747085	S6 31937409	3		
2020	6	FONDO.V_20*	166,076	[166,076; 168,8]	168,800	7,207	S6_31937409	S6_31747085	S6_31937409	3		
2021	6	FONDO.V 21*	166,076	[166,076; 168,8]	168,800	7,207	S6_31937409	S6_31747085	S6_31937409	3		
2019	7	FONDO.V 19****	0,000	[3,888; 12,327]	16,914	12,635	S7_1356685	S7_11032266	S7_3389040	3		
2020	7	FONDO.V_20****	0,000	[3,888; 12,327]	16,914	12,635	S7_1356685	S7_11032266	S7_3389040	3		
2021	7	FONDO.V 21****	0,000	[3,888; 12,327]	16,914	12,635	S7 1356685	S7 11032266	S7_3389040	3		

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Color de piel visual	RB	2019	3	PIEL.V_19*****	0,000	[0,000; 60,967]	60,967	24,197	S3_4391125	S3_23039032	S3_16074034	3
		2020	3	PIEL.V_20*****	0,000	[0,000; 60,967]	60,967	24,197	S3_4391125	S3_23039032	S3_16074034	3
		2021	3	PIEL.V_21*****	0,000	[0,000; 60,967]	60,967	24,197	S3_4391125	S3_23039032	S3_16074034	3
		2019	4.2	PIEL.V_19**	14,879	[16,359; 17,503]	17,503	10,590	S4_26026601	S4_26258734	S4_26238212	3
		2020	4.2	PIEL.V_20**	14,879	[16,359; 17,503]	17,503	10,590	S4_26026601	S4_26258734	S4_26238212	3
		2021	4.2	PIEL.V_21**	14,879	[16,359; 17,503]	17,503	10,590	S4_26026601	S4_26258734	S4_26238212	3
	BS	2019	2	PIEL.V_19*****	11,397	[29,245; 50,046]	97,471	15,741	S2_3646408	S2_25460169	S2_12337790	3
		2020	2	PIEL.V_20*****	11,397	[29,245; 50,046]	97,471	15,741	S2_3646408	S2_25460169	S2_12337790	3
		2021	2	PIEL.V_21*****	11,397	[29,245; 50,046]	97,471	15,741	S2_3646408	S2_25460169	S2_12337790	3
		2019	3.3	PIEL.V_19****	0,000	[0,000; 3,031]	15,235	13,936	S3_22540873	S3_29272593	S3_22540873	3
		2020	3.3	PIEL.V_20****	0,000	[0,000; 3,031]	15,235	13,936	S3_22540873	S3_29272593	S3_22540873	3
		2021	3.3	PIEL.V_21****	0,000	[0,000; 3,031]	15,235	13,936	S3_22540873	S3_29272593	S3_22540873	3
		2019	5	PIEL.V_19***	74,338	[77,805; 78,323]	103,936	12,081	S5_18244515	S5_23127511	S5_19431743	3
		2020	5	PIEL.V_20***	74,338	[77,805; 78,323]	103,936	12,081	S5_18244515	S5_23127511	S5_19431743	3
		2021	5	PIEL.V_21***	74,338	[77,805; 78,323]	103,936	12,081	S5_18244515	S5_23127511	S5_19431743	3
		2019	6	PIEL.V_19**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,432	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3
		2020	6	PIEL.V_20**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,432	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3
		2021	6	PIEL.V_21**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,432	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3
		2019	7	PIEL.V_19**	8,735	[12,012; 12,327]	13,557	8,235	S7_6748257	S7_10014870	S7_9908153	3
		2020	7	PIEL.V_20**	8,735	[12,012; 12,327]	13,557	8,235	S7_6748257	S7_10014870	S7_9908153	3
		2021	7	PIEL.V_21**	8,735	[12,012; 12,327]	13,557	8,235	S7_6748257	S7_10014870	S7_9908153	3

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Parámetro L de color de piel	RB	2019	3	PIELL_19***	0,000	[10,340; 31,001]	33,124	11,730	S3_4391125	S3_18245770	S3_12196103	3
		2020	3	PIELL_20****	0,000	[12,330; 31,001]	40,913	14,213	S3_4391125	S3_24147007	S3_12658263	3
		2021	3	PIELL_21****	0,000	[12,669; 31,001]	40,913	12,476	S3_4391125	S3_24147007	S3_16326192	3
	BS	2019	2	PIELL_19***	14,011	[32,198; 45,53]	97,171	11,789	S2_4519790	S2_25435341	S2_12337790	3
		2020	2	PIELL_20****	14,011	[32,198; 45,53]	97,171	11,789	S2_4519790	S2_25435341	S2_12337790	3
		2021	2	PIELL_21****	14,011	[39,334; 45,53]	87,481	13,083	S2_4519790	S2_24901428	S2_17731826	3
		2019	3.1	PIELL_19*	1,045	[1,523; 2,031]	6,004	8,198	S3_1426279	S3_6363950	S3_6363950	2
		2020	3.1	PIELL_20**	1,045	[1,045; 3,021]	6,004	10,414	S3_1426279	S3_5786908	S3_6363950	2
		2019	3.2	PIELL_19*	39,443	[39,443; 39,443]	39,443	7,388	S3_17871224	S3_17871224	S3_17871224	2
		2020	3.2	PIELL_20*	39,443	[39,443; 39,443]	39,443	7,388	S3_17871224	S3_17871224	S3_17871224	2
		2019	3.3	PIELL_19*****	0,000	[0,000; 6,002]	15,235	17,834	S3_22540873	S3_29272593	S3_22540873	3
		2020	3.3	PIELL_20*****	0,000	[0,000; 6,002]	15,235	17,834	S3_22540873	S3_29272593	S3_22540873	3
		2021	3.3	PIELL_21*****	0,000	[0,000; 6,002]	15,235	18,192	S3_22540873	S3_29272593	S3_22540873	3
		2019	5	PIELL_19***	62,875	[77,805; 94,06]	103,936	12,024	S5_17333608	S5_23127511	S5_19431743	3
		2020	5	PIELL_20***	58,407	[77,805; 94,06]	103,936	12,024	S5_17333195	S5_23127511	S5_19431743	3
		2021	5	PIELL_21***	77,337	[86,823; 103,22]	103,936	12,528	S5_19427100	S5_23127511	S5_21237037	3
		2019	6	PIELL_19**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	10,524	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3
		2020	6	PIELL_20**	0,000	[0,000; 5,799]	5,799	10,524	S6_26870204	S6_27901803	S6_26870204	3
		2021	6	PIELL_21**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	9,895	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3
		2019	6	PIELL_19*	89,558	[89,558; 89,558]	89,558	6,697	S6_30658401	S6_30658401	S6_30658401	3
		2020	6	PIELL_20**	82,893	[88,025; 89,558]	89,558	8,706	S6_31160340	S6_30658401	S6_30658401	3
2021	6	PIELL_21**	89,558	[89,558; 89,558]	89,558	6,649	S6_30658401	S6_30658401	S6_30658401	3		
2020	6	PIELL_20*	31,296	[31,296; 31,306]	31,306	7,668	S6_28346351	S6_28338003	S6_28346351	2		
2021	6	PIELL_21*	31,296	[31,296; 31,306]	31,306	7,386	S6_28346351	S6_28338003	S6_28346351	2		
2020	6	PIELL_20*	166,076	[166,076; 166,076]	166,076	7,392	S6_31937409	S6_31937409	S6_31937409	2		
2021	6	PIELL_21**	155,745	[166,076; 166,076]	166,076	7,979	S6_32438362	S6_31937409	S6_31937409	2		

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Parámetro C de color de piel	RB	2019	3	PIEL.C_19****	0,000	[14,308; 31,001]	60,967	14,352	S3_4391125	S3_23039032	S3_16074034	3
		2020	3	PIEL.C_20*****	0,000	[12,669; 33,124]	60,967	16,026	S3_4391125	S3_23039032	S3_16074034	3
		2021	3	PIEL.C_21****	0,000	[12,669; 33,124]	60,967	14,985	S3_4391125	S3_23039032	S3_16074034	3
	BS	2019	2	PIEL.C_19*	29,245	[38,946; 39,677]	50,046	7,737	S2_8132605	S2_19071447	S2_14665973	3
		2020	2	PIEL.C_20**	28,192	[39,466; 39,677]	50,046	7,908	S2_8014297	S2_19071447	S2_14665973	3
		2021	2	PIEL.C_21*	28,192	[28,192; 39,677]	50,046	7,746	S2_8014297	S2_18854082	S2_14665973	3
		2019	3.1	PIEL.C_19**	1,045	[1,045; 3,021]	6,004	9,507	S3_1426279	S3_6363950	S3_1426279	3
		2020	3.1	PIEL.C_20**	1,045	[1,045; 5,019]	6,004	10,570	S3_1426279	S3_5786908	S3_1426279	3
		2021	3.1	PIEL.C_21**	1,045	[1,523; 3,021]	5,019	8,878	S3_1426279	S3_4407585	S3_2288940	3
		2019	3.2	PIEL.C_20*	39,443	[39,443; 39,443]	39,443	6,799	S3_17871224	S3_17871224	S3_17871224	2
		2020	3.2	PIEL.C_21*	39,443	[39,443; 39,443]	39,443	7,067	S3_17871224	S3_17871224	S3_17871224	2
		2019	3.3	PIEL.C_19****	0,000	[0,000; 0,000]	6,002	12,285	S3_22540873	S3_27085977	S3_22540873	3
		2020	3.3	PIEL.C_20****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	13,328	S3_22540873	S3_28013170	S3_22540873	3
		2021	3.3	PIEL.C_21****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	14,111	S3_22540873	S3_28013170	S3_22540873	3
		2019	3.3	PIEL.C_19**	15,235	[15,235; 42,53]	42,530	8,427	S3_29272593	S3_31551230	S3_31551230	3
		2020	3.3	PIEL.C_20**	15,235	[15,235; 42,53]	42,530	9,435	S3_29272593	S3_31551230	S3_31551230	3
		2021	3.3	PIEL.C_21**	15,235	[15,235; 42,53]	42,530	9,559	S3_29272593	S3_31551230	S3_31551230	3
		2019	5	PIEL.C_19*	77,805	[77,805; 78,323]	78,323	6,745	S5_19431743	S5_19431831	S5_19431743	2
		2021	5	PIEL.C_21*	77,805	[77,805; 78,323]	78,323	6,705	S5_19431743	S5_19431831	S5_19431743	2
		2019	6	PIEL.C_19*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,428	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3
		2020	6	PIEL.C_20*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	6,647	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3
2021	6	PIEL.C_21*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,459	S6_26870204	S6_26870204	S6_26870204	3		
2019	6	PIEL.C_19**	31,296	[31,296; 31,306]	31,306	10,261	S6_28346351	S6_28338003	S6_28338003	3		
2020	6	PIEL.C_20**	31,296	[31,296; 31,306]	31,306	9,673	S6_28346351	S6_28338003	S6_28338003	3		
2021	6	PIEL.C_21**	31,296	[31,296; 31,306]	31,306	8,912	S6_28346351	S6_28338003	S6_28338003	3		

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	LG	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Ángulo Hue de color de piel	RB	2019	3	PIEL.H_19*****	0,000	[6,639; 41,992]	60,967	22,315	S3_4391125	S3_23039032	S3_16326192	3
		2020	3	PIEL.H_20*****	0,000	[6,639; 41,992]	60,967	22,315	S3_4391125	S3_23039032	S3_16326192	3
		2021	3	PIEL.H_21****	0,000	[6,639; 41,992]	60,967	22,315	S3_4391125	S3_23039032	S3_16326192	3
	BS	2019	2	PIEL.H_19*****	11,397	[38,946; 50,046]	87,481	18,117	S2_3646408	S2_24901428	S2_12337790	3
		2020	2	PIEL.H_20*****	11,397	[38,946; 50,046]	87,481	17,889	S2_3646408	S2_24901428	S2_12337790	3
		2021	2	PIEL.H_21*****	11,397	[35,596; 50,046]	97,471	17,889	S2_3646408	S2_25460169	S2_12337790	3
		2019	3.2	PIEL.H_19**	76,198	[76,198; 76,198]	76,198	7,972	S3_20860507	S3_20860507	S3_20860507	3
		2020	3.2	PIEL.H_20**	76,198	[76,198; 76,198]	76,198	7,972	S3_20860507	S3_20860507	S3_20860507	3
		2021	3.2	PIEL.H_21**	76,198	[76,198; 76,198]	76,198	7,993	S3_20860507	S3_20860507	S3_20860507	3
		2019	3.3	PIEL.H_19****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	13,682	S3_22540873	S3_28013170	S3_22540873	3
		2020	3.3	PIEL.H_20****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	13,682	S3_22540873	S3_28013170	S3_22540873	3
		2021	3.3	PIEL.H_21****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	14,134	S3_22540873	S3_28013170	S3_22540873	3
		2019	3.3	PIEL.H_19**	15,235	[15,235; 42,530]	42,530	10,404	S3_29272593	S3_31551230	S3_31551230	3
		2020	3.3	PIEL.H_20**	15,235	[15,235; 42,530]	42,530	10,404	S3_29272593	S3_31551230	S3_31551230	3
		2021	3.3	PIEL.H_21**	15,235	[15,235; 42,530]	42,530	10,159	S3_29272593	S3_31551230	S3_31551230	3
		2019	5	PIEL.H_19*****	74,338	[77,337; 78,323]	103,220	12,912	S5_18244515	S5_23060080	S5_19427100	3
		2020	5	PIEL.H_20*****	74,338	[77,337; 78,323]	103,220	12,912	S5_18244515	S5_23060080	S5_19427100	3
		2021	5	PIEL.H_21*****	74,338	[77,337; 78,323]	103,220	12,935	S5_18244515	S5_23060080	S5_19427100	3
		2019	7	PIEL.H_19**	5,741	[7,975; 16,298]	16,914	9,319	S7_3389040	S7_11032266	S7_6748257	3
		2020	7	PIEL.H_20**	5,741	[7,975; 16,298]	16,914	9,319	S7_3389040	S7_11032266	S7_6748257	3
		2021	7	PIEL.H_21**	3,888	[5,741; 16,914]	16,914	9,686	S7_2860735	S7_11032266	S7_6748257	3

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Color de pulpa visual	BS	2019	3.1	PULPA.V_19*****	1,045	[5,019; 6,004]	6,004	23,080	S3_1426279	S3_4647987	S3_6363950	3
		2020	3.1	PULPA.V_20*****	1,045	[5,019; 6,004]	6,004	22,247	S3_1426279	S3_4647987	S3_6363950	3
		2021	3.1	PULPA.V_21*****	1,045	[5,019; 6,004]	6,004	20,531	S3_1426279	S3_4647987	S3_6363950	3
		3.2	2019	PULPA.V_19*****	0,000	[0,000; 39,443]	49,669	27,822	S3_7957720	S3_18418695	S3_12583945	3
			2020	PULPA.V_20*****	0,000	[0,000; 39,443]	49,669	33,134	S3_7957720	S3_18418695	S3_12583945	3
			2021	PULPA.V_21*****	0,000	[0,000; 39,443]	49,669	33,020	S3_7957720	S3_18418695	S3_12583945	3
		3.3	2019	PULPA.V_19****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	14,493	S3_22540873	S3_27994070	S3_22540873	3
			2020	PULPA.V_20*****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	18,747	S3_22540873	S3_27994070	S3_22540873	3
			2021	PULPA.V_21*****	0,000	[0,000; 3,031]	8,983	17,833	S3_22540873	S3_27994070	S3_22540873	3
Ángulo Hue de color de pulpa	RB	2019	1.3	PULPA.H_19*	31,137	[31,137; 34,103]	35,088	7,451	S1_49648733	S1_54272240	S1_52193499	2
		2021	1.3	PULPA.H_21*	34,103	[34,103; 35,088]	35,088	6,862	S1_52276485	S1_53718830	S1_52276485	2
		2019	5.3	PULPA.H_19**	3,640	[6,754; 7,014]	12,007	8,763	S5_13457055	S5_17695880	S5_16386184	2
		2020	5.3	PULPA.H_20*	7,014	[7,014; 7,014]	7,014	6,720	S5_16386184	S5_16386184	S5_16386184	2
		2020	5.3	PULPA.H_20*	9,978	[9,978; 9,978]	9,978	6,872	S5_17519167	S5_17519167	S5_17519167	1
	BS	2019	3.1	PULPA.H_19*****	1,045	[5,472; 6,004]	6,004	15,172	S3_1426279	S3_4647987	S3_6363950	3
		2020	3.1	PULPA.H_20*****	1,045	[3,021; 6,004]	6,004	16,259	S3_1426279	S3_4647987	S3_6363950	3
		2021	3.1	PULPA.H_21*****	1,045	[5,472; 6,004]	6,004	15,103	S3_1426279	S3_4647987	S3_6363950	3
		2019	3.2	PULPA.H_19*****	0,000	[0,000; 39,443]	49,669	29,612	S3_7957720	S3_18418695	S3_12583945	3
		2020	3.2	PULPA.H_20*****	0,000	[0,000; 39,443]	49,669	25,655	S3_7957720	S3_18418695	S3_12583945	3
		2021	3.2	PULPA.H_21*****	0,000	[0,000; 39,443]	49,669	23,936	S3_7957720	S3_18418695	S3_12583945	3
		2019	3.3	PULPA.H_19**	0,000	[0,000; 3,031]	4,021	10,657	S3_22540873	S3_25100689	S3_22540873	3
2020	3.3	PULPA.H_20**	0,000	[0,000; 3,031]	5,011	12,835	S3_22540873	S3_25561771	S3_22540873	3		
2021	3.3	PULPA.H_21**	0,000	[0,000; 3,031]	4,021	9,751	S3_22540873	S3_25100689	S3_22540873	3		

Tabla S5. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Parámetro C de color de pulpa	RB	2019	3	PULPA.C 19**	0,025	[6,639; 14,308]	15,897	8,781	S3_5115687	S3_12658263	S3_9140750	3
		2019	3	PULPA.C_19**	27,498	[30,441; 60,962]	60,962	10,467	S3_15551317	S3_22744305	S3_25866323	3
		2020	3	PULPA.C 20****	0,000	[6,639; 12,669]	60,967	13,338	S3_4391125	S3_23039032	S3_9140750	3
		2021	3	PULPA.C_21****	0,000	[6,639; 7,394]	14,308	12,779	S3_4391125	S3_12468085	S3_9061606	3
		2021	3	PULPA.C 21**	45,221	[54,942; 55,113]	60,962	8,244	S3_26272370	S3_22744305	S3_27540274	3
		2019	5.3	PULPA.C_19**	0,000	[0,000; 7,014]	15,172	9,190	S5_12383552	S5_19412843	S5_16406457	2
		2020	5.3	PULPA.C 20**	0,000	[0,000; 7,014]	15,172	9,832	S5_12383552	S5_19412843	S5_16683714	2
		2021	8.2	PULPA.C 21*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,455	S8_9560003	S8_10878310	S8_9560003	1
		2019	1.2	PULPA.C 19**	0,000	[0,000; 5,426]	20,363	7,960	S1_25517118	S1_25811097	S1_25805619	1
	2020	1.2	PULPA.C 19*	51,072	[51,072; 51,121]	51,121	7,185	S1_34030611	S1_33092949	S1_34030611	1	
	2021	3.1	PULPA.C 21*	6,004	[6,004; 6,004]	6,004	7,097	S3_6363950	S3_6363950	S3_6363950	1	
	2019	3.2	PULPA.C_19*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,800	S3_7957720	S3_7957720	S3_7957720	3	
	2020	3.2	PULPA.C_20**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,085	S3_7957720	S3_7957720	S3_7957720	3	
	2021	3.2	PULPA.C 21**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	9,415	S3_7957720	S3_7957720	S3_7957720	3	
	2019	3.2	PULPA.C_19*	48,231	[48,231; 49,669]	49,669	7,557	S3_18323925	S3_18418695	S3_18323925	3	
	2020	3.2	PULPA.C_20*	48,231	[48,231; 48,689]	48,689	7,017	S3_18323925	S3_18072550	S3_18072550	3	
	2021	3.2	PULPA.C 21**	48,231	[48,231; 76,159]	76,159	8,142	S3_18323925	S3_20262923	S3_20085541	3	
	Parámetro L de color de pulpa	RB	2019	4.2	PIEL.L 19**	3,543	[6,999; 7,073]	8,273	8,336	S4_25017134	S4_25579524	S4_25078602
BS		2019	3.1	PULPA.L 19*****	1,045	[3,08; 6,004]	6,004	23,829	S3_1426279	S3_4647987	S3_6352245	3
		2020	3.1	PULPA.L 20*****	1,045	[3,021; 6,004]	6,004	23,485	S3_1426279	S3_4647987	S3_6352245	3
		2021	3.1	PULPA.L 21*****	1,045	[5,019; 6,004]	6,004	21,173	S3_1426279	S3_4647987	S3_6352245	3
		2019	3.2	PULPA.L 19*****	0,000	[1,035; 3,816]	10,712	12,992	S3_7957720	S3_9002512	S3_8436608	3
		2020	3.2	PULPA.L 20*****	0,000	[1,035; 4,826]	10,712	12,536	S3_7957720	S3_9002512	S3_8436608	3
		2021	3.2	PULPA.L 21****	0,005	[3,816; 4,826]	10,712	12,226	S3_7957720	S3_9002512	S3_8436608	3
		2019	3.2	PULPA.L 19*****	13,620	[17,271; 39,443]	48,689	17,059	S3_9936586	S3_18072550	S3_12583945	3
		2020	3.2	PULPA.L 20*****	12,939	[17,873; 39,443]	48,689	17,603	S3_9932957	S3_18072550	S3_17871224	3
		2021	3.2	PULPA.L 21*****	13,620	[17,873; 39,443]	48,689	17,251	S3_9936586	S3_18072550	S3_12583945	3
2019		5	PULPA.L 19**	62,875	[62,875; 65,958]	65,958	7,957	S5_17333608	S5_17350243	S5_17333608	3	
2020		5	PULPA.L 20*	62,875	[62,875; 62,875]	62,875	7,331	S5_17333608	S5_17333608	S5_17333608	3	
2021	5	PULPA.L 21*	62,875	[62,875; 62,875]	62,875	7,108	S5_17333608	S5_17333608	S5_17333608	3		

Tabla S6. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Peso del fruto	RB	2019	1	PF_19*	1,960	[1,960; 1,960]	1,960	6,942	S1_786488	S1_786488	S1_786488	2
		2021	1	PF_21*	1,960	[1,960; 1,960]	1,960	7,868	S1_786488	S1_786488	S1_786488	2
		2019	4	PF_19**	21,008	[21,008; 21,208]	21,208	7,927	S4_19494943	S4_20448466	S4_19494943	3
		2020	4	PF_20*	21,008	[21,008; 21,008]	21,008	6,738	S4_19494943	S4_19494943	S4_19494943	3
		2021	4	PF_21**	21,008	[21,008; 21,208]	21,208	8,230	S4_19494943	S4_20448466	S4_19494943	3
		2019	8	PF_19*	16,507	[16,507; 16,828]	16,833	7,526	S8_13949655	S8_15130610	S8_14238458	3
		2020	8	PF_20**	9,833	[16,828; 16,828]	16,833	8,428	S8_11250200	S8_15130610	S8_14238458	3
		2021	8	PF_21*	16,828	[16,828; 16,828]	16,828	6,863	S8_14238458	S8_14238458	S8_14238458	3
	SRP	2019	1.1	PF_19**	25,547	[25,547; 25,547]	25,547	10,559	S1_6074605	S1_6074605	S1_6074605	3
		2020	1.1	PF_20**	25,547	[25,547; 25,547]	25,547	9,398	S1_6074605	S1_6074605	S1_6074605	3
		2021	1.1	PF_21**	25,547	[25,547; 25,547]	25,547	10,716	S1_6074605	S1_6074605	S1_6074605	3
		2019	1.1	PF_19**	39,841	[44,381; 47,253]	47,253	9,943	S1_6782554	S1_7497699	S1_7497699	3
		2020	1.1	PF_20**	44,381	[44,381; 47,253]	47,253	8,722	S1_7429502	S1_7497699	S1_7497699	3
		2021	1.1	PF_21**	39,841	[44,381; 47,253]	47,253	10,233	S1_6782554	S1_7497699	S1_7497699	3
		2019	2.3	PF_19*	4,890	[4,890; 4,890]	4,890	7,470	S2_35838884	S2_35838884	S2_35838884	3
		2020	2.3	PF_20*	4,890	[4,890; 4,890]	4,890	7,615	S2_35838884	S2_35838884	S2_35838884	3
	2021	2.3	PF_21*	4,890	[4,890; 4,890]	4,890	7,243	S2_35838884	S2_35838884	S2_35838884	3	
	SRP	2019	3	PF_19**	108,472	[118,303; 121,205]	136,659	8,759	S3_14357206	S3_23070360	S3_20566875	3
		2020	3	PF_20**	118,303	[136,654; 136,659]	136,664	9,344	S3_20085527	S3_23414181	S3_23414099	3
		2021	3	PF_21**	108,472	[121,205; 121,205]	136,659	8,891	S3_14357206	S3_23070360	S3_20566875	3
		2019	3	PF_19**	155,226	[155,226; 155,275]	155,275	8,945	S3_29173778	S3_29317498	S3_29317498	3
		2020	3	PF_20**	155,226	[155,226; 155,275]	155,275	9,035	S3_29173778	S3_29317498	S3_29317498	3
		2021	3	PF_21**	155,226	[155,226; 155,275]	155,275	9,187	S3_29173778	S3_29317498	S3_29317498	3
		2019	4	PF_19***	20,738	[20,738; 20,738]	20,738	11,824	S4_21612756	S4_21612756	S4_21612756	3
		2020	4	PF_20***	20,738	[20,738; 20,738]	20,738	11,941	S4_21612756	S4_21612756	S4_21612756	3
		2021	4	PF_21****	20,738	[20,738; 20,738]	20,738	12,469	S4_21612756	S4_21612756	S4_21612756	3
		2019	8	PF_19**	37,248	[37,248; 37,248]	37,248	8,018	S8_14816018	S8_14816018	S8_14816018	3
		2020	8	PF_20*	26,048	[26,048; 37,248]	37,248	7,781	S8_13998833	S8_14816018	S8_14816018	3
2021		8	PF_21**	37,248	[37,248; 37,248]	37,248	7,712	S8_14816018	S8_14816018	S8_14816018	3	

Tabla S6. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beau' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Diámetro ecuatorial	RB	2019	1	Ø EC_19*	29,176	[29,176; 29,176]	29,176	7,074	S1_15483905	S1_15483905	S1_15483905	1
		2019	1	Ø EC_19*	43,736	[43,736; 43,785]	43,785	6,911	S1_28542314	S1_29278591	S1_28542314	1
		2021	1	Ø EC_20*	1,960	[1,960; 1,960]	1,960	6,670	S1_786488	S1_786488	S1_786488	1
		2019	5.2	Ø EC_19**	2,122	[2,570; 2,570]	4,343	8,842	S5_17915016	S5_19420833	S5_18625508	2
		2020	5.2	Ø EC_20*	2,570	[2,570; 2,570]	2,570	8,126	S5_18625508	S5_18625508	S5_18625508	2
		2019	8	Ø EC_19**	9,833	[9,833; 16,828]	16,833	8,764	S8_11250200	S8_15130610	S8_13540044	3
		2020	8	Ø EC_20**	5,892	[9,833; 16,828]	16,833	10,485	S8_7195459	S8_15130610	S8_13540044	3
		2021	8	Ø EC_21**	9,833	[14,867; 14,867]	16,828	8,398	S8_11250200	S8_14238458	S8_13540044	3
		2019	1.1	Ø EC_19***	25,547	[25,547; 47,253]	47,253	11,898	S1_6074605	S1_7497699	S1_6074605	3
	2020	1.1	Ø EC_20***	25,547	[44,381; 47,253]	47,253	10,902	S1_6074605	S1_7497699	S1_6074605	3	
	2021	1.1	Ø EC_21**	25,547	[44,381; 47,253]	47,253	10,554	S1_6074605	S1_7497699	S1_6074605	3	
	2019	2.3	Ø EC_19*	4,890	[4,890; 4,890]	4,890	7,081	S2_35838884	S2_35838884	S2_35838884	3	
	2020	2.3	Ø EC_20*	4,890	[4,890; 4,890]	4,890	7,398	S2_35838884	S2_35838884	S2_35838884	3	
	2021	2.3	Ø EC_21*	4,890	[4,890; 4,890]	4,890	6,681	S2_35838884	S2_35838884	S2_35838884	3	
	2019	3	Ø EC_19*	121,205	[121,205; 121,205]	121,205	6,807	S3_20566875	S3_20566875	S3_20566875	3	
	2020	3	Ø EC_20**	108,472	[125,615; 136,659]	140,751	10,357	S3_14357206	S3_25395517	S3_23414099	3	
	2021	3	Ø EC_21*	118,303	[118,303; 121,205]	136,659	7,552	S3_20085527	S3_23070360	S3_20566875	3	
	2020	3	Ø EC_20**	155,226	[155,226; 155,275]	155,275	7,602	S3_29173778	S3_29317498	S3_29317498	1	
Diámetro polar	RB	2019	4	Ø POL_19****	21,008	[21,008; 21,208]	24,529	14,509	S4_19494943	S4_22300527	S4_19494943	3
		2020	4	Ø POL_20***	21,008	[21,008; 21,208]	23,431	10,930	S4_19494943	S4_21169779	S4_19494943	3
		2021	4	Ø POL_21****	21,008	[21,008; 21,208]	24,529	13,519	S4_19494943	S4_22300527	S4_19494943	3
	2019	5.2	Ø POL_19*	2,570	[2,570; 2,570]	2,570	7,090	S5_18625508	S5_18625508	S5_18625508	3	
	2020	5.2	Ø POL_20***	2,122	[2,122; 2,570]	5,106	8,187	S5_17915016	S5_19434479	S5_18625508	3	
	2021	5.2	Ø POL_21****	2,570	[2,570; 2,570]	2,570	7,175	S5_18625508	S5_18625508	S5_18625508	3	
	2020	8	Ø POL_20**	9,833	[9,833; 16,507]	16,833	7,986	S8_11250200	S8_15130610	S8_11250200	1	
	2019	5	Ø POL_19**	21,666	[21,666; 23,837]	23,837	7,905	S5_2263141	S5_2695965	S5_2633450	2	
	2020	5	Ø POL_20*	23,642	[23,642; 23,642]	23,642	6,912	S5_2633450	S5_2633450	S5_2633450	2	

Tabla S6. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beau' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Diámetro sutural	SRP	2019	1.1	Ø SUT_19**	25,547	[25,547; 25,547]	25,547	8,014	S1_6074605	S1_6074605	S1_6074605	3
		2020	1.1	Ø SUT_20*	25,547	[25,547; 25,547]	25,547	7,558	S1_6074605	S1_6074605	S1_6074605	3
		2021	1.1	Ø SUT_21**	25,547	[25,547; 25,547]	25,547	10,400	S1_6074605	S1_6074605	S1_6074605	3
		2019	1.1	Ø SUT_19*	47,253	[47,253; 47,253]	47,253	7,062	S1_7497699	S1_7497699	S1_7497699	2
		2020	1.1	Ø SUT_20*	47,253	[47,253; 47,253]	47,253	6,685	S1_7497699	S1_7497699	S1_7497699	2
		2021	2.1	Ø SUT_21*	0,000	[0,000; 0,005]	0,005	7,015	S2_5432929	S2_6773034	S2_6773034	1
		2021	2.1	Ø SUT_21*	11,404	[11,404; 11,404]	11,404	6,721	S2_7981248	S2_7981248	S2_7981248	1
		2019	3	Ø SUT_19***	121,205	[136,654; 140,751]	144,845	11,301	S3_20566875	S3_25561771	S3_23414099	3
		2020	3	Ø SUT_20**	121,205	[136,654; 136,664]	140,751	10,717	S3_20566875	S3_25395517	S3_23414099	3
	2021	3	Ø SUT_21**	121,205	[136,654; 136,664]	140,751	10,382	S3_20566875	S3_25395517	S3_23414099	3	
	2019	3	Ø SUT_19*	155,275	[155,275; 155,275]	155,275	7,219	S3_29317498	S3_29317498	S3_29317498	2	
	2021	3	Ø SUT_21**	155,226	[155,226; 155,275]	155,275	8,274	S3_29173778	S3_29317498	S3_29317498	2	
	2019	4	Ø SUT_19**	20,738	[20,738; 20,738]	20,738	9,794	S4_21612756	S4_21612756	S4_21612756	3	
	2020	4	Ø SUT_20**	20,738	[20,738; 20,738]	20,738	10,612	S4_21612756	S4_21612756	S4_21612756	3	
	2021	4	Ø SUT_21**	20,738	[20,738; 20,738]	20,738	9,056	S4_21612756	S4_21612756	S4_21612756	3	
	2019	5	Ø SUT_19*	60,680	[60,680; 63,208]	63,208	6,892	S5_16836000	S5_17519170	S5_16836000	3	
	2020	5	Ø SUT_20*	60,680	[60,680; 62,023]	63,208	7,089	S5_16836000	S5_17519170	S5_16836000	3	
	2021	5	Ø SUT_21*	60,680	[60,680; 62,023]	63,208	7,218	S5_16836000	S5_17519170	S5_16836000	3	
Forma	RB	2019	3	FORMA_19**	11,525	[20,217; 26,022]	40,660	9,289	S3_5634327	S3_8168182	S3_6234082	3
		2020	3	FORMA_20**	11,525	[20,217; 26,022]	40,660	9,289	S3_5634327	S3_8168182	S3_6234082	3
		2021	3	FORMA_21**	11,525	[20,217; 26,022]	40,660	9,289	S3_5634327	S3_8168182	S3_6234082	3
	SRP	2019	4	FORMA_19**	21,008	[21,008; 23,431]	23,431	8,348	S4_19494943	S4_21169779	S4_19494943	3
		2020	4	FORMA_20**	21,008	[21,008; 23,431]	23,431	8,348	S4_19494943	S4_21169779	S4_19494943	3
		2021	4	FORMA_21**	21,008	[21,008; 23,431]	23,431	8,348	S4_19494943	S4_21169779	S4_19494943	3
		2019	3	FORMA_19***	42,424	[57,670; 119,189]	121,205	10,879	S3_20566875	S3_9263549	S3_10907210	3
		2020	3	FORMA_20***	42,424	[57,670; 119,189]	121,205	10,879	S3_20566875	S3_9263549	S3_10907210	3
		2021	3	FORMA_21***	42,424	[57,670; 119,189]	121,205	10,879	S3_20566875	S3_9263549	S3_10907210	3
Lenticelas	SRP	2019	5	LENT_19**	35,472	[37,544; 37,544]	49,195	8,042	S5_4792060	S5_12479883	S5_6201044	3
		2020	5	LENT_20**	35,472	[37,544; 37,544]	49,195	8,042	S5_4792060	S5_12479883	S5_6201044	3
		2021	5	LENT_21**	35,472	[37,544; 37,544]	49,195	8,042	S5_4792060	S5_12479883	S5_6201044	3
		2019	7	LENT_19*	48,893	[48,893; 48,893]	48,893	6,729	S7_21107578	S7_21107578	S7_21107578	3
		2020	7	LENT_20*	48,893	[48,893; 48,893]	48,893	6,729	S7_21107578	S7_21107578	S7_21107578	3
		2021	7	LENT_21*	48,893	[48,893; 48,893]	48,893	6,729	S7_21107578	S7_21107578	S7_21107578	3

Tabla S6. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beau' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Profundidad de sutura	SRP	2019	5	PROF.SUT 19*	101,484	[101,484; 101,83]	101,830	7,508	S5 20226909	S5 20302627	S5 20226909	3
		2020	5	PROF.SUT 20*	101,484	[101,484; 101,83]	101,830	7,508	S5 20226909	S5 20302627	S5 20226909	3
		2021	5	PROF.SUT 21*	101,484	[101,484; 101,83]	101,830	7,508	S5 20226909	S5 20302627	S5 20226909	3
Adhesión del hueso a la pulpa	RB	2019	4	AD 19****	21,008	[21,008; 23,431]	55,886	13,467	S4 19494943	S4 25091838	S4 21169779	3
		2020	4	AD 20**	21,008	[21,008; 23,431]	31,410	10,749	S4 19494943	S4 23047991	S4 21169779	3
		2021	4	AD 21****	21,008	[21,008; 23,431]	55,886	13,161	S4 19494943	S4 25091838	S4 21169779	3
	2019	6.2	AD 19*	3,199	[3,199; 3,296]	6,908	7,114	S6 29068422	S6 32034879	S6 29068422	1	
	SRP	2019	5	AD 19*	51,341	[51,341; 52,695]	52,695	7,746	S5 13901424	S5 14601493	S5 14601493	3
		2020	5	AD 20*	51,341	[51,341; 52,695]	52,695	7,711	S5 13901424	S5 14601493	S5 14601493	3
2021		5	AD 21*	52,695	[52,695; 54,438]	54,438	6,714	S5 14601493	S5 15233502	S5 14601493	3	
2020	2.2	AD 20**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,068	S2 16223037	S2 16320229	S2 16223037	1		
Hueso roto	RB	2019	1	H.ROTO 19*	0,034	[0,034; 0,034]	0,034	6,699	S1 5123855	S1 5123855	S1 5123855	2
		2020	1	H.ROTO 20*****	0,000	[0,000; 1,960]	5,969	13,124	S1 5560878	S1 6463505	S1 786488	2
Firmeza	RB	2019	2.1	FIRM 19**	14,862	[18,984; 19,604]	19,604	8,667	S2 2127798	S2 1349597	S2 1950344	3
		2020	2.1	FIRM 20**	14,862	[18,984; 19,604]	19,604	8,662	S2 2127798	S2 1349597	S2 1950344	3
		2021	2.1	FIRM 21*	18,984	[18,984; 19,604]	19,604	7,094	S2 2004538	S2 1950344	S2 1950344	3
	2019	2.1	FIRM 19**	34,152	[34,152; 40,155]	40,155	10,079	S2 21188156	S2 18980972	S2 20446707	3	
	2020	2.1	FIRM 20**	34,152	[34,152; 40,155]	40,155	10,343	S2 21188156	S2 18980972	S2 20446707	3	
	2021	2.1	FIRM 21**	34,152	[34,152; 40,155]	40,155	9,896	S2 21188156	S2 18980972	S2 20446707	3	
	2019	4	FIRM 19****	8,123	[21,008; 23,431]	31,410	14,658	S4 18460997	S4 23047991	S4 19494943	3	
	2020	4	FIRM 20****	8,123	[21,008; 23,431]	31,410	14,647	S4 18460997	S4 23047991	S4 19494943	3	
2021	4	FIRM 21****	21,008	[21,008; 23,431]	24,529	12,065	S4 19494943	S4 22300527	S4 19494943	3		
Color de fondo visual	RB	2019	3	FONDO.V 19**	95,714	[95,714; 114,906]	115,688	9,472	S3 19781712	S3 24859132	S3 23326062	3
		2020	3	FONDO.V 20**	95,714	[95,714; 114,906]	115,688	9,472	S3 19781712	S3 24859132	S3 23326062	3
		2021	3	FONDO.V 21**	95,714	[95,714; 114,906]	115,688	10,276	S3 19781712	S3 24859132	S3 23326062	3
	2019	5.2	FONDO.V 19*	2,570	[2,570; 2,570]	2,570	6,767	S5 18625508	S5 18625508	S5 18625508	3	
	2020	5.2	FONDO.V 20*	2,570	[2,570; 2,570]	2,570	6,767	S5 18625508	S5 18625508	S5 18625508	3	
2021	5.2	FONDO.V 21*	2,570	[2,570; 2,570]	2,570	6,988	S5 18625508	S5 18625508	S5 18625508	3		
Color de piel visual	RB	2019	1	PIEL.V 19***	0,000	[0,901; 1,960]	11,713	11,531	S1 4200907	S1 7228016	S1 1369077	3
		2020	1	PIEL.V 20***	0,000	[0,000; 6,712]	11,713	11,531	S1 5560878	S1 7228016	S1 1369077	3
		2021	1	PIEL.V 21***	0,000	[0,000; 5,969]	11,713	11,531	S1 5560878	S1 7228016	S1 1369077	3
	2019	3	PIEL.V 19****	0,000	[40,660; 78,965]	91,782	13,815	S3 1006631	S3 15686327	S3 9140750	3	
	2020	3	PIEL.V 20****	0,000	[40,660; 78,965]	91,782	13,815	S3 1006631	S3 15686327	S3 9140750	3	
2021	3	PIEL.V 21****	0,000	[40,660; 78,965]	91,782	13,815	S3 1006631	S3 15686327	S3 9140750	3		

Tabla S6. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Ángulo Hue de color de piel	RB	2019	1	PIEL.H_19****	0,000	[0,000; 1,960]	12,201	13,805	S1_5560878	S1_8262954	S1_1369077	3
		2020	1	PIEL.H_20****	0,000	[0,000; 1,960]	12,201	15,060	S1_5560878	S1_8262954	S1_1369077	3
		2021	1	PIEL.H_21****	0,000	[0,000; 1,960]	43,785	16,899	S1_5560878	S1_29278591	S1_1369077	3
	SRP	2019	1	PIEL.H_19*	42,716	[42,716; 42,716]	42,716	6,690	S1_27217177	S1_27217177	S1_27217177	3
		2020	1	PIEL.H_20*	42,716	[42,716; 42,716]	42,716	6,690	S1_27217177	S1_27217177	S1_27217177	3
		2019	3	PIEL.H_19*****	0,000	[20,217; 68,63]	91,631	17,772	S3_1006631	S3_15654491	S3_9891358	3
		2020	3	PIEL.H_20*****	0,000	[20,217; 78,965]	96,560	18,373	S3_1006631	S3_19847092	S3_9891358	3
		2021	3	PIEL.H_21*****	0,000	[30,280; 78,965]	125,931	19,819	S3_1006631	S3_25871832	S3_11503414	3
		2020	5	PIEL.C_20*	33,482	[33,482; 35,472]	35,472	7,280	S5_4335907	S5_4792060	S5_4335907	1
Parámetro L de color de piel	RB	2019	1	PIEL.L_19*	1,960	[1,960; 1,960]	1,960	7,092	S1_1369077	S1_1369077	S1_1369077	3
		2020	1	PIEL.L_20**	0,000	[0,901; 1,960]	1,960	7,994	S1_4200907	S1_795258	S1_1369077	3
		2021	1	PIEL.L_21**	0,000	[0,000; 1,960]	4,961	10,000	S1_4200907	S1_6072341	S1_1369077	3
	SRP	2019	3	PIEL.L_19*****	0,010	[68,509; 78,965]	111,576	18,614	S3_998939	S3_22339720	S3_11503414	3
		2020	3	PIEL.L_20*****	0,010	[64,123; 78,965]	114,906	19,084	S3_998939	S3_23454711	S3_11503414	3
		2021	3	PIEL.L_21*****	0,010	[64,123; 78,965]	96,560	19,338	S3_998939	S3_19847092	S3_11503414	3
		2019	3	PULPA.V_19****	6,816	[22,736; 22,746]	22,746	13,799	S3_1838687	S3_4407585	S3_4217466	3
Color de pulpa visual	SRP	2020	3	PULPA.V_20****	6,816	[22,736; 22,746]	22,746	13,799	S3_1838687	S3_4407585	S3_4217466	3
		2021	3	PULPA.V_21****	6,816	[22,736; 22,746]	22,746	13,799	S3_1838687	S3_4407585	S3_4217466	3
		2019	3	PULPA.V_19*	67,567	[67,567; 67,567]	67,567	7,619	S3_10456692	S3_10456692	S3_10456692	3
	RB	2020	3	PULPA.V_20*	67,567	[67,567; 67,567]	67,567	7,619	S3_10456692	S3_10456692	S3_10456692	3
		2021	3	PULPA.V_21*	67,567	[67,567; 67,567]	67,567	7,619	S3_10456692	S3_10456692	S3_10456692	3
		2019	3	PULPA.V_19**	94,690	[94,690; 96,640]	96,640	8,385	S3_12485470	S3_12400608	S3_12485470	3
		2020	3	PULPA.V_20**	94,690	[94,690; 96,640]	96,640	8,385	S3_12485470	S3_12400608	S3_12485470	3
		2021	3	PULPA.V_21**	94,690	[94,690; 96,640]	96,640	8,385	S3_12485470	S3_12400608	S3_12485470	3
		SRP	2019	3	PULPA.H_19**	0,039	[0,039; 5,732]	6,816	8,916	S3_1279431	S3_1838687	S3_1712144
2020	3		PULPA.H_20****	0,000	[0,000; 5,732]	22,746	13,535	S3_1239711	S3_4407585	S3_1342081	3	
2021	3		PULPA.H_21**	0,039	[0,044; 5,732]	6,816	8,408	S3_1279431	S3_1838687	S3_1704746	3	

Tabla S6. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres físicos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) × 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. GL: grupo de ligamiento; K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	GL	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Parámetro C de color de pulpa	SRP	2019	5	PULPA.C_19*	33,482	[33,482; 33,482]	33,482	6,990	S5_4335907	S5_4335907	S5_4335907	3
		2020	5	PULPA.C_20*	33,482	[33,482; 33,482]	33,482	6,871	S5_4335907	S5_4335907	S5_4335907	3
		2021	5	PULPA.C_21**	33,433	[33,482; 33,482]	33,487	8,450	S5_4118468	S5_4119986	S5_4335907	3
Parámetro L de color de pulpa	RB	2020	4	PULPA.L_20**	37,456	[37,543; 38,842]	38,842	8,516	S4_23368247	S4_23422622	S4_23381682	2
		2021	4	PULPA.L_21*	21,208	[21,208; 21,208]	21,208	6,745	S4_20448466	S4_20448466	S4_20448466	2
		2020	6.1	PULPA.L_20**	0,015	[0,015; 1,348]	1,348	8,269	S6_2530530	S6_2642274	S6_2530530	1
	SRP	2019	2.1	PULPA.L_19*	0,000	[0,000; 0,005]	0,005	7,845	S2_5432929	S2_6773034	S2_5432929	1
		2019	5	PULPA.L_19*	51,341	[51,341; 52,695]	52,695	6,909	S5_13901424	S5_14601493	S5_13901424	2
		2021	5	PULPA.L_21**	49,219	[51,341; 53,602]	54,438	9,805	S5_12484144	S5_15233502	S5_13901424	2
2019	5	PULPA.L_19*	96,620	[96,620; 96,970]	96,970	7,044	S5_18937962	S5_18969919	S5_18937962	2		
2021	5	PULPA.L_21**	69,806	[86,573; 96,970]	101,596	8,267	S5_17977438	S5_19370941	S5_18937962	2		

Tabla S7. Descripción de los QTLs de caracteres organolépticos identificados para cada parental de la población 'Black Splendor' (BS) × 'Pioneer' (PIO) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	LG	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C	
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.		
Contenido en sólidos solubles	BS	2019	2	SS_19*	168,527	[168,527; 168,527]	168,527	6,716	S2_3083392	S2_3083392	S2_3083392	1	
		2020	7.1	SS_20*	7,035	[7,035; 7,412]	7,412	7,221	S7_15888226	S7_15955743	S7_15888226	1	
	PIO	2021	1.1	SS_21*	35,504	[38,410; 38,410]	38,410	7,965	S1_38728814	S1_39002565	S1_39604915	1	
		2019	2	SS_19**	37,859	[53,407; 54,507]	59,331	8,850	S2_21795084	S2_25068816	S2_22319564	3	
		2020	2	SS_20**	37,859	[50,524; 59,331]	80,826	9,003	S2_21795084	S2_30522374	S2_25068816	3	
		2021	2	SS_21*	78,731	[78,731; 80,826]	80,826	7,806	S2_29425988	S2_30522374	S2_30195768	3	
		2020	2	SS_20**	85,661	[88,785; 92,112]	93,399	8,825	S2_32843780	S2_33849481	S2_33258916	2	
		2021	2	SS_21**	86,224	[88,785; 92,216]	93,399	9,024	S2_33011492	S2_33849481	S2_33499908	2	
	Acidez	BS	2019	1	A_19**	17,264	[26,718; 26,718]	26,718	9,415	S1_20363920	S1_20079056	S1_20079056	3
			2020	1	A_20**	17,264	[26,718; 26,718]	26,718	8,645	S1_20363920	S1_20079056	S1_20079056	3
2021			1	A_21**	17,264	[26,718; 26,718]	26,718	9,281	S1_20363920	S1_20079056	S1_20079056	3	
PIO		2019	1	A_19**	49,819	[51,863; 51,863]	54,532	9,874	S1_28002051	S1_28886041	S1_28654206	3	
		2020	1	A_20**	51,863	[51,863; 51,863]	51,863	8,857	S1_28654206	S1_28654206	S1_28654206	3	
		2021	1	A_21**	49,819	[51,863; 51,863]	54,532	9,472	S1_28002051	S1_28886041	S1_28654206	3	
		2019	1	A_19**	63,739	[85,219; 87,675]	87,675	8,799	S1_30921128	S1_32563574	S1_32051853	3	
		2020	1	A_20**	76,059	[85,219; 87,675]	87,675	8,110	S1_32051853	S1_32563574	S1_32051853	3	
		2021	1	A_21**	63,739	[85,219; 87,675]	87,675	8,667	S1_30921128	S1_32563574	S1_32051853	3	
PIO		2019	8.1	A_19**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,900	S8_711642	S8_711642	S8_711642	3	
		2020	8.1	A_20**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,900	S8_711642	S8_711642	S8_711642	3	
		2021	8.1	A_21**	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	8,900	S8_711642	S8_711642	S8_711642	3	
		2020	8.3	A_20**	25,105	[25,105; 26,251]	26,251	7,005	S8_26063410	S8_26306788	S8_26063410	2	
		2021	8.3	A_21**	25,105	[25,105; 26,251]	26,251	6,940	S8_26063410	S8_26306788	S8_26063410	2	
pH		BS	2019	1	pH_19**	76,059	[76,059; 76,059]	77,650	9,752	S1_32051853	S1_32128852	S1_32051853	3
	2020		1	pH_20**	76,059	[76,059; 76,059]	85,219	9,752	S1_32051853	S1_32366489	S1_32051853	3	
	2021		1	pH_21**	76,059	[76,059; 76,059]	76,059	9,219	S1_32051853	S1_32051853	S1_32051853	3	
	PIO	2019	1	pH_19*	51,863	[51,863; 51,863]	51,863	6,794	S1_28654206	S1_28654206	S1_28654206	2	
		2020	1	pH_20*	51,863	[51,863; 51,863]	51,863	6,794	S1_28654206	S1_28654206	S1_28654206	2	
		2019	1.1	pH_19*	30,426	[35,504; 38,41]	40,081	7,778	S1_37601969	S1_39367450	S1_39949708	3	
		2020	1.1	pH_20*	38,410	[38,41; 38,41]	38,410	6,733	S1_39949708	S1_39949708	S1_39949708	3	
		2021	1.1	pH_21*	38,410	[38,41; 38,41]	38,410	6,818	S1_39949708	S1_39949708	S1_39949708	3	
		2019	1.2	pH_19**	6,816	[11,736; 16,634]	24,362	11,790	S1_49464512	S1_54399353	S1_49558809	3	
		2020	1.2	pH_20****	6,816	[11,736; 16,634]	24,362	12,736	S1_49464512	S1_54399353	S1_49558809	3	
2021	1.2	pH_21****	11,736	[11,736; 16,634]	24,362	12,328	S1_49558809	S1_54399353	S1_49558809	3			

Tabla S8. Descripción de los QTLs de caracteres organolépticos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Black Splendor' (BS) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	LG	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
Contenido en sólidos solubles	RB	2021	3	SS_21*	36,124	[36,124; 36,124]	36,124	6,964	S3_23168751	S3_23168751	S3_23168751	1
		2021	3	SS_21**	60,962	[60,962; 60,967]	60,967	7,918	S3_22744305	S3_23039032	S3_22744305	1
		2019	5.1	SS_19*	0,000	[0,000; 0,108]	0,108	6,638	S5_3077262	S5_3675917	S5_3077262	1
		2021	7	SS_21*	100,767	[100,767; 104,529]	104,529	7,762	S7_26639101	S7_27223721	S7_26283189	1
	BS	2019	5	SS_19**	28,803	[29,591; 35,344]	38,024	7,989	S5_11852472	S5_13815745	S5_12388727	3
		2020	5	SS_20*	29,039	[29,039; 30,596]	30,596	6,977	S5_11852615	S5_12388727	S5_12388727	3
		2021	5	SS_21*	30,596	[30,596; 30,596]	30,596	6,636	S5_12388727	S5_12388727	S5_12388727	3
Acidez	RB	2019	3	A_19*****	24,347	[52,35; 54,942]	60,967	13,505	S3_15204842	S3_23039032	S3_27891968	3
		2020	3	A_20**	36,124	[52,35; 53,898]	60,967	9,309	S3_23168751	S3_23039032	S3_27891968	3
		2021	3	A_21**	36,272	[36,272; 53,898]	60,962	9,477	S3_25196304	S3_22339720	S3_25196304	3
		2020	4.2	A_20*	11,889	[11,889; 11,889]	11,889	6,670	S4_25840036	S4_25840036	S4_25840036	2
		2021	4.2	A_21*	11,889	[11,889; 11,889]	11,889	6,856	S4_25840036	S4_25840036	S4_25840036	2
	BS	2021	4.2	A_21*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	7,395	S4_23195219	S4_23195219	S4_23195219	1
		2019	2	A_19*	44,012	[44,012; 50,046]	54,305	7,314	S2_16290540	S2_19919071	S2_19919071	3
		2020	2	A_20**	43,583	[57,927; 62,37]	82,253	9,259	S2_16439240	S2_22853656	S2_19919071	3
		2021	2	A_21*	44,012	[54,286; 54,305]	80,436	7,641	S2_16290540	S2_22757367	S2_19778205	3
pH	RB	2020	5.3	pH_20*	9,693	[9,693; 9,693]	9,693	7,077	S5_17150403	S5_17150403	S5_17150403	1
	BS	2019	2	pH_19*	54,305	[54,305; 60,948]	60,948	7,553	S2_19919071	S2_20543291	S2_20247884	3
		2020	2	pH_20**	43,583	[56,282; 59,293]	62,370	8,077	S2_16439240	S2_21573941	S2_20247884	3
		2021	2	pH_21**	43,485	[51,187; 60,948]	64,942	8,983	S2_16237639	S2_21827004	S2_20247884	3
		2019	2	pH_19**	72,187	[72,187; 80,436]	83,837	10,336	S2_21900549	S2_23450340	S2_22639985	3
		2020	2	pH_20**	64,942	[72,187; 79,993]	79,993	8,092	S2_21827004	S2_22639985	S2_22256706	3
		2021	2	pH_21**	72,187	[72,187; 82,253]	97,171	10,317	S2_21900549	S2_25435341	S2_22639985	3
		2019	3.2	pH_19**	0,000	[0,000; 0,000]	1,040	8,079	S3_7957720	S3_8253111	S3_7957720	2
	2021	3.2	pH_21*	0,000	[0,000; 0,000]	0,000	6,801	S3_7957720	S3_7957720	S3_7957720	2	
	2021	3.2	pH_21*	18,609	[18,609; 35,444]	35,444	7,326	S3_12583945	S3_17510974	S3_17510974	1	

Tabla S9. Descripción de los QTLs de caracteres organolépticos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	LG	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C	
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.		
Contenido en sólidos solubles	RB	2019	5.1	SS_19****	0,000	[0,000; 0,980]	4,798	12,388	S5_1281617	S5_4405687	S5_2176885	3	
		2020	5.1	SS_20**	0,000	[0,000; 4,798]	4,798	9,537	S5_1281617	S5_4405687	S5_2176885	3	
		2021	5.1	SS_21***	0,000	[0,000; 0,980]	4,798	11,014	S5_1281617	S5_4405687	S5_2176885	3	
		2019	5.1	SS_19**	16,361	[16,361; 16,385]	16,390	8,630	S5_6229123	S5_6472623	S5_6229123	3	
		2020	5.1	SS_20*	16,361	[16,361; 16,385]	16,390	7,254	S5_6229123	S5_6472623	S5_6229123	3	
		2021	5.1	SS_21*	16,361	[16,361; 16,385]	16,390	8,153	S5_6229123	S5_6472623	S5_6229123	3	
	SRP	2019	5.1	SS_19***	47,576	[49,592; 49,924]	62,545	11,145	S5_13157563	S5_16219337	S5_15419933	3	
		2020	5.1	SS_20**	47,576	[49,592; 49,924]	62,545	9,721	S5_13157563	S5_16219337	S5_15419933	3	
		2021	5.1	SS_21**	47,576	[47,576; 56,667]	57,233	10,467	S5_13157563	S5_15694309	S5_15419933	3	
		2019	5	SS_19**	21,666	[21,773; 21,773]	23,642	8,550	S5_2478349	S5_2633450	S5_2478624	3	
		2020	5	SS_20*	21,666	[21,773; 23,642]	23,642	7,789	S5_2478349	S5_2633450	S5_2478624	3	
		2021	5	SS_21*	21,773	[21,773; 21,773]	21,773	6,993	S5_2478624	S5_2478624	S5_2478624	3	
Acidez	RB	2019	1	A_19**	42,395	[50,737; 50,742]	53,286	9,150	S1_26977245	S1_32001338	S1_30018786	3	
		2020	1	A_20**	42,395	[50,737; 50,737]	53,286	8,734	S1_26977245	S1_32001338	S1_30018786	3	
		2021	1	A_21**	42,395	[50,737; 50,737]	50,742	8,262	S1_26980332	S1_31564377	S1_30018786	3	
		2019	3	A_19**	15,689	[26,022; 30,324]	40,660	7,927	S3_5888446	S3_8168182	S3_7229257	3	
		2020	3	A_20**	20,217	[20,217; 30,324]	30,324	7,522	S3_6234082	S3_7960060	S3_7229257	3	
		2021	3	A_21**	20,217	[20,217; 30,324]	30,324	7,194	S3_6234082	S3_7960060	S3_6234082	3	
		SRP	2019	1.2	A_19**	49,082	[52,419; 52,419]	75,361	9,612	S1_35595473	S1_35890683	S1_35202962	3
			2020	1.2	A_20**	52,419	[52,419; 52,419]	63,556	9,235	S1_35202962	S1_34909788	S1_35202962	3
			2021	1.2	A_21**	52,419	[52,419; 52,419]	52,419	8,364	S1_35202962	S1_35202962	S1_35202962	3
	2019		2.2	A_19*	8,252	[8,252; 8,252]	8,252	6,954	S2_19079835	S2_19079835	S2_19079835	3	
	2020		2.2	A_20*	8,252	[8,252; 8,252]	8,252	6,959	S2_19079835	S2_19079835	S2_19079835	3	
	2021		2.2	A_21*	8,252	[8,252; 8,252]	8,252	6,735	S2_19079835	S2_19079835	S2_19079835	3	
	2019		2.3	A_19**	0,000	[2,422; 7,441]	8,777	10,740	S2_36293702	S2_34268102	S2_34148615	3	
	2020		2.3	A_20**	0,000	[2,422; 6,431]	8,777	10,753	S2_36293702	S2_34268102	S2_34148615	3	
	2021		2.3	A_21**	0,000	[2,422; 6,431]	8,777	10,629	S2_36293702	S2_34268102	S2_34148615	3	

Tabla S9. Continuación. Descripción de los QTLs de caracteres organolépticos identificados para cada parental de la población 'Red Beaut' (RB) x 'Santa Rosa Precoz' (SRP) mediante Kruskal-Wallis (KW). El nivel de significancia se indica mediante asteriscos (*), donde $p < 0,01$ se representa como *; $p < 0,005$ se representa como **; $p < 0,001$ se representa como ***; $p < 0,0005$ se representa como ****; $p < 0,0001$ se representa como *****. K: valor estadístico de la prueba KW; C: consistencia del QTL en los años de estudio.

Carácter	Parental	Año	LG	QTL	Posición genética (cM)			K	Marcadores			C
					Inicio	Máxima	Final		Inicial	Final	Mayor sig.	
pH	RB	2019	3	pH_19*	30,280	[30,280; 40,660]	64,123	7,136	S3_7959328	S3_9891358	S3_7959328	1
		2019	3	pH_19*	115,620	[115,62; 115,688]	115,688	7,021	S3_24014206	S3_24859132	S3_24014206	3
		2020	3	pH_20*	115,620	[115,62; 115,688]	134,663	7,789	S3_24014206	S3_28259168	S3_24014206	3
		2021	3	pH_21*	115,620	[115,62; 115,688]	152,274	7,369	S3_24014206	S3_31238830	S3_24014206	3
	SRP	2019	1.2	pH_19*	52,419	[52,419; 52,419]	52,419	7,338	S1_35202962	S1_35202962	S1_35202962	2
		2021	1.2	pH_21**	27,566	[38,857; 52,419]	75,361	9,208	S1_33097495	S1_35890683	S1_35202962	2
		2021	2.3	pH_21*	8,777	[8,777; 8,777]	8,777	6,777	S2_34268102	S2_34268102	S2_34268102	1
		2019	3	pH_19*	155,275	[155,275; 155,275]	155,275	6,863	S3_29317498	S3_29317498	S3_29317498	2
		2021	3	pH_21*	155,226	[155,226; 155,275]	155,275	7,027	S3_29173778	S3_29317498	S3_29317498	2
		2019	5	pH_19*	49,219	[49,219; 49,219]	49,219	6,803	S5_12484144	S5_12484144	S5_12484144	2
2020	5	pH_20**	49,195	[49,195; 58,992]	58,992	7,981	S5_12479883	S5_16272239	S5_12484144	2		

