



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora  
de la Agrodiversidad Valenciana

INSTITUT DE CONSERVACIÓ I MILLORA DE L'AGRODIVERSITAT  
VALENCIANA

**Millora genètica de quatre varietats locals de  
tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals  
de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus  
del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium  
oxysporum f. sp.**

Màster Universitari en Millora Genètica Vegetal

Treball Fi de Màster

ALUMNE: BERNAT TERMES I COLL

DIRECTOR: SALVADOR SOLER ALEIXANDRE

DIRECTORA EXPERIMENTAL: MARIA FIGAS

CURS ACADÈMIC 2017 – 2018

VALÈNCIA, SETEMBRE DEL 2018

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

**Abstract**

The interest of the consumers for the local varieties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is in increasing. One of the causes of this recent appreciation lies in the organoleptic properties of this material. In regions where high-input agriculture is practiced, local varieties have suffered a process of marginalization, prompted mainly by differences in yield with respect to commercial varieties. Given the important global interest for the conservation of biodiversity, together with the appreciation for the consumer, it is necessary to study these varieties and avoid their disappearance. In the Iberian Peninsula, center of high variability of the cultivated tomato, there are numerous local varieties. The current system of intensive agriculture along with the variation of climate, and an intense globalization of world markets, has aggravated the problems caused by pests and diseases in local varieties. This type of varieties has not been selected for resistance to diseases and pests, especially those of foreign origin. In the current improvement project, the aim is to improve six local varieties, four of them from Valencia and two varieties from Catalonia, to confer resistance to the ToMV virus and *Fusarium*. As donors of the resistance genes, three parentals have been used, seeking the best complementarity of morphological properties with the recurrent parent. The improvement method that has been used has been a basic backcross without modifications during three cycles. Selection by molecular markers has been used to identify individuals carrying the resistance gene. In each generation, the plants have been phenotyped to see the similarity and difference to the phenotype of the local variety. Therefore, plants that resemble the original phenotype have been selected as backcrossing plants. The characterization of the fruit has been carried out using the Tomato Analyzer image analysis software that facilitates the process and increases the number of characters to be studied. This allows a more effective and objective selection of the best donor plants with high similarity to the idiotype of the local variety. The initial crossing and the first and second backcrosses have been made.

**Key words:** *Solanum lycopersicum*; HRM; molecular marker; ToMV; *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; traditional variety

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

**Resum**

L'interès dels consumidors per la varietats locals de tomàquet (*Solanum lycopersicum* L.) està en augment. Una de les causes d'aquesta recent apreciació, recau en les propietats organolèptiques d'aquest tipus de materials. A les regions on es practica una agricultura d'alts inputs, les varietats locals han sofert un procés de marginació, incitat principalment per les diferències de rendiment respecte a les varietats comercials. Donat l'important interès mundial per la conservació de la biodiversitat, conjuntament amb l'estima pel consumidor, cal l'estudi d'aquestes varietats i evitar la desaparició. A la península ibèrica, centre d'alta variabilitat de l'espècie conreada de tomàquet, hi ha nombroses varietats locals. L'actual sistema d'agricultura intensiva juntament amb la variació del clima, i una intensa globalització dels mercats mundials, ha agreujat els problemes ocasionats per plagues i malalties en les varietats locals. Justament aquest tipus de varietats no han estat seleccionades per la resistència a malalties i plagues, especialment les d'origen forani. En l'actual projecte de millora, es pretén abordar l'objectiu de millorar sis varietats locals, quatre d'elles de València i dues varietats de Catalunya, per conferir-resistència al virus de la ToMV i a *Fusarium*. Com portadors i donants dels gens de resistència, s'han utilitzat tres parentals, buscant la millor complementarietat de propietats morfològiques amb el parental recurrent. El mètode de millora que s'ha emprat ha estat un retrocreuament bàsic sense modificacions durant tres cicles. S'ha utilitzat la selecció per marcadors moleculars per identificar els individus portadors del gen de resistència. A cada generació, s'han fenotipat les plantes per veure la similitud i diferència al fenotip de la varietat local. Així, s'han seleccionat com plantes a retrocreuar aquelles més semblants al fenotip original. La caracterització del fruit, s'ha realitzat mitjançant el programari d'anàlisi d'imatge Tomato Analyzer que facilita el procés i incrementa el nombre de caràcters a estudiar. Això permet una selecció més eficaç i objectiva de les millors plantes donants amb alta similitud a l'idiotip de la varietat local. Actualment s'ha realitzat l'encreuament inicial i el primer i segon retrocreuament.

**Paraules clau:** *Solanum lycopersicum*; HRM; marcador molecular; ToMV; *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; varietat tradicional

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

## **Resumen**

El interés de los consumidores por la variedades locales de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) está en auge. Una de la causas de esta reciente apreciación, recae en las propiedades organolépticas de este tipo de materiales. En las regiones donde se practica una agricultura de altos inputs, las variedades locales han sufrido un proceso de marginación, incitado principalmente por las diferencias de rendimiento respecto a las variedades comerciales. Dado el importante interés mundial por la conservación de la biodiversidad, conjuntamente con el aprecio por el consumidor, es preciso el estudio de estas variedades y evitar el desaparición. En la península ibérica, centro de alta variabilidad de la especie cultivada de tomate, existen numerosas variedades locales. El actual sistema de agricultura intensiva junto con la variación del clima, y una intensa globalización de los mercados mundiales, ha agravado los problemas ocasionados por plagas y enfermedades en las variedades locales. Justamente este tipo de variedades no han sido seleccionadas por la resistencia a enfermedades y plagas, especialmente las de origen foráneo. En el actual proyecto de mejora, se pretende abordar el objetivo de mejorar seis variedades locales, cuatro de ellas de Valencia y dos variedades de Cataluña, para conferirles resistencia al virus del ToMV y a *Fusarium*. Como portadores y donantes de los genes de resistencia, se han utilizado tres parentales, buscando la mejor complementariedad de propiedades morfológicas con el parental recurrente. El método de mejora que se ha empleado ha sido un retrocruce básico sin modificaciones durante tres ciclos. Se ha utilizado la selección por marcadores moleculares para identificar los individuos portadores del gen de resistencia. En cada generación, se han fenotipado las plantas para ver la similitud y diferencia al fenotipo de la variedad local. Así, se han seleccionado como plantas a retrocruzar aquellas más parecidas al fenotipo original. La caracterización del fruto, se ha realizado mediante el software de análisis de imagen Tomato Analyzer que facilita el proceso e incrementa el número de caracteres a estudiar. Esto permite una selección más eficaz y objetiva de las mejores plantas donantes con alta similitud al idiotipo de la variedad local. Actualmente se ha realizado el cruce inicial y el primer y segundo retrocruce.

**Palabras clave:** *Solanum lycopersicum*; HRM; marcador molecular; ToMV; *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; variedad tradicional

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

**Agraïments**

Durant la realització d'aquest Treball Final de Màster, he tingut el plaer de gaudir de l'experiència del meu tutor Salvador Soler i la directora experimental Maria Figàs. A ells, els hi vull donar les gràcies per l'ajuda i consells proporcionats durant aquest període.

Aquest projecte no hauria estat possible sense totes aquelles persones que m'han donat suport en el laboratori. Especialment vull agrair la feina, la implicació, el suport i tot el que he pogut aprendre d'ells a la Cristina, l'Amparo, l'Elena Rosa, l'Elena Soler, el Leandro, l'Enrique, el Carlos, l'Arnau i el Mateu. No voldria tampoc deixar-me a ningú del COMAV.

Paral·lelament, vull agrair la cessió del material vegetal per a poder realitzar el programa de millora al Banc de Germoplasma del COMAV i a la Fundació Miquel Agustí.

Per últim, dono les gràcies a la meva família i amics que m'han animat en tot moment.

Gràcies.

## Índex

1.	Introducció .....	2
1.1.	Taxonomia i botànica de l'espècie .....	2
1.2.	Origen, domesticació i difusió del tomàquet.....	2
1.3.	Situació econòmica actual del cultiu del tomàquet.....	4
1.4.	Varietats locals .....	5
1.5.	Varietats locals de tomàquet en la mediterrània peninsular .....	6
1.6.	Punts crítics de les varietats locals .....	8
1.6.1.	Tipificació de la variabilitat .....	8
1.6.2.	Uniformitat .....	8
1.6.3.	Productivitat.....	9
1.6.4.	Sensibilitat a malalties .....	10
1.1.	Principals plagues i malalties en tomàquet i les seves resistències .....	10
1.1.1.	Virus del mosaic del tomàquet (ToMV) .....	11
1.1.2.	Fong vascular <i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> .....	11
2.	Objectius.....	12
3.	Material i mètodes .....	13
3.1.	Material Vegetal.....	13
3.2.	Desinfecció de llavor i desenvolupament del planter.....	18
3.3.	Condicions de cultiu.....	18
3.4.	Creuaments .....	19
3.4.1.	Recol·lecció de pol·len del parental masculí .....	19
3.4.2.	Emasculació i pol·linització del parental femení .....	19
3.5.	Programa de millora genètica .....	19
3.6.	Selecció assistida per marcadors .....	20
3.6.1.	Extracció de l'ADN.....	20
3.6.2.	Marcadors moleculars associats al gen de resistència Tm-2 <sup>2</sup> .....	20
3.6.3.	Marcadors moleculars associats al gen de resistència I-2 .....	21
3.7.	Caracterització agra morfològica de les distintes generacions del programa de retrocreuament.....	21
3.7.1.	Característiques qualitatives .....	22
3.7.2.	Característiques quantitatives del fruit .....	22
3.7.3.	Característiques organolèptiques .....	22
3.8.	Anàlisi estadístic .....	23
4.	Resultats i discussió .....	24

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

4.2.	Selecció de plantes mitjançant marcadors moleculars.....	25
4.3.	Anàlisi dels caràcters durant el creuament inicial i el primer Retrocreuament. 26	
4.3.1.	<i>Caràcters de tipus qualitatiu</i> .....	26
4.3.2.	<i>Caràcters de tipus quantitatiu</i> .....	34
5.	Conclusions .....	41
6.	Referències .....	42

## Índex de taules

**Taula 1** Material vegetal utilitzades per la millora com a varietats recurrents i varietats donants.

**Taula 2** Relació dels creuaments realitzats, detallat el parental donant i el parental recurrent.

**Taula 3** Caracterització dels individus inicials de cada una de les varietats.

**Taula 4** Relació per a cada una de les línies de millora, el número de plantes portadores dels gens *Tm2<sup>2</sup>* i *I2* en els creuaments inicials.

**Taula 5** Relació per a cada una de les línies de millora, el número de plantes portadores dels gens *Tm2<sup>2</sup>* i *I2* en la generació RC1.



## Índex de gràfics i figures

**Figura 1** Evolució de les produccions anuals dels països d'àmbit mundial amb majors produccions de tomàquet en tones. Font FAOSTAT

**Figura 2** Produccions de l'any 2017 de tomàquet de les comunitats autònomes d'Espanya en milions de tones. Font MAGRAMA

**Figura 3** Imatge del fruit extern de la varietat AG1

**Figura 4** Imatge del fruit extern de la varietat ONT1

**Figura 5** Imatge del fruit extern de la varietat BOC2

**Figura 6** Imatge del fruit extern de la varietat FONT1

**Figura 7** Imatge del fruit extern de la varietat MG

**Figura 8** Imatge del fruit extern de la varietat CA10

**Figura 9** Imatge del fruit extern de la varietat ARAWAK

**Figura 10** Imatge del fruit extern de la varietat EUFRATES

**Figura 11** Imatge del fruit extern de la varietat TY12

**Figura 12** Representació dels caràcters qualitius de la varietat AG1

**Figura 13** Representació dels caràcters qualitius de la varietat BOC2

**Figura 14** Representació dels caràcters qualitius de la varietat ONT1

**Figura 15** Representació dels caràcters qualitius de la varietat FONT1

**Figura 16** Representació dels caràcters qualitius de la varietat MG

**Figura 17** Representació dels caràcters qualitius de la varietat CA10

**Figura 18** Representació dels caràcters quantitius de la varietat AG1

**Figura 19** Representació dels caràcters quantitius de la varietat BOC2

**Figura 20** Representació dels caràcters quantitius de la varietat ONT1

**Figura 21** Representació dels caràcters quantitius de la varietat FONT1

**Figura 22** Representació dels caràcters quantitius de la varietat MG

**Figura 23** Representació dels caràcters quantitius de la varietat CA10

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

## **Abreviacions**

**IPGRI:** *International Plant Genetic Resources Institute*

**FAO:** *Food and Agriculture Organization*

**ADN:** Àcid desoxiribonucleic

**COMAV:** Institut de Conservació i Millora de l'Agrodiversitat Valenciana

**FMA:** Fundació Miquel Agustí

**USDA:** *United States Department of Agriculture*

**ToMV:** *Tomato Mosaic Virus*

**Fol:** *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*

**TSP:** Trifosfat de Sodi

**TA:** Tomato Analyzer

**CI:** Cicle Inicial

**RC1:** Retrocreuament 1

## 1. Introducció

### 1.1. Taxonomia i botànica de l'espècie

El tomàquet cultivat (*Solanum lycopersicum* L.) pertany a la família de les Solanàcies, gènere *Solanum* L., secció *Lycopersicon*. Aquesta família taxonòmica engloba més de 3.000 espècies distribuïdes des de Amèrica fins a l'Àsia. A banda del tomàquet, s'hi troben altres espècies d'interès econòmic, com l'albergínia (*Solanum melongena* L.), el pebrot (*Capsicum annuum* L.) i la patata (*Solanum tuberosum*).

Dins de les distintes espècies de tomàquet, hi trobem varietats de tipus anual i perenne. Al contrari d'algunes espècies de la família, *Solanum lycopersicum*, té absència de tubercles i estolons. Les tiges tenen longituds d'entre 1 a 3 m. La planta és carnosament pubescent, la pilositat pot ser unicel·lular o multicel·lular uniseriades, amb glàndules de substàncies adherents i aromàtiques.

Les fulles presenten una distribució alternada. Segueixen un patró de 7 o 9 fulles fins a la primera inflorescència, posteriorment es formen tres fulles entre inflorescències. Les fulles són de tipus irregular, de tipus pinnatocompostes fins a pinnatífida. Les dimissions foliars varien en longituds de 20 a 40 cm i 7 a 10 cm d'ample i pubescència. Les fulles, estan compostes per folíols. La construcció dels folíols primaris laterals, és en parells de 3 o 4, longitud de 2 a 4 cm i amplada d'entre 0,8 a 2,5 cm. Pel que fa als folíol terminals, normalment són més llargs que els laterals. El pedicel té una longitud d'entre 1,2 a 6 cm.

La inflorescència està formada per múltiples flors en ramells, pot arribar a una longitud de fins a 10 cm i rarament ramificades. El peduncle és d'entre 1,5 a 5 cm. Les flors són actinomorfs i el pedicel té una longitud d'entre 1 – 1,2 cm. El calze té una longitud de 0,5 a 1,2 cm. La longitud de la corol·la és de 0,7 a 2,5 cm i forma un pentàgon de diàmetre de 1 a 2 cm. La coloració de les anteres és groga i presenten forma de columna de longituds de 0,6 a 0,8 cm. Els filaments són reduïts amb una longitud de 0,5 mm. L'estil pot tenir una longitud de 0,6 a 1 cm i en alguns casos pot sobresortir de la columna d'estams.

La variabilitat en la mida i forma dels fruits és gran. Durant la formació dels fruits, la coloració és verda. En el moment de la maduració, el color extern varia en una gran gama. Les llavors tenen longituds de 2,5 a 3,3 mm i de color marró pàl·lid (Chiang & Landrum, 2009).

### 1.2. Origen, domesticació i difusió del tomàquet

Les espècies silvestres relacionades amb el tomàquet cultivat *Solanum lycopersicum* L. són originàries de l'oest d'Amèrica del Sud. Es creu que l'espècie actual més propera a l'ancestre comú a *Solanum lycopersicum* L. és *S. pimpinellifolium* L. La distribució està centrada en tres grans zones de l'Equador i del Perú, diferenciades en l'ambient i a nivell genètic (Blanca, et al. 2015).

Dins de l'espècie *S. pimpinellifolium* L. trobem dos grups varietals, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* i *S. lycopersicum* var. *lycopersicum*. Aquests juguen un important paper en les possibles teories de la domesticació del tomàquet, encara en debat. Per un costat,

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

la varietat *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* és originària de les regions andines, des de l'Equador a Perú i creix en ambients humits; mentre que *S. lycopersicum* var. *lycopersicum* ocupa regions costeres de Perú o valls properes a la costa.

El paper que pren en la domesticació l'espècie *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* és important, ja que es proposa com una evolució intermèdia entre *S. pimpinellifolium* L. i *S. lycopersicum* var. *lycopersicum*; cultivat o bé com a una intensa hibridació entre *S. pimpinellifolium* L. i *S. lycopersicum* var. *lycopersicum*. Antigament es considerava com ancestre del tomàquet, tot i que actualment, amb l'ajuda de la tecnologia de l'anàlisi genòmic, recau en una barreja de tomàquet silvestre i tomàquet cultivat. La regió en la que va domesticar-se el tomàquet es manté en dubtes, ja que s'ha proposat com a centre de domesticació la mateixa zona d'origen de *S. pimpinellifolium* L., entre Equador i el nord del Perú.

La teoria amb més força planteja una domesticació meditada per dos efectes crucials. El primer d'ells, considera una selecció pels agricultors d'individus de *S. pimpinellifolium* L. o de l'ancestre de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* en la zona d'Equador. En segon lloc, en la zona de Mesoamèrica, s'hi considera la regió on succeeix el segon esdeveniment crucial, realitzant-se una selecció més exhaustiva de *S. lycopersicum* var. *Cerasiforme* completant-se la domesticació del tomàquet.

S'ha confirmat com les entrades de *S. lycopersicum* var. *lycopersicum* europees son originàries de Mesoamèrica. També s'ha proposat com el coll d'ampolla genètic desencadenat en les entrades arribades a Europa va realitzar-se durant la migració des de Perú i l'Equador.

La difusió de l'espècie ha recorregut més de 4.000 km en el continent americà, des de les regions d'origen fins a les zones de domesticació. Es creu que les plantes de tomàquet van ser transportades deliberadament pels humans però paral·lelament també es té en compte un transport per part dels animals.

L'any 1492, Cristòbal Colom va efectuar la primera arribada al continent americà per part dels europeus. Durant la conquesta d'Amèrica, els espanyols van exportar al continent aquest fruit, que actualment ha revolucionat l'agricultura. Es creu que les primeres plantes de tomàquet arribades a Europa provenien de Mèxic, de la capital dels Asteques, *Tenochtitlan*, els quals l'anomenaven *Xitomatl*.

Malgrat l'arribada va ser per part dels espanyols, la primera constància que es té del tomàquet apareix l'any 1544 per part d'un herborista anomenat Matthioli. Fent una recopilació de la presència escrita de l'espècie com a cultivada a Europa, segueix per Alemanya l'any 1553, Holanda el 1554 i França posteriorment. El 1556 va ser quan va crear el canal per arribar a Anglaterra.

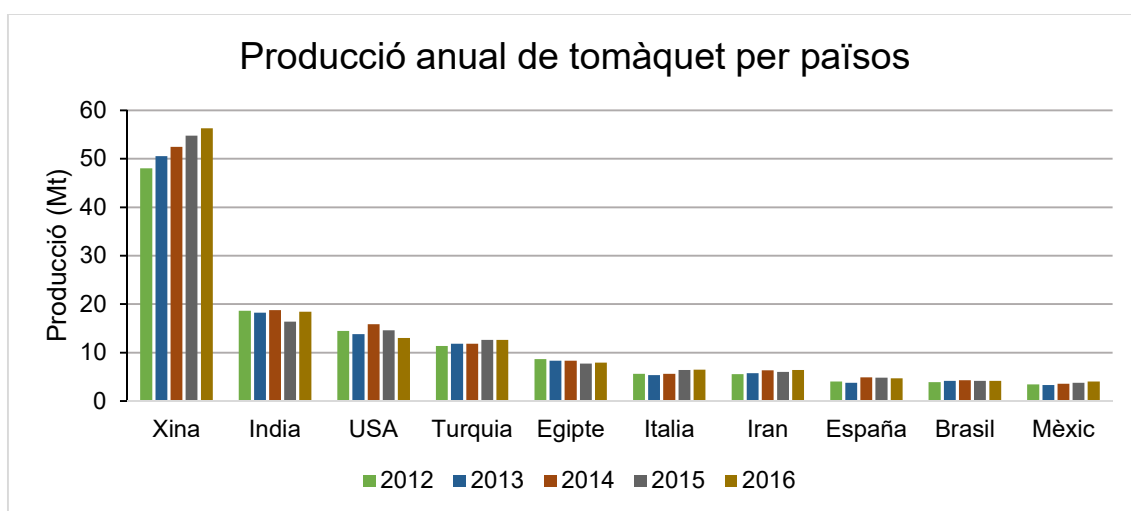
Els tomàquets també van distribuir-se extensament a partir de 1600 per tot el Sud del Mediterrani, Síria, Aràbia, Etiòpia i Egipte. No va ser fins al 1700 l'arribada del tomàquet a la Xina i al Sud i Sud-Est d'Àsia. Curiosament, no va arribar fins al 1710 al Nord d'Amèrica.

### 1.3. Situació econòmica actual del cultiu del tomàquet.

El tomàquet és la hortalissa més estesa arreu del món i de major valor econòmic. La seva demanda augmenta contínuament, aquest fet desencadena també en increments en la producció i comercialització del producte. L'increment anual de la producció en els últims anys és degut principalment a l'augment del rendiment i en menor proporció a l'augment de la superfície cultivada.

Els països amb majors produccions de tomàquet a nivell mundial són la Xina, la Índia, els Estats Units d'Amèrica (USA), Turquia, Itàlia, Iran, Espanya, Brasil i Mèxic. La producció mundial de tomàquet va arribar a més de 177 milions de tones l'any 2016.

Països claus en la producció mundial de tomàquet com la Xina, Índia i Turquia, han apostat en els darrers anys en augmentar la producció d'aquesta hortalissa. S'ha de tenir en compte que son països en vies de desenvolupament, on s'hi concentra el major volum de la població mundial y paral·lelament pretenen augmentar el mercat exterior. Amb trajectòria totalment oposada, USA segueix una disminució any rere any de la producció de tomàquet. Altres països important pels que fa a la producció mundial segueixen uns nivells amb baixa variació interanual (**Figura 1**).



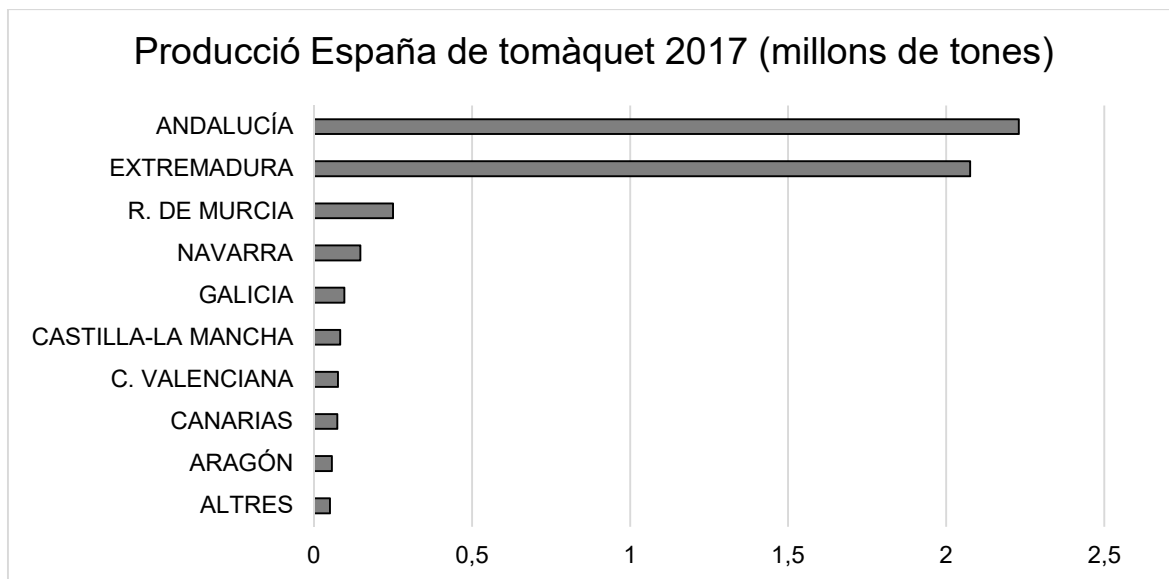
**Figura 1** Evolució de les produccions anuals dels països d'àmbit mundial amb majors produccions de tomàquet en tones. Font FAOSTAT

Paral·lelament a la demanda de plantes amb elevats rendiments productius, ha incrementat la venda de llavor. En aquests cas, el mercat ha virat amb preferències a una llavor híbrida i una reducció de la superfície cultivada. Malgrat la producció és un dels pilars més importants pels agricultors, recentment s'hi troben objectius paral·lels en la recerca de varietats amb majors rendiments de major qualitat en menor àrea de cultiu (Mordor Intelligence, 2018).

En l'àmbit espanyol, les produccions estan molt concentrades en punts concrets i destinats a un determinat tipus de producte. Les províncies del sud de la península Ibèrica, han especialitzat la seva agricultura en un producte de venda en fresc i majoritàriament per a un mercat internacional. La producció per a conserva o industrial se situa en províncies centrals de l'oest i del centre nord. Espanya produeix gairebé 5,2

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

milions de tones de tomàquet. La comunitat autònoma amb major producció és Andalusia, seguida d'Extremadura, regions oposades en el tipus de producte, sent el sud com a centre del producte per a la venda en fresc i l'interior oest en tomàquet per a indústria (**Figura 2**).



**Figura 2** Produccions de l'any 2017 de tomàquet de les comunitats autònomes d'Espanya en milions de tones. Font MAGRAMA

#### 1.4. Varietats locals

En els últims anys, el concepte de varietats locals, ha estat àmpliament utilitzat, tant a nivell científic com en l'àmbit social. Per la vessant més tècnica i biològica, la biodiversitat existent és un recurs a protegir i explorar. Hi trobem, varietats millorades cultivades i obsoletes, varietats silvestres i varietats locals. Cal tenir en compte, la conservació del material vegetal. Aquest és extensament preservat en els Bancs de Germoplasma d'arreu del planeta, sent un dels problemes la presència d'entrades duplicades. La conservació d'aquest material és principalment de varietats cultivades i menys important en les de tipus silvestre. Recentment en l'àmbit de la investigació es remarca la importància de la recerca i coneixement de les varietats silvestres per la disponibilitat de nous mecanismes de resistència i tolerància a factors biòtics i abiòtics.

Actualment, en referència a les varietats locals, cada cop pren més força la importància la millora en aquest tipus de material vegetal. En l'àmbit comercial, ha augmentat el concepte de que les varietats locals tenen nivells superiors de tipus nutricional i en propietats sensorials.

El concepte 'varietat locals' o en anglès '*landrace*', va ser emprant per primer cop per von Rümker (1908), fent referència a les varietats cultivades que han evolucionat sense una selecció conscient. Actualment el concepte ha evolucionat notablement, un dels més ajustats es el següent: varietat amb una alta capacitat a les toleràncies a estressos biòtics i abiòtics, obtenint com a resultat una alta estabilitat del rendiment i un nivell entremig de producció en sistemes agrícoles de baixos inputs. Malgrat tot, no te en compte l'evolució de les varietats locals (Zeven, 1998). Actualment, la definició de

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

varietat local (Casañas, et al., 2017), continua sense una unanimitat per part de la comunitat científica, generant principalment discrepàncies en els límits, sobretot en la evolució passada i futura.

La definició més incisiva respecte a varietat local, fa referència al material de varietats locals que han evolucionat i continuen evolucionant, utilitzant tècniques de millora convencional i modern, en ambients amb sistemes agrícoles tradicionals o moderns, definits en una àrea ecogeogràfica i sota la influència de l'acció local humana. Amb aquesta definició, es pretén abastar una coevolució de diferents factors: la variació inicial, la generació de nova variabilitat, mutacions, migració, recombinació i creuaments amb altres poblacions, el sòl, el clima i altres factors ecològics; la influència humana amb les tècniques de cultiu i les preferències (sensorial, nutricional, religiós...). La definició emfatitza el rol dels humans en la evolució de les varietats locals. (Casañas et al., 2017).

### **1.5. Varietats locals de tomàquet en la mediterrània peninsular**

Marcats per un clima benigne per a l'agricultura, les regions de les conques de la Mar Mediterrània han ofert una gran acceptació al cultiu de la tomaquera, fet que actualment queda justificat pel gran nombre de varietats locals presents en els territoris (Sacco, et al., 2015).

Centrant-nos en les zones de la mediterrània peninsular i insular més propera, s'hi troben tres regions importants en el cultiu en fresc i semi-fresc del tomàquet. Malgrat la important relació comercial i la seva proximitat, es mantenen intactes diferents tipus varietals identitaris de cada regió. En les Illes Balears s'hi troben els tipus varietals de 'Ramellet', 'd'Alger', 'de Bolla', 'de Carabasseta', 'de Pera', 'de Pruna' i 'Catalana'. A Catalunya, els tipus varietals més populars són els tipus 'Montserrat', 'Pera de Girona' i 'de Penjar'. Finalment, al País Valencià el tomàquet tipus 'Valenciana', 'De Penjar', 'Del Pebre' i 'Mutxamel', són els de major importància.

#### **1.5.1. Varietats locals de tomàquet de les Illes balears**

Les Illes Balears són un arxipèlag de la Mediterrània al oest més proper a la península Ibèrica. Està format per quatre grans illes (Mallorca, Menorca, Eivissa i Formentera i diversos illots. Tal i com les anomena la població, hi trobem diferents tipus de tomàquet conservat com a varietat local, la tomàtiga 'd'Alger', 'de Bolla', 'de Carabasseta', 'de Pera', 'de Pruna' i 'Catalana'. És important remarcar que la importància d'aquestes varietats, és baixa si la comparem amb el tipus varietat local més cultivat, el tomàquet de 'Ramellet', anomenat en altres zones com tomàquet 'de Penjar'.

El tipus varietal de tomàquet de Ramellet està molt lligat a les seves característiques, el seu ús i motiu per al qual té el nom. Està adaptat a un cultiu en sols calcaris i estius secs, allargant-se la collita en comparació a altres varietats. Originàriament l'estima d'aquest tipus de varietats era a causa de la seva llarga conservació en post collita, fent que el seu consum s'allargués durant tot l'any amb major importància en els mesos d'hivern, quan la disponibilitat d'hortalisses era més limitada (Bota, et al., 2014).

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

Les característiques principals en el fruit, són: una mida petita, amb un pes de 65 g, color pàl·lid i una llarga post collita de fins a 120 dies. Una gran part de les entrades conservades d'aquest tipus varietal tenen el mutant al·lèlic *alc*, responsable de la maduració del fruit (Casals, et al., 2012; Conesa, et al., 2014).

El seu consum es extens en les regions cultivades, apreciat en la gastronomia local, sent ingredient principal per a plats típics de la zona, com pot ser el 'pa amb tomàquet'. El seu consum és principalment fresc.

### ***1.5.2. Varietats locals de tomàquet de Catalunya***

En la zona més nord oriental de la península Ibèrica hi trobem Catalunya. La riquesa de tipus varietals locals presents comprèn un gran nombre de cultius agrícoles. El cas del tomàquet, no es una excepció. Les diferències dels sòls i ambients en la geografia catalana, es manifesta presentant un nombre divers de tipus varietals com el tomàquet 'Montserrat', 'Pera de Girona', 'de Penjar', 'del Benach', 'de Rosa', 'de l'Albercoc', 'Rosa Ple de l'Etern', 'Pometa', 'Palosanto', 'Tardà', 'Pare Benet' entre altres tipus menys coneguts.

Recentment, amb l'impuls de la recuperació i popularització de les varietats locals, en un àmbit general ha pres força el tipus varietal 'Montserrat'. Aquest tipus varietal, es caracteritza per tenir una baixa productivitat, compensat per un gran calibre, la coloració és rosada, amb un pericarpí gruixut, la forma és simètrica i xata, amb els lòbuls intensament marcats, normalment més de cinc. En alguns del casos la presència de buido en les cavitats locals del fruit es un tret pejoratiu. En aquest tipus varietal és un dels trets més apreciats, el qual fa que el seu consum sigui principalment en fresc, en amanides o en plats freds (Casals, et al., 2010).

### ***1.5.3. Varietats locals de tomàquet del País Valencià***

Als territoris valencians hi ha un elevat nombre de varietats locals, conegudes sobretot a nivell local. Per altra banda, diversos grups d'investigació han realitzat estudis per al seu coneixement i difusió. Alguns dels noms més concorreguts en la denominació d'aquestes varietats, pot ser variant segons la regió cultivada. Les varietats locals de tomàquet amb més tradició i prestigi es descriuen a continuació: 'De Borseta', 'Del Pebre', 'De Penjar', 'De Pruna', 'Mutxamel' i 'Valenciana' (Borràs, 2016).

El tomàquet tipus 'De Borseta', es present a les comarques del sud d'Alacant, presenta una forma lleugerament aperada. El pericarpí es gros i amb una elevada fermesa. El tomàquet tipus 'Del Pebre' presenta un fruit molt llarg i pronunciat, recordant a formes de pebrot italià; la buidor interior es moderada. El tomàquet tipus 'De Penjar', situat també a les Illes Balears i Catalunya, és apreciat principalment per la llarga conservació, el fruit és petit i normalment rodó. Les varietats més utilitzades per a fer conserva son les de tipus 'De Pruna', amb forma oblonga, petits i fàcils de pelar. El tipus de tomàquet 'Mutxamel' presenta una forma aplanada amb acostellat variable i presència persistent d'espalltes verdes. El tipus varietal 'Valenciana' es originari de l'horta de la ciutat de València, cultivat intensament en les riberes dels rius Xúquer, Túria i Palància. Presenta fruits, amb lòculs menuts distribuïts de forma regular al voltant del cor de secció circular



**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

i de grans dimensions, el que li confereix una gran fermesa i carnositat (Figàs, et al., 2015; Borràs, 2016 i Figàs et al., 2017)

## 1.6. Punts crítics de les varietats locals

Els Bancs de Germoplasma han realitzat la tasca de recol·lecció d'entrades cultivades per agricultors locals. Es preveu que durant el període de recol·lecció des de l'inici de la millora genètica conscient s'ha pogut recol·lectar la totalitat d'entrades cultivades. Un dels problemes que tenen els Bancs de Germoplasma son l'alt nombre d'entrades duplicades, tant per una sobre recol·lecció com per una falta d'estudi del material conservat.

Concretament, amb les entrades de varietats locals també es tenen problemes concrets com, la falta de tipificació de la variabilitat present, la gran falta d'uniformitat dins de les entrades, una baixa productivitat en el rendiment i la sensibilitat a les malalties viròtiques i fúngiques.

### 1.6.1. Tipificació de la variabilitat

Com s'ha comentat anteriorment es conegut l'elevat nombre d'entrades registrades en els bancs de germoplasma d'entrades cultivades, gran part de les que anomenem varietats locals. L'herència cultural n'ha donat noms específics, els quals han estat registrats en el moment de la conservació de les entrades.

Molts d'aquests noms recauen en la forma del fruit o bé en característiques de la planta. Un dels problemes que es generen és la proximitat fenotípica de les entrades però amb noms diferents. Per a resoldre-ho, és important tenir un bon mètode de tipificació de les varietats. Per aquesta tasca son molt útils els descriptors qualitius (IPGRI, 1996), tot i que en alguns dels casos més concrets, és convenient desenvolupar un protocol basat en marcadors de tipus microsatèl·lits.

L'organització, actualment anomenada '*Biodiversity International*' antigament IPGRI i IBPGR, ha desenvolupat descriptors per a cada una de les espècies més importants amb un detall exhaustiu per a poder caracteritzar cada una de les varietats i estandarditzar el protocol. En el cas del tomàquet, existeixen els descriptors des de 1996 (IPGRI, 1996). L'ús de la caracterització fenotípica ha permès tipificar varietats (Figàs M., et al., 2015).

Per una altra banda, l'ús dels marcadors microsatèl·lits o SSR (*Simple Sample Repeat*), permet diferenciar individus amb exactitud, a més a més, ens permet establir amb fiabilitat les relacions filogenètiques existents (Fort et al., 2010)

### 1.6.2. Uniformitat

Les varietats locals d'espècies amb una reproducció al·lògama configuren una estructura genètica prou diferent pel que fa a les espècies amb una reproducció de tipus autògama.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

En al·logàmia la pol·linització és creuada i la fecundació es dona entre individus genèticament diferents. Les espècies amb aquest tipus de reproducció favoreixen la producció d'individus genèticament nous amb la conseqüent generació constant de variabilitat.

En contraposició, trobem les espècies de tipus autògames, on la reproducció ocorre en organismes hermafrodites on els gàmetes femenins són fecundats per gàmetes masculins provinents del mateix individu. En aquest tipus d'espècie, la variabilitat es menor dins de les poblacions. Quan parlem de varietats locals cultivades de reproducció autògama com el tomàquet, sovint no presenten una total homogeneïtat en la entrada. Això és degut a possibles contaminacions en els creuaments amb altres tipus varietals o bé per ser una barreja de línies pures.

El fet de tractar-se de poblacions fa que siguin una font de diversitat al·lèlica molt important. Aquest es un dels motius per els que és important conservar-les.

En conclusió, dins de les entrades de varietats locals és conegut com a problema la falta d'uniformitat, tret que pot ser seleccionat en un programa de millora de varietats locals per així obtenir varietats altament uniformes.

### **1.6.3. Productivitat**

Durant la Revolució Verda, va ser determinant la millora genètica de les varietats cultivades, per a obtenir plantes molt més uniformes i sobretot amb una elevada productivitat, en el cas del blat (*Triticum aestivum*), introduint gens per a reduir l'altura de les plantes i millorar la resistència a estressos biòtics. L'anomenada Revolució Verda va ser totalment un èxit (Hoisington et al, 1999).

En el cas de la millora hortícola cada espècie és diferent a les altres, i fins i tot la millora de la producció serà diferent segons l'òrgan a aprofitar. En el cas de la tomaquera, el que s'ha seleccionat han estat varietats amb una longitud d'entrenusos curts, de la mateixa manera que la reducció de brots vegetatius previs a la primera inflorescència també ha estat clau per a fer varietats més precoces. Si ens centrem en el tipus de cultiu, podem trobar varietats amb un quallat de fruits repartit en les diferents inflorescències, fins a quallats elevats en els primers pomells per així reduir el temps en camp de les plantes.

Per a les varietats locals, les quals no havien estat millorades amb la consciència científica per tal objectiu, han quedat obsoletes pel que fa a la producció. Les varietats locals han estat cultivades per una agricultura de subsistència i amb baixos inputs. En contraposició, les varietats millorades han estat seleccionades en un ambient d'hivernacle i amb alts nivells d'aportacions d'inputs agrícoles, que es veu reflectit en el rendiment. En el cas de l'arquitectura de la planta en les varietats locals, és variable, ja que segons la selecció que s'ha realitzat s'obtenen tots els tipus de rangs, des de entrades més compactes a entrades amb entrenusos de gran longitud.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

#### 1.6.4. Sensibilitat a malalties

Una de les característiques més positives de les varietats locals recau en la seva evolució. Aquestes varietats han estat seleccionades pels propis agricultors en uns ambients concrets en els que hi eren presents determinats estressos biòtics i abiòtics. Les varietats seleccionades de tipus ancestral i actualment conegudes com a varietats locals, disposen d'una alta adaptabilitat als ambients on s'han seleccionat conferint, en molts casos, resistències als estressos biòtics i abiòtics de la zona.

El sistema actual basat en la globalització, ha derivat a una uniformitat de varietats cultivades arreu del món, de la mateixa manera aquests productes vegetals cultivats son transportats i comercialitzats a grans distàncies. Durant aquets processos no només hi ha moviment de productes, si no que també s'hi desplacen plagues i malalties. L'arribada d'una nova malaltia vírica o fúngica provoca una alta agressivitat en les poblacions de varietats locals. Aquestes, no han estat mai seleccionades durant la seva evolució, consegüentment son totalment sensibles patint la vulnerabilitat total enfront la malaltia.

Mitjançant la millora de les varietats locals, és possible solucionar aquest problema. Son coneguts nombrosos casos en els que mitjançant tècniques de retrocreuament s'han introduït gens de resistència a les principals plagues i malalties conegudes. L'objectiu, sempre pretén preservar les característiques principals de la varietat original i complementar-la amb la capacitat de resistència o tolerància indicada.

#### 1.1. Principals plagues i malalties en tomàquet i les seves resistències

Per l'especie *Solanum lycopersicum* existeix un elevat nombre de plagues i malalties que afecten al seu cultiu. Els factors que determinen els patògens més agressius poden ser diferents segons l'ambient on es cultiva, el tipus de cultiu i les varietats utilitzades.

A nivell de plagues trobem la *Tuta absoluta* (Biondi, et al., 2018) creant afectacions en les fulles en forma de galeries amples, deixant intacta l'epidermis i amb presència d'excrements en l'interior. A nivell del fruit crea petites perforacions i una necrosis interior. Els defectes en el fruit poden ser molt semblants als creats per *Helicoverpa* spp. No obstant, les perforacions en els fruits son d'una mida més gran i també pot tenir presència amb afectacions en fulles, flors i brots ( Noor-ul-Ane, et al., 2018). El pugó (*Myzus persicae*) crea colònies en la part ínfera de la fulla dels brots més tendres amb símptomes de enrotllament de la fulla (Rechner, et al., 2017). Un indicatiu de la presència de pugó es la melassa en les fulles. L'àcar *Tetranychus urticae*, comuntment anomenat aranya roja, crea colònies en la part inferior de les fulles, formant descoloriment foliar (Oliveira, et al., 2018). La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) no crea problemes importants per la seva presència directa, si no que en alguns casos pot provocar la infeccions com a vector víric (Ghanim et Czosnek, 2016).

En el cas dels fongs, el mildiu (*Phytophthora infestans*) fa presència en les fulles més baixes de la planta. Els símptomes son taques grogues que evolucionen en necrosis (Fry, 2016). A nivell radicular trobem fongs de podridura del coll i/o arrel com *Pytopjtora* spp., *Pythium* sp. *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* sp (Krishnamoorthy, et al., 1990).

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

El cas dels nematodes trobem *Melodogyne spp.* que ocasionen un desenvolupament de la planta deficient, clorosis i deformació radicular. En els virus trobem un ampli ventall com el virus del bronzejat del tomàquet (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), el virus de la cullera del tomàquet (*Tomato yellow curly virus*, TYLCV), el virus del mosaic del cogombre (*Cucumber mosaic virus*, CMV), el virus de la patata (*Potato virus Y*, PVY), el virus del mosaic del tomàquet (*Tomato mosaic Virus*, ToMV). Tots ells amb un ampli ventall de símptomes des de decoloracions, deformacions físiques de les fulles i mosaics (Fontanet et Vila, 2014).

### 1.1.1. Virus del mosaic del tomàquet (ToMV)

Nombroses espècies vegetals, de tipus hortícola o bé ornamental poden ser infectats per *Tobamovirus*. La infecció més comuna genera uns símptomes en mosaic característic, provocant deformacions i pèrdues en producció. Els *Tobamovirus*, inclouen els virus del mosaic del tabac (*Tobacco mosaic virus*, TMV) i el virus del mosaic de la tomaca (*Tomato mosaic virus*, ToMV).

Per al virus ToMV es coneixen tres gens, utilitzats segons l'aïllat present en la zona de cultiu. Per a la raça 0, el primer aïllat identificat, va descobrir-se resistència provinent de *Solanum hirsutum*. Es tracta d'una resistència amb control monogènic, dominància intermèdia en el cromosoma C2, conegut com a gen *Tm1*. Posteriorment amb l'aparició d'una nova raça vírica, raça 1, s'identifica en *Solanum peruvianum* un nou gen de resistència amb resposta hipersensible. Aquest gen, anomenat *Tm2* es localitza al cromosoma C9. Aquesta residència es de tipus monogènic i dominant (Lanfermeijer, et. al., 2003). Amb l'aparició de l'aïllat raça 2 és va fer imprescindible identificar una nova resistència. En aquest cas també de *Solanum peruvianum*, s'identificà un al·lel conegut com a *Tm2<sup>2</sup>* (Soler i Nuez, 2004; Lanfermeijer et al., 2005).

### 1.1.2. Fong vascular *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

El locus *I2* fou introduït en el tomàquet a partir de *Solanum pimpinelifolium* i confereix resistència a la raça 1 causant del marcimient general de la planta causat pel fong *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (Fol). El locus *I2* va ser mapejat en el braç llarg del cromosoma 11 i clonat (Simons, et al., 1998). Codifica una proteïna de 1.266 aminoàcids i es tracta d'una resistència intervinguda per gens del tipus superfamília de repeticions de leucina (LRR). *I2* es un membre del complex del locus de resistència (*I2*, *I2C1*, *I2C2*, *I2C3*, *I2C4* i *I2C5*). Alguns d'aquets membres del complex també tenen una forta similitud amb *I2*, però no confereixen completa resistència a Fol. Es coneixen dos primers utilitzats de forma eficient per a poder amplificar una regió de 940pb únicament en els genotips portadors de l'al·lel de resistència *I2* (Soler i Nuez, 2004; Bichseam, et al., 2015)

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

## 2. Objectius

Inici d'un programa de millora per retrocreuament per a la introducció dels gens de resistència al Virus del Mosaic de la tomaca ( $Tm2^2$ ) i del gen de resistència a *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (I2) en quatre varietats locals valencianes i en 2 varietats locals catalanes de tomàquet.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

### 3. Material i mètodes

Recentment, ha augmentat l'interès de les varietats locals, tant pels agricultors com pels consumidors. Un clar exemple el trobem en la comarca valenciana de la Vall d'Albaida on la forta presència agrícola esta potenciant la valorització d'aquest tipus de materials. Al litoral català, en la comarca del Maresme, l'ús de varietats locals també és present i paral·lelament al Parc Agrari del Baix Llobregat. Durant els darrers anys s'ha incrementat l'ús de la varietat seleccionada Montgrí i altre tipus varietals.

La popularització de materials locals ha desencadenat problemes que no eren tant presents en l'ús de material comercial de tipus híbrid. Les resistències a malalties víriques i fúngiques no estan presents en les varietats locals.

#### 3.1. Material Vegetal

En la realització del programa de millora, un programa de retrocreuament clàssic, s'han utilitzat per una banda una sèrie de varietats locals a millorar i per altra uns parentals donants de les resistències a introduir. Així en primer lloc s'ha utilitzat un total de sis varietats locals de tomàquet. Quatre d'elles tenen origen en la comarca valenciana de la Vall d'Albaida ('AG1', 'ONT1', 'BOC2' i 'FONT1') i dues entrades de Catalunya ('Montgrí' i 'CA10') (**Taula 1**). No obstant, és important remarcar, que la varietat 'Montgrí', ha estat seleccionada prèviament per la Fundació Miquel Agustí (Casals et al., 2010).

**Taula 1** Material vegetal utilitzades per la millora com a varietats recurrents i varietats donants. Centro de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV). Fundació Miquel Agustí (FMA).

Entrada	Varietat	Origen	Banc de germoplasma
AG1	Rosa Apuntat	Agullent	COMAV
ONT1	Rosa Apuntat	Ontinyent	COMAV
BOC2	Rosa Apuntat	Bocairent	COMAV
FONT1	Del Pebre	Fontanars del Alforins	COMAV
Montgrí	Pera Girona	Catalunya	FMA
CA10	Pera Girona	Girona	FMA
Arawak	Cor de Bou	-	Syngenta
Euphrates	Beef	-	Syngenta
TY-12	Beef	-	Rijk Zwaan

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

En quant a la varietat 'Arawak' (*Syngenta*) pertany al tipus varietat 'Cor de Bou'. Els fruits presenten un calibre gran o molt gran i de color vermell. La presència de costelles és molt pronunciada. El fruit pren forma de cor amb una alta estabilitat durant tot el cultiu. A nivell de resistències, presenta una alta resistència al fong *Verticillium dahliae*, *Verticillium albo-atrum* i al virus del ToMV (*Tomato Mosaic Virus*) 0-2. La varietat 'Euphrates' (*Syngenta*) té un fruit amb forma arrodonida, amb un calibre gran o molt gran. La coloració de coll verd és molt present en fruit madur i la consistència és notable facilitant la seva conservació. Disposa de resistència alta front al virus ToMV per a les races 0 i 2, per a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* races 1 i 2, i per a *Verticillium dahliae*. La varietat 'TY-12' (*Rijk Zwaan*) presenta una forma característica arrodonida i de color rosa. És resistent al virus ToMV, a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Verticillium albo-atrum* i *Verticillium dahliae*.

Seguint com a patró la caracterització morfològica del fruit feta sobre aquest tipus de varietats (Lara Minda, 2017) s'han seleccionat diferents parentals per a cada un dels programes de millora. En el cas de les entrades 'AG1' (**Figura 3**), 'ONT1' (**Figura 4**) i 'BOC2' (**Figura 5**) s'ha utilitzat el parental donant 'TY-12' (*Rijk Zwaan*) (**Figura 11**). Els motius de la selecció del parental és per la similitud en la coloració rosada i la forma similar, bé arrodonida en el donant com en els tres recurrents amb una forma rodona lleugerament apuntada, tal i com marca el tipus varietal. Per a les entrades 'FONT1' (**Figura 6**), MONTGRÍ (Fundació Miquel Agustí) (**Figura 7**) i 'CA10' (**Figura 8**) els parentals utilitzats són diferents. Les entrades 'Montgrí' i 'CA10' tenen un color extern rosa, igual que el parental 'Arawak' (*Syngenta*) (**Figura 9**), a nivell morfològic els tres parentals disposen de costelles marcades. El parental donant 'EUFRATES' (**Figura 10**) va creuar-se amb 'FONT1', a diferència entre parentals trobem la forma. El parental recurrent, presenta una forma pimentó, mentre que el parental donant té forma rodona. Pel que fa al color, els dos parentals tenen fruits vermells. (**Taula 2**).

**Taula 2** Relació dels creuaments inicials del retrocreuament. Per a cada parental recurrent, varietat a millorar correspon el parental donant dels gens de resistència.

Parental recurrent	Parental donant
AG1	TY12
ONT1	TY12
BOC2	TY12
FONT1	EUPHRATES
MONGRÍ	ARAWAK
CA10	ARAWAK

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 3** Imatge del fruit extern de la varietat AG1



**Figura 4** Imatge del fruit extern de la varietat ONT1



**Figura 5** Imatge del fruit extern de la varietat BOC2



**Figura 6** Imatge del fruit extern de la varietat FONT1



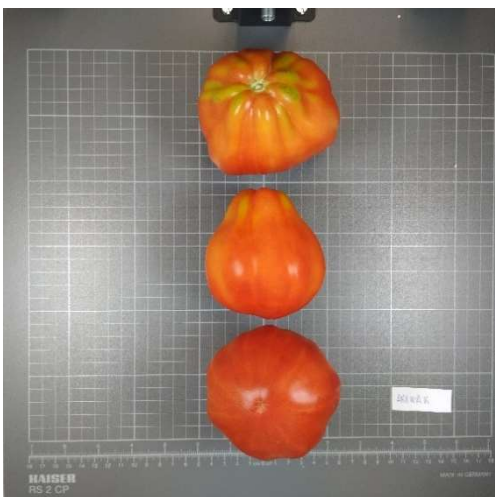
**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



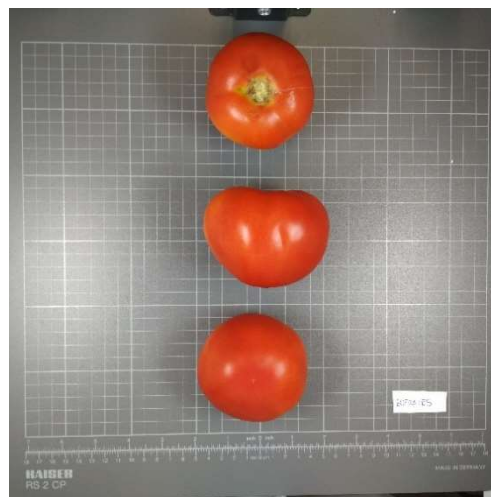
**Figura 7** Imatge del fruit extern de la varietat MG



**Figura 8** Imatge del fruit extern de la varietat CA10

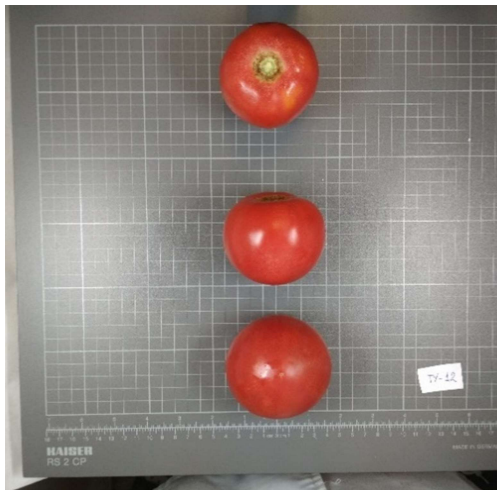


**Figura 9** Imatge del fruit extern de la varietat ARAWAK



**Figura 10** Imatge del fruit extern de la varietat EUFRATES

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 11** Imatge del fruit extern de la varietat TY12

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

### 3.2. Desinfecció de llavor i desenvolupament del planter

Degut a la presència d'infeccions causades per virus en la Comunitat Valenciana, principalment causats per ToMV i PVY, entre altres (Soler, et al., 2010), va ser convenient aplicar en tots els cicles de cultiu un procés de desinfecció de llavors i així reduir al màxim l'aparició de malalties durant el cultiu

El protocol seguit, consta en tres procediments claus, els dos primers tractaments de caràcter químic i un tercer amb us de la temperatura. S'ha utilitzat una solució de trifosfat de sodi (TSP) al 10% durant 3 hores, amb la llavor submergida. Seguidament es procedia a la neteja per eliminar qualsevol traça de TSP realitzat 3 rentats en aigua destil·lada de 15 minuts. El següent procediment consisteix en el tractament mitjançant hipoclorit sòdic (40g/L de cloro actiu) al 30% durant 1 hora, seguit del rentat amb aigua destil·lada. Els dos procediments descrits van realitzar-se de seguit. Posteriorment la llavor es deixava sobre paper de filtre per reduir la quantitat d'humitat que absorbeix. Un cop la llavor era totalment eixuta, s'introduïa en sobres amb Silicagel per que s'acabés d'eliminar la humitat. Aquest pas es important ja que, sotmetre la llavor a altes temperatures amb un elevat contingut d'humitat reduís el seu poder germinatiu. Finalment es realitzava l'últim tractament de termoteràpia que consistia en 24 hores en estufa a 78°C.

Per a la germinació de la llavor, un cop desinfectada, van ser sembrades en safates alveolades de polietilè en un viver comercial. El trasplantament no es va realitzar fins passades 5 setmanes després de la sembra (variació segons la temperatura).

### 3.3. Condicions de cultiu

El cultiu de les plantes durant tots els cicles es va fer en hivernacle al municipi d'El Perelló, comarca de la Ribera Baixa, on també s'hi realitza el cultiu de tomàquet per la Cooperativa Valenciana Unió Protectora d'El Perelló (UNIPRO).

El marc del plantació va ser de 40 cm entre cada planta i de 125 cm entre files. El nombre de files es variant segons la longitud i disposició de l'hivernacle. Durant el primer cicle, van trasplantar-se 10 plantes de cada parenta recurrent i 10 de cada donant. Per als següents cicles, amb els creuaments recurrents, van trasplantar-se 72 plantes per als descendents del creuament inicial (CI) i 10 plantes de cada tipus varietal original. Les condicions de temperatura dins de l'hivernacle variaven entre un mínim de 12,5°C i 32,7°C.

El reg va ser mitjançant un sistema de degoteig. La freqüència de regs va dosificar-se segons les necessitats de les plantes.

El sol dels hivernacles té una textura arena-argilosa. Seguint la classificació de sòls de la USDA (*United States Department of Agriculture*), les partícules que formen aquesta textura de sòl son argiles de mida inferior als 0,002 mm (8,85%), llims amb mida entre 0,02 i 0,05 mm (5%) i arena de 0,05 a 2 mm de mida (86,15%). EL contingut en matèria orgànica es del 2,3% i un pH de 8,11. La conductivitat del sòl es de 0,25dS/m.

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

Durant el cicle de cultiu es va aplicar un abonat de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i K<sub>2</sub>O en les quantitats de 220 Kg/ha, 50 Kg/ha i 280 Kg/ha respectivament. Les plantes adventícies s'eliminaven manualment i els tractaments fitosanitaris van aplicar-se quan va ser necessari.

### 3.4. Creuaments

#### 3.4.1. Recol·lecció de pol·len del parental masculí

Per a la realització de cada creuament, es va recol·lectar pol·len de les flors madures del parental masculí. Per a la obtenció del pol·len, es partia de flors totalment madures, el que es pretén es obtenir un pol·len totalment adequat per a poder pol·linitzar la flor objectiu del parental femení (parental recurrent o varietat local). Els sèpals i els pètals es van retirar per a facilitar la manipulació de la flor. Les anteres estan soldades formant una columna. Mitjançant unes pinces es trencava la unió entre els òrgans masculins d'aquesta columna i facilitar la caiguda del pol·len sobre una placa petri de plàstic.

#### 3.4.2. Emasculació i pol·linització del parental femení

Prèviament a la realització dels creuaments, s'emasculaven les flors de les plantes utilitzades com a parentals femenins. Aquestes eren les plantes de les que es va obtenir la llavor per al següent cicle.

L'emasculació de les flors de les plantes com a parental femení, consistia en eliminar l'androceu de la flor i deixar intacte el gineceu. Aquesta operació es realitzava prèviament a que l'androceu no hagués madurat, així evitar una contaminació amb el propi pol·len de la planta i impedir autofecundacions inesperades.

### 3.5. Programa de millora genètica

Per a la introducció de resistència en les varietats locals citades, s'ha utilitzat un programa de retrocreuament. Així s'ha utilitzant un parental donant dels gens de resistència d'interès i cada una de les varietats de tipus locals en les quals s'hi pretenien introduir els gens indicats com a parental recurrent. Indicat en l'apartat 3.1, s'han utilitzat les varietats comercials 'TY12', 'ARAWAK' i 'EUPHRATES' com a varietats donants. Per altra banda, les varietats utilitzades per a introduir els gens de resistència han sigut: 'AG1', 'ONT1', 'BOC2', 'FONT1', 'Montgrí' i 'CA10'.

En el primer cicle de cultiu durant els mesos d'abril a juny del 2017 (PRIM-EST 2017), van realitzar-se els creuaments inicials (CI) entre cada una de les varietats indicades anteriorment generant l'híbrid entre les dues varietats, s'utilitza com a parental femení la varietat local,

Durant el següent cicle de cultiu, entre els mesos d'octubre del 2017 a gener del 2018 (EST-TARD 2017) van traspalar-se un total de 50 plantes de cada un dels creuaments inicials (CI), juntament amb les entrades originals per a utilitzar-les com a parental femení. En aquest segon cicle de cultiu, van seleccionar-se les plantes portadores dels gens de resistència a cada generació, utilitzant-les com a parental masculí (pol·len per al creuament) les plantes de tipus heterozigot per als al·lels d'interès. Per a la selecció

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

de les plantes portadores dels al·lels de residència ( $Tm2^2$  i  $I2$ ) va emprar-se un marcador molecular associat a l'al·lel de resistència. Així, es va realitzant el primer creuament recurrent (RC1) sobre les plantes de les entrades originals.

Al final del segon cultiu va preservar-se la llavor del creuament RC1 per a poder-la sembrar i trasplantar en el cicle que va comprendre els mesos d'abril a juny del 2018 (PRIM-EST 2018). Durant aquest tercer cicle el procés va ser el mateix que el realitzat en el segon cicle de cultiu. Al final d'aquest tercer cicle obtinguérem el RC2.

### 3.6. Selecció assistida per marcadors

En el cas de la selecció de plantes portadores de l'al·lel objectiu  $Tm-2^2$  s'utilitza un marcador de tipus SNP. Per altra banda, en la selecció de l'al·lel d'interès  $I2$  s'utilitza un marcador co-dominant, amplificant mitjançant la combinació de dos primers en PCR (Yi Chuan, 2008).

#### 3.6.1. Extracció de l'ADN

Per a l'obtenció de l'ADN genòmic de les plantes a genotipar de les generacions CI i RC1 i RC2 s'ha utilitzat fulles apicals joves. De cada individu s'han adquirit 75mg de teixit vegetal. Cada un dels tubs mantenia una codificació per a relacionar la mostra amb la planta de camp. Per a facilitar la trituració del teixit s'introduïen un parell de boles de crom.

Durant el procés d'obtenció de les mostres i la seva conservació va conservar-se en fred, un cop al laboratori, les mostres van ser congelades a  $-195,8^{\circ}\text{C}$  amb Nitrogen Líquid i introduïdes en congelador a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  fins al seu us.

Abans d'iniciar el protocol d'extracció les mostres van triturar-se. A partir d'aquí el protocol seguit per a l'obtenció de material genòmic ha estat el de CTAB (Doyle & Doyle, 1987). La quantificació de l'ADN va realitzar-se amb un espectrofotòmetre Nanodrop ND-1000 (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE) la qualitat de l'ADN va avaluar-se mitjançant les relacions d'absorbància a 260/280 nm i 260/230 nm.

#### 3.6.2. Marcadors moleculars associats al gen de resistència $Tm-2^2$

S'utilitza l'al·lel  $Tm-2^2$  per a conferir residència al virus ToMV, mitjançant dues seqüències disponibles a "GenBank" (FJ817600.1 i FJ817602.1), publicats per Shi, et al., 2011.

Les seqüències publicades, corresponen a l'al·lel susceptible  $tm-2$  i a l'al·lel resistent  $Tm-2$  per desenvolupar encebadors que ens permeten identificar els SNPs associats a cada un dels al·lels.

Els encebadors utilitzats han estat dissenyats prèviament al laboratori per altres projectes amb la mateixa finalitat, de poder seleccionar individus portadors de l'al·lel de resistència  $Tm-2^2$ , partint de la informació proporcionada per (Shi, et al., 2011). Aquets encebadors utilitzats son SNP  $Tm-2^2$  F (CAAG CATG TAAC AGTT GCTT TTC) i SNP  $Tm-2^2$  R (CAGG TATC CACA TCAA GGTT TG) (Borràs, 2016). Amb una temperatura

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

d'anellament (Tm) de 60°C i una mida de 20 parells de bases (bp). L'amplicó té una longitud de 90-150bp ja que per a l'anàlisi de SNPs mitjançant HRM es requereixen fragments petits per obtenir millors resultats.

### 3.6.3. Marcadors moleculars associats al gen de resistència I2

Per les línies amb interès per la determinació de la presència de l'al·lel de resistència en l'al·lel de resistència I2 en front al fong de *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*, es pretén obtenir els individus portadors en heterozigosis (degut al mètode de millora utilitzat de tipus retrocreuament).

Per a la detecció, s'ha realitzat una amplificació de la regió mitjançant un marcador molecular co-dominant, ampliant a partir de dos cebadors en programa de PCR i una posterior electroforesis per a la lectura dels resultats, seguint el protocol deduït per (Yi Chuan, 2008). El programa de PCR utilitzat fou el següent: desnaturalització inicial a 94°C durant 3 minuts, seguit de 35 cicles de desnaturalització a 94°C durant 30 segons, una hibridació dels encebadors a Tm durant 30 segons i la extensió a 72°C durant 30 segons. Finalment una extensió final de 72°C durant 10 minuts, el temps de refredament i previ a la conservació en congelador es de 4°C. La reacció de PCR va dur-se a terme amb un volum final de 15 µL, en el que hi (10mM) i 0,25 µL de Taq-polimerasa (3U), fins a completar el volum 0,75 µL d'H<sub>2</sub>O per contenia 2 µL (30ng) de ADN motlle, 1.5 µL de tampó de PCR 10X, 0,3 µL de dNTPS (10mM cada un), 0,6 µL de MgCl<sub>2</sub> (50mM), 0,3 µL de encebador directe (10mM), 0,3 de encebador revers a PCR.

Per a validació dels resultats, s'ha procedit a un gel d'electroforesis per a la lectura de les bandes. El gel, de tipus agarosa al 1,5% i un volum de 60 ml al 0.5% TAE (Tris-Acetate electrophoresis buffer). Cada un dels forats de la fila, ha estat carregats amb un volum de 10 µL, dels quals 7 µL de H<sub>2</sub>O, 2 µL de Blue-GelRed (25 mg de Blau de Bromurofenol, 3 ml de Glicerol i 10 ml de dH<sub>2</sub>O) i 1 µL de producte de PCR. El revelat del gel d'electroforesis s'ha realitzat mitjançant llum UV en un analitzador d'imatges *GelDoc* (BioRad) mitjançant el software *Quantity one* (BioRad).

## 3.7. Caracterització agromorfològica de les distintes generacions del programa de retrocreuament

Primerament és van fenotipar les varietats locals. Així, durant el primer cicle de de manera paral·lela a la confecció dels creuaments inicials (CI) i mitjançant una caracterització morfològica i agronòmica es va procedir a definir el fenotip característic de cada varietat, que haurà de correspondre al final de programa de millora.. Un fenotipat eficient dels caràcters més determinants de cada varietat va realitzar-se per identificar les plantes, que portant els gens de resistència, presentaren les característiques més afins a les varietats respectives.

Per a la caracterització que permeta l'establiment de les característiques pròpies de cada varietat local s'utilitzaren les següents característiques: Tipus de creixement, Inclinació de la fulla, Densitat foliar, Tipus d'inflorescència, Posició de l'estil, Espotlla verda, Color extern del fruit, Color pell de fruit, Forma predominant del fruit, Forma de l'espatlla del fruit, Forma de la cicatriu del pistil, Seqüència de quallat, Secció

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum f. sp.***

transversal, Facilitat per despendre el fruit del pedicel, Cicatriu del pistil, *Ribbing at calyx end*, Macrocalix, Forma de la fulla, Inflor, Presència i incidència de *cracking* radial, Presència i incidència de *cracking* concèntric, Fasciació del fruit, Necrosis de la base del fruit, Altura de l'últim pomell útil a l'últim pomell quallat, Altura al primer pomell i Número de pomells

### **3.7.1. Característiques qualitatives**

Per a la caracterització fenotípica de cada una de les varietats locals que es pretenen millorar en el programa, es feren dos tipus de caracterització. Primerament per a conèixer el fenotip de les varietats amb les que s'hi treballava. En els següents cicles de cultiu, la caracterització fenotípica s'utilitzen un llistat de descriptors més reduïts.

En els dos tipus de caracterització s'ha seguit una selecció dels descriptors més adequats i més explicatius recomanats per la *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI, 1996). Per a la caracterització de les entrades originals s'empraren 28 descriptors, d'aquets 19 eren característiques de la planta, 5 de tipus agronòmic i 4 organolèptics. En total 19 de tipus qualitatiu i 9 quantitatiu.

Per a les dues caracteritzacions següents els descriptors utilitzats van ser un total de 8 (Inflorescència, Posició de l'estil, Espatlla verda, Forma del fruit, Forma de l'espatlla del fruit, Secció irregular, Acostellat i Macrocalix).

### **3.7.2. Característiques quantitatives del fruit**

Paral·lelament, va utilitzar-se el fenotipat d'imatge, facilitat pel software Tomato Analyzer 4.0 (TA) per a el anàlisis dels fruits. Els fruits de cada una de les entrades van dividir-se en dos grups, per a obtenir imatges amb un tall transversal en el fruit i un tall longitudinal, mitjançant l'escàner. Es va emprar una resolució de 300dpi i un format d'imatge JPG. Mitjançant el software TA van obtenir-se un total de 106 variables morfomètriques (Rodríguez et al., 2010) (Figàs M. , et al., 2015).

### **3.7.3. Característiques organolèptiques**

Per a la caracterització de la qualitat del fruit van analitzar-se 6 paràmetres. La determinació del color del fruit va realitzar-se mitjançant l'ajuda d'un colorímetre digital (CR\_400, KONICA MINOLTA), mitjançant el qual s'avaluaven tres valors determinants del color (L, a i b). El mesurament es realitzava en cinc fruits madurs de cada entrada, prenen dues mesures en cada un dels fruits.

Per avaluar la fermesa del fruit, s'ha utilitzat un duròmetre digital (T.R. TURONI-ITALY) avaluant cinc fruits, prenent dues mesures en posicions oposades.

Es van mesurar els graus Brix mitjançant un refractòmetre digital model HI 96801 realitzat sobre cinc fruits de cada una de les varietats.

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

### 3.8. Anàlisi estadístic

Amb les dades proporcionades del fenotipat qualitatiu (IPGRI, 1996) de les varietats locals (VL) i comercials (VC) del primer cicle, els creuaments inicials (CI) i el individu del primer retrocreuament (RC1), s'ha estudiat la variació qualitativa durant el procés de retrocreuament que té l'objectiu teòric d'obtenir al final del procés establert, recuperar el màxim fons genètic de la varietat desitjada, excepte l'al·lel de resistència o gens d'interès introduïts com a objectiu.

La totalitat dels càlculs estadístics han estat realitzats amb el software STATGRAPHICS Centurion i Microsoft Office Excel.



## 4. Resultats i discussió

### 4.1. Establiment de les característiques diferencials de cada varietat local

En el primer fenotipat qualitatiu inicial de les varietats locals van identificar-se distints caràcters per a definir-les. Molts dels caràcters utilitzats van mostrar una notable mancança per a diferenciar-les ja que no diferien entre varietats en caràcters com: Tipus de creixement, Densitat foliar, Color de la pell del fruit, Seqüència de tallat, Buidor interior del fruit, Presència de cracking i Fasciació del fruit.

Les varietats van quedar descrites pels caràcters qualitius següents: Inflorescència, Posició de l'estil, Espatlla verda, Forma del fruit, Forma de l'espantlla del fruit, Secció irregular, Acostellat i Macrocalix (**Taula 3**).

Les característiques que mostren major diferència entre varietats és la Forma del fruit, on podem diferenciar fins i tot en tres grups diferents. Les entrades 'AG1', 'BOC2' i 'ONT1' presenten una forma rodona apuntada, de tipus 'Valenciana'. Per altra banda les varietats catalanes tenen forma de pera-quadrats característiques dels tipus varietal 'Pera de Girona'. Finalment, la varietat 'FONT1' queda aïllada amb una forma peculiar de tipus pimentó.

**Taula 3** Caracterització dels individus inicials de cada una de les varietats.

<i>Entrada</i>	<i>Inflorescència</i>	<i>Posició estil</i>	<i>Espatlla verda</i>	<i>Forma del fruit</i>	<i>Forma espantlla fruit</i>	<i>Secció irregular</i>	<i>Acostellat</i>	<i>Macrocalix</i>
AG1	IR	LE	VC	CO	FE	RD	MI	AB
BOC1	IR	MN	VC	CO	ME	AN	MI	AB
ONT1	IR	LE	VM	CO	ME	AN	MI	PR
FONT1	IR	IN	VC	LL	ME	AN	MI	AB
CA10	IR	IN	VC	RE	ME	AN	AI	PR
MONTGRÍ	IR	LE	VM	PE	LE	AN	AI	PR
TY12	UN	IN	VC	RO	LE	RD	BI	AB
EUFRADES	UN	IN	VC	PL	LE	RD	MI	PR
ARAWAK	IR	MN	VC	PE	LE	IG	AI	AB

Inflorescència (IR=Irregular, UN= Unípara), Posició de l'estil (LE=Lleugera, MN= Mateix nivell, IN= Insert), Espatlla verda (VC=Verd clar, VM= verd mitjà), Forma del fruit (PL=Pla, PE=Pera, RE=Rectangular, RO=Rodó, CO=Cor, LL=Llarg), Forma espantlla del fruit (LE= Lleugerament enfonsat, ME= Moderadament enfonsat, FE=Fortament enfonsat), Secció irregular (RD=Rodó, AN=Angular, IG=Irregular), Acostellat( BI= Baixa intensitat, MI Mitja Intensitat, AI=Alta intensitat) i Macrocalix(PR= Present, AB=Absent).

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

#### 4.2. Selecció de plantes mitjançant marcadors moleculars

Durant els cicles de retrocreuament realitzat per a la millora de les varietats locals mitjançant la introducció dels gens de resistència esmentats, s'ha utilitzat la selecció assistida per marcadors molecular i així facilitar el procés. L'ús d'aquest tipus de selecció ha permès reduir el nombre de plantes portades a camp, ja que únicament s'han trasplantat aquelles plàntules realment interessants a nivell de ser positives per als marcadors moleculars.

Durant el cicle PRIM-EST 2017, no va fer-se'n ús d'aquesta selecció. Partíem de material fixat com a varietat local i de varietats donants de tipus F1, aquestes línies híbrides portadores dels al·lels de resistència d'interès (*Tm2<sup>2</sup>* i *I2*) que confereixen la resistència a ToMV i/o a Fol. En el segon cicle de selecció, durant el període EST-TARD 2017, sí que va fer-se ús de la selecció assistida per marcadors. Únicament van ser interessants les plantes de cada una de les línies de millora que eren portadores dels al·lels de resistència (*Tm2<sup>2</sup>* i *I2*). Van obtenir-se els resultats moleculars de les plantes del segon cicle de cultiu CI de tipus heterozigot amb interès per a ser seleccionades i les plantes homozigots susceptibles, eliminades per la falta dels gens de resistència (**Taula 4**). En el cas de les varietats locals de 'AG1', 'BOC2' i 'ONT1', va obtenir-se la totalitat de les plantes de tipus heterozigot per als dos gens. Aquest fet va comprovar-se avaluant la configuració genètica de la línia donant 'TY12' essent aquests homozigots per als dos gens buscats. La línia de millora 'FONT1' en el CI va resultar un nombre de plantes segregant per als dos gens de resistència, fet que comporta una configuració heterozigot en *Tm2<sup>2</sup>* i *I2* de la veritat donant 'EUFRATES' (**Taula 4**).

**Taula 4** Relació per a cada un dels creuaments inicials de les línies de millora en CI, indicant el nombre de plantes analitzades, el nombre de plantes homozigots sensibles i heterozigots, per als gens de resistència *Tm2<sup>2</sup>* i *I2*

Entrada	<i>Tm2<sup>2</sup></i>			<i>I2</i>		
	<i>n</i>	Homozigot Susceptible	Heterozigots	<i>n</i>	Homozigot Susceptible	Heterozigot
AG1 x TY12	39	0	39	39	0	29
BOC2 x TY12	26	0	26	26	0	26
FONT1 x EUFRATES	36	22	14	14	11	3
ONT1 x TY12	38	0	38	38	0	38
MG x ARAWAK	34	27	7	-	-	-
CA10 x ARAWAK	20	17	3	-	-	-

En el tercer cicle de cultiu PRIM-EST 2018, van trasplantar-se les plantes portadores del gens d'interès de la generació RC1 de cada varietat local. Per a totes les línies de millora van obtenir-se plantes portadores el gens d'interès (**Taula 5**). Les freqüències

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

que s'obtingueren en les plantes RC1 no es corresponen amb el previst. Aquest desajust de les proporcions, també va succeir en un experiment de retrocreuament (Borràs, 2016), en el programa citat, Borràs va utilitzar el parental 'EUFRATES' com a donant del gen *Tm2<sup>2</sup>*. La justificació més probable, és un criteri de prevenció aplicat en el laboratori. Evitant un possible error en les lectures dels resultats dels marcadors moleculars, van inicar-se els individus dubtosos com a homozigot susceptible, fet que va provocar una variació de les proporcions genètiques en la descendència.

**Taula 5** Relació per a cada un dels creuaments inicials de les línies de millora en RC1, indicant el nombre de plantes analitzades, el nombre de plantes homozigots sensibles i heterozigots, per als gens de resistència *Tm2<sup>2</sup>* i *I2*

Entrada	<i>Tm2<sup>2</sup></i>			<i>I2</i>		
	n	Homozigot Susceptibles	Heterozigots	n	Homozigot Susceptibles	Heterozigots
AG1 RC1	43	31	12	12	9	3
BOC2 RC1	20	18	2	2	1	1
FONT1 RC1	58	55	3	3	2	1
ONT1 RC1	63	47	16	13	9	4
MG RC1	61	37	24	-	-	-
CA10 RC1	37	21	16	-	-	-

Els resultats que van obtenir-se en el anàlisi de marcadors moleculars, van permetre realitzar el mètode de millora utilitzat basat en retrocreuaments. Utilitzant la selecció assistida per marcadors moleculars, van obtenir-se generacions descendents portadores dels gens responsables de les resistències (*Tm2<sup>2</sup>* i *I2*). En anteriors estudis (Borràs, 2016) s'ha pogut continuar de la mateixa manera el sistema de selecció de plantes portadores dels gens d'interès.

### 4.3. Anàlisi dels caràcters durant el creuament inicial i el primer Retrocreuament.

#### 4.3.1. Caràcters de tipus qualitatiu

Durant el primer cicle de primavera del 2017 s'han descrit les varietats de forma més exhaustiva pel que fa al nombre de variables introduïdes. Durant el cicle EST-TARD 2017 amb els creuaments CI i el cicle PRIM-EST 2018 amb els creuaments RC1, les variables qualitatives han estat reduïdes per remarcar les diferències entre varietats. Així, les variables estudiades han estat: Inflorescència, Posició de l'estil, Coll Verd, Forma del Fruit, Forma de la Espatlla del Fruit, Secció Transversal, Acostellat i Macrocalix.

***Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.***

Els caràcters suprimits no han mostrat diferències entre les varietats.

Per a la millora de la varietat local 'AG1' (**Figura 11**), s'ha trobat diferència entre les dues generacions CI i RC1, i la varietat original en els caràcters d'Inflorescència i Secció transversal. D'altra banda, pel caràcter Posició de l'estil i Forma de l'espatlla, han presentat un fenotip intermedi entre els dos parentals, i s'ha mostrat així una recuperació lleugera. El caràcter Espatlla verda, quantifica el nivell de color verd del fruit. Així, en els dos parentals i en la generació CI, el fenotip és verd clar. En la generació més avançada, en canvi, presenta un fruit verd mitjà. La Forma del fruit i l'Acostellat, presenten una recuperació fenotípica similar a la de les varietats originals. El caràcter Macrocalix, no presenta diferències entre els dos parentals i les següents generacions.

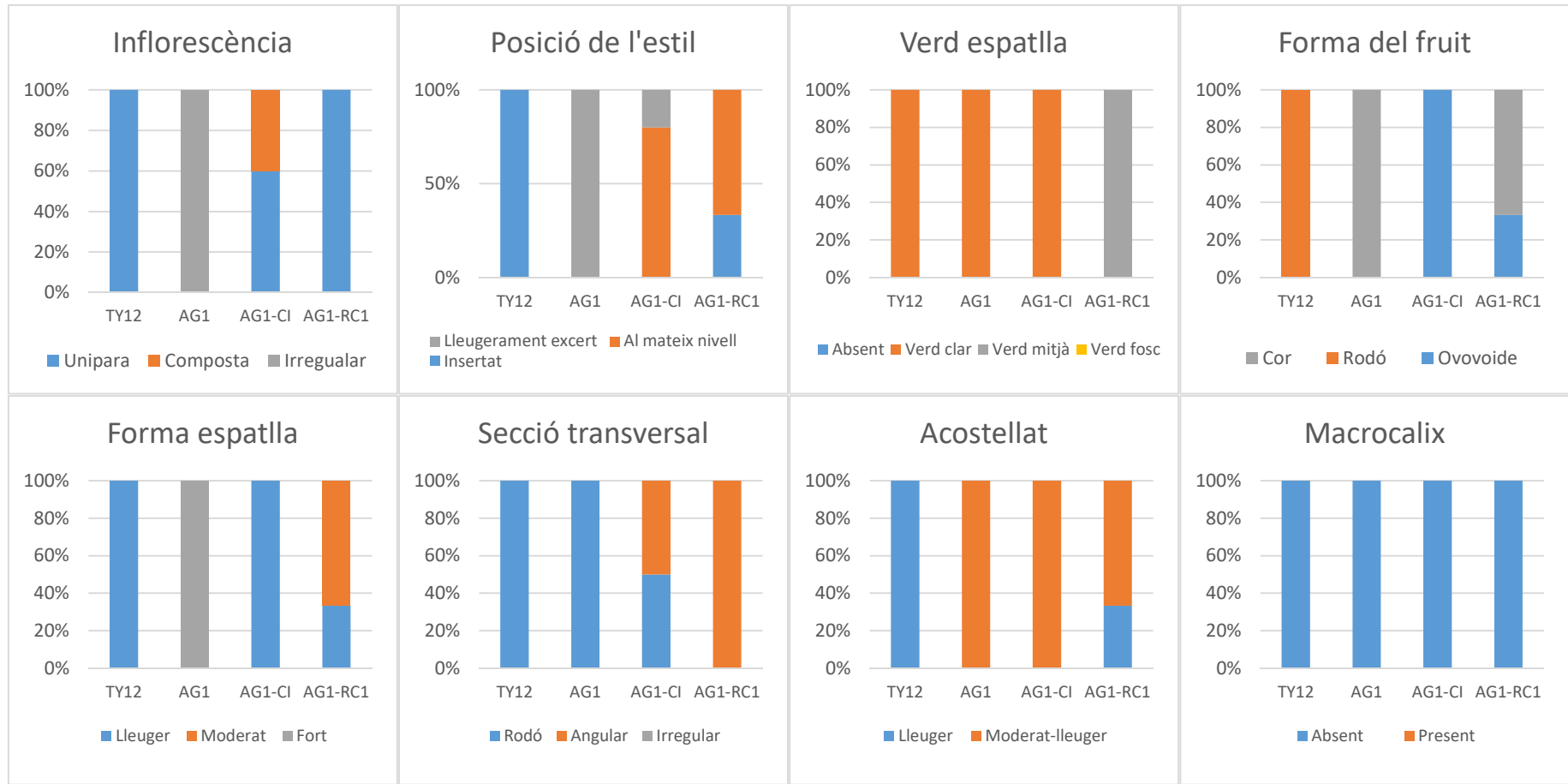
En la línia de millora de la varietat 'BOC2' (**Figura 12**), no s'ha observat recuperació de la major part dels caràcters qualitius estudiats. Les variables Inflorescència, Posició de l'estil, Forma de l'espatlla, Secció transversal i Acostellat, no han tingut una recuperació del fenotip de la varietat local. En alguns casos, sí que hi ha hagut similitud amb la generació CI. Els caràcters amb una elevada recuperació fenotípica han sigut: Forma del fruit i Macrocalix. Cal especificar, que la variable Forma del fruit, tot i no ser de la mateixa classe fenotípica, sí que ha mostrat similitud al parental recurrent.

És important remarcar que els caràcters Inflorescència, Forma de l'espatlla, Acostellat i Macrocalix de la línia de millora 'ONT1' (**Figura 13**), han mostrat diferències entre la generació RC1 i la varietat recurrent. Entre els caràcters on la recuperació és notablement marcada, s'ha trobat que Posició de l'estil és la que ha mostrat un fenotip menys recuperat. Els caràcters Forma del fruit i Secció transversal, la similitud ha estat pràcticament total.

La millora de la varietat local 'FONT1' (**Figura 14**) és la que ha presentat un resultat més clars pel que fa a la recuperació del fenotip original. Es tracta d'una morfologia exterior molt característica. En els caràcters Posició de l'estil, Secció transversal i Acostellat la similitud a l'original ha sigut present. El caràcter Forma del fruit també, però en aquest cas, la similitud al parental recurrent ha sigut total. En altres caràcters com Inflorescència, Posició de l'estil, Forma de l'espatlla i Macrocalix, no s'ha produït una recuperació en la generació més avançada que s'ha obtingut.

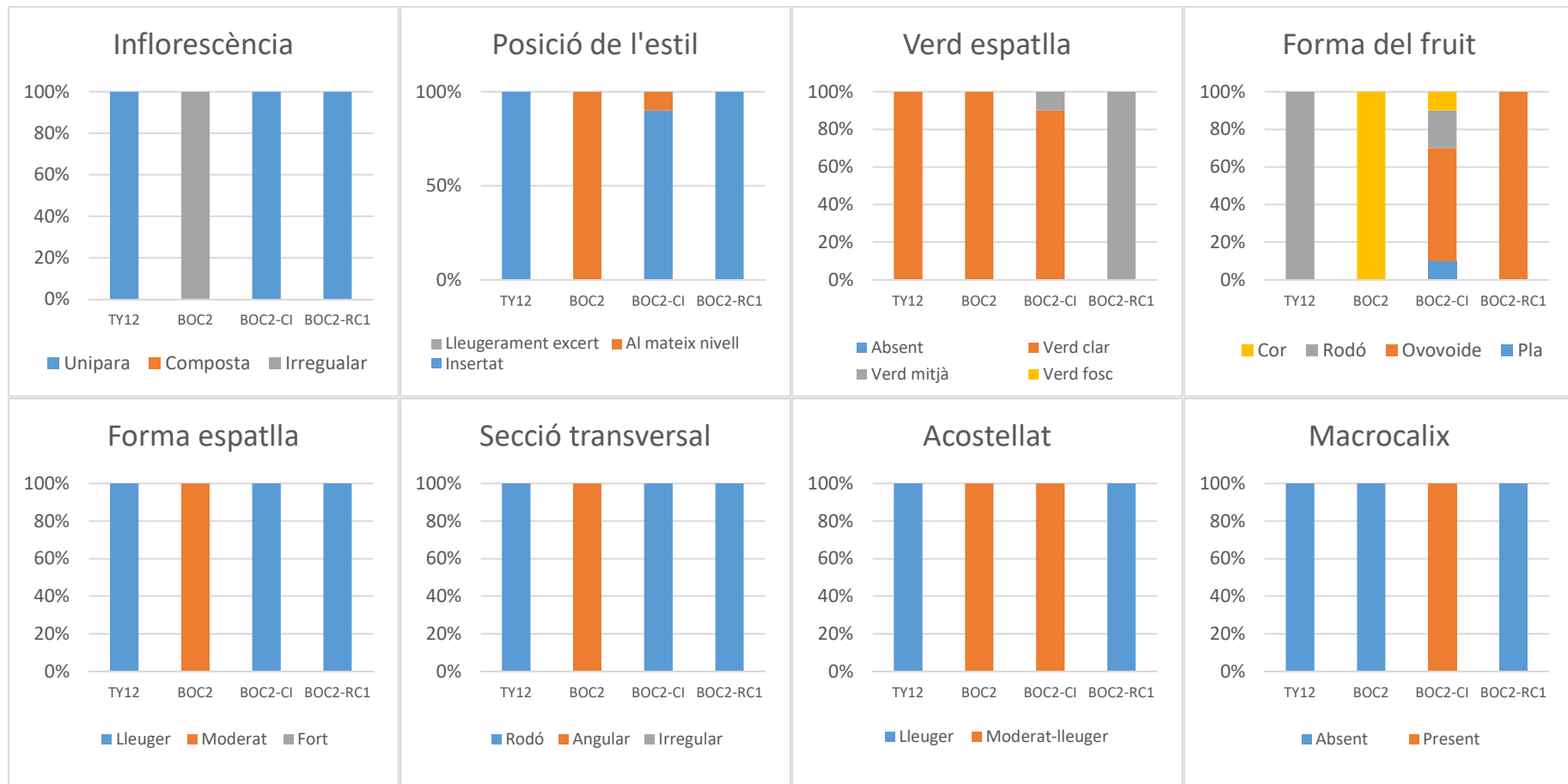
Tant per la varietat 'MONGRÍ' (**Figura 15**) com per la varietat 'CA10' (**Figura 16**), la recuperació que han presentat en la generació RC1 és important. Per la varietat 'MONGRÍ', els caràcters: Inflorescència, Verd espatlla, Forma espatlla, Acostellat, Secció transversal i Macrocalix, han mostrat el mateix fenotip que el parental recurrent. Per la varietat 'CA10', s'ha observat que els caràcters fenotípicament igual entre la generació RC1 i la varietat recurrent són: Inflorescència, Posició de l'estil, Verd espatlla, Acostellat, Macrocalix, Forma de l'espatlla, Forma del fruit i Secció transversal. Aquesta ràpida recuperació de l'idiotip, repetit en les dues varietats locals anteriors, ha estat causat per l'afinitat fenotípica entre els dos parentals seleccionats inicialment.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong Fusarium oxysporum f. sp.**



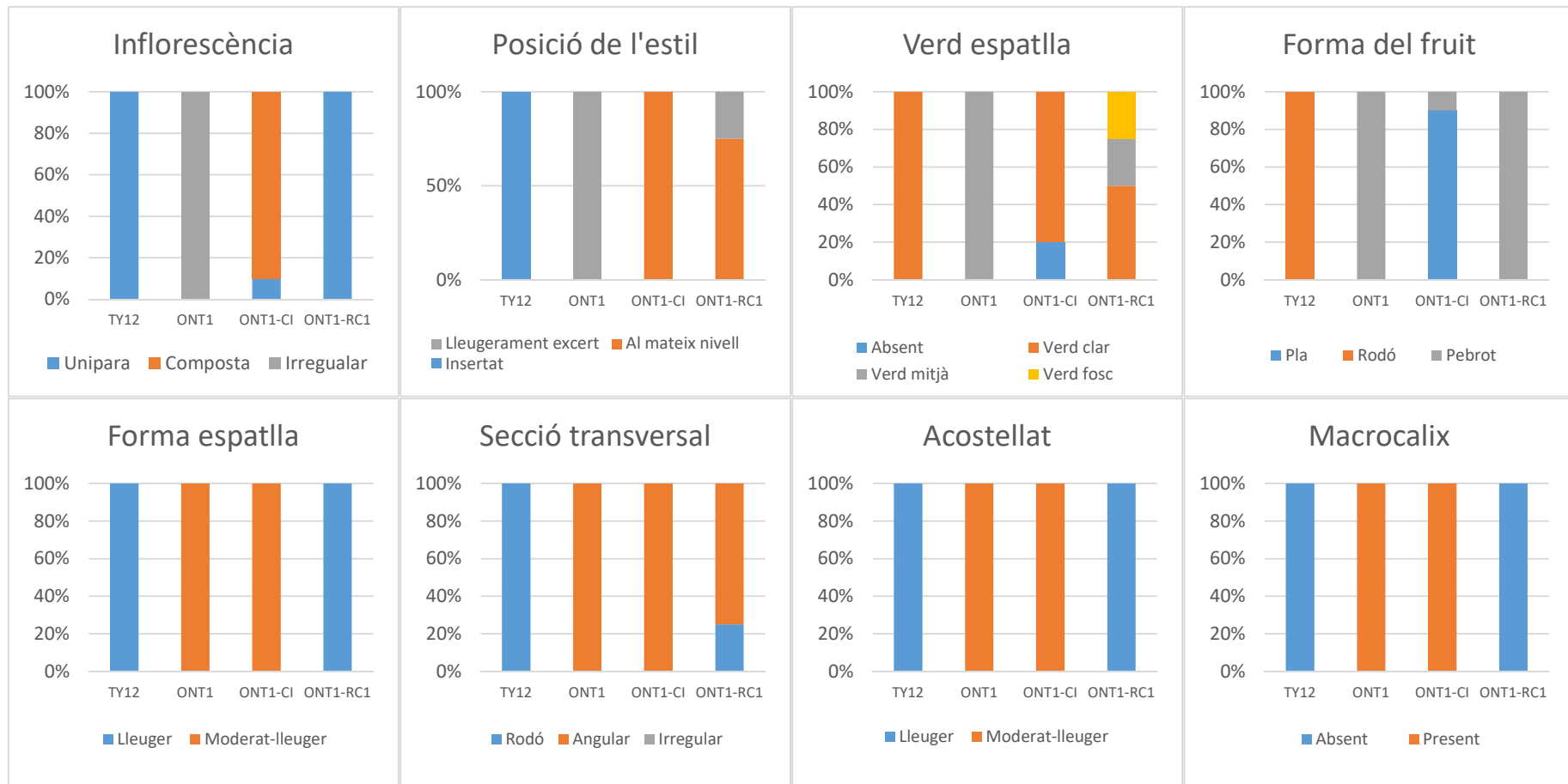
**Figura 12** Representació dels caràcters qualitius de la varietat AG1, marcant com a testimoni la varietat donant TY12. S'hi representen com a AG1 la varietat original en el primer cicle; AG1 CI la generació híbrida entre la línia recurrent i la donant; AG1 RC1 com a primera línia RC1.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



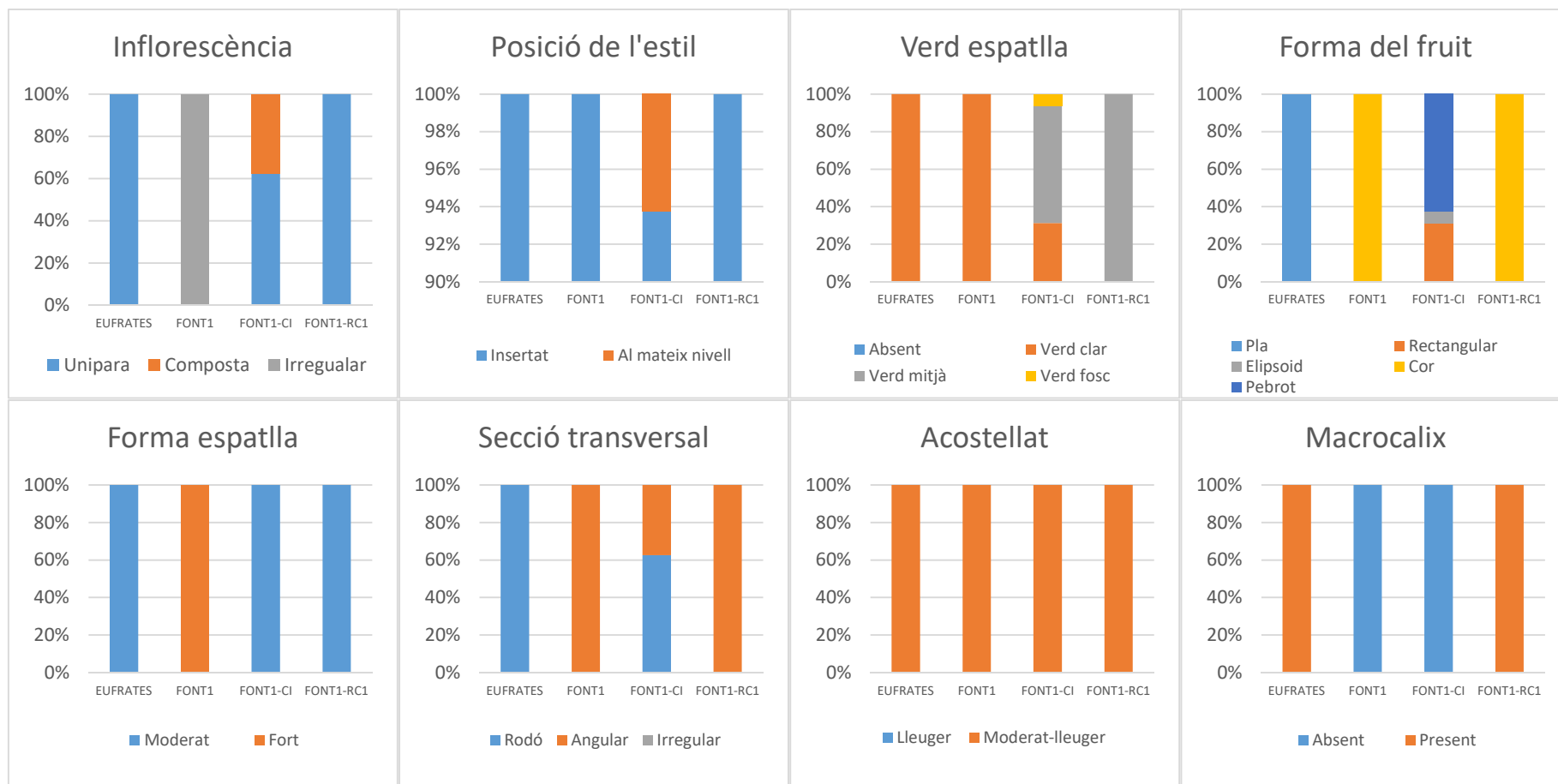
**Figura 13** Representació dels caràcters qualitius de la varietat BOC2, marcant com a testimoni la varietat donant TY12. S'hi representen com a BOC2 la varietat original en el primer cicle; BOC3 CI la generació híbrida entre la línia recurrent i la donant; BOC2 RC1 com a primera línia RC1.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 14** Representació dels caràcters qualitius de la varietat ONT1, marcant com a testimoni la varietat donant TY12. S'hi representen com a ONT1 la varietat original en el primer cicle; ONT1 CI la generació híbrida entre la línia recurrent i la donant; ONT1 RC1 com a primera línia RC1.

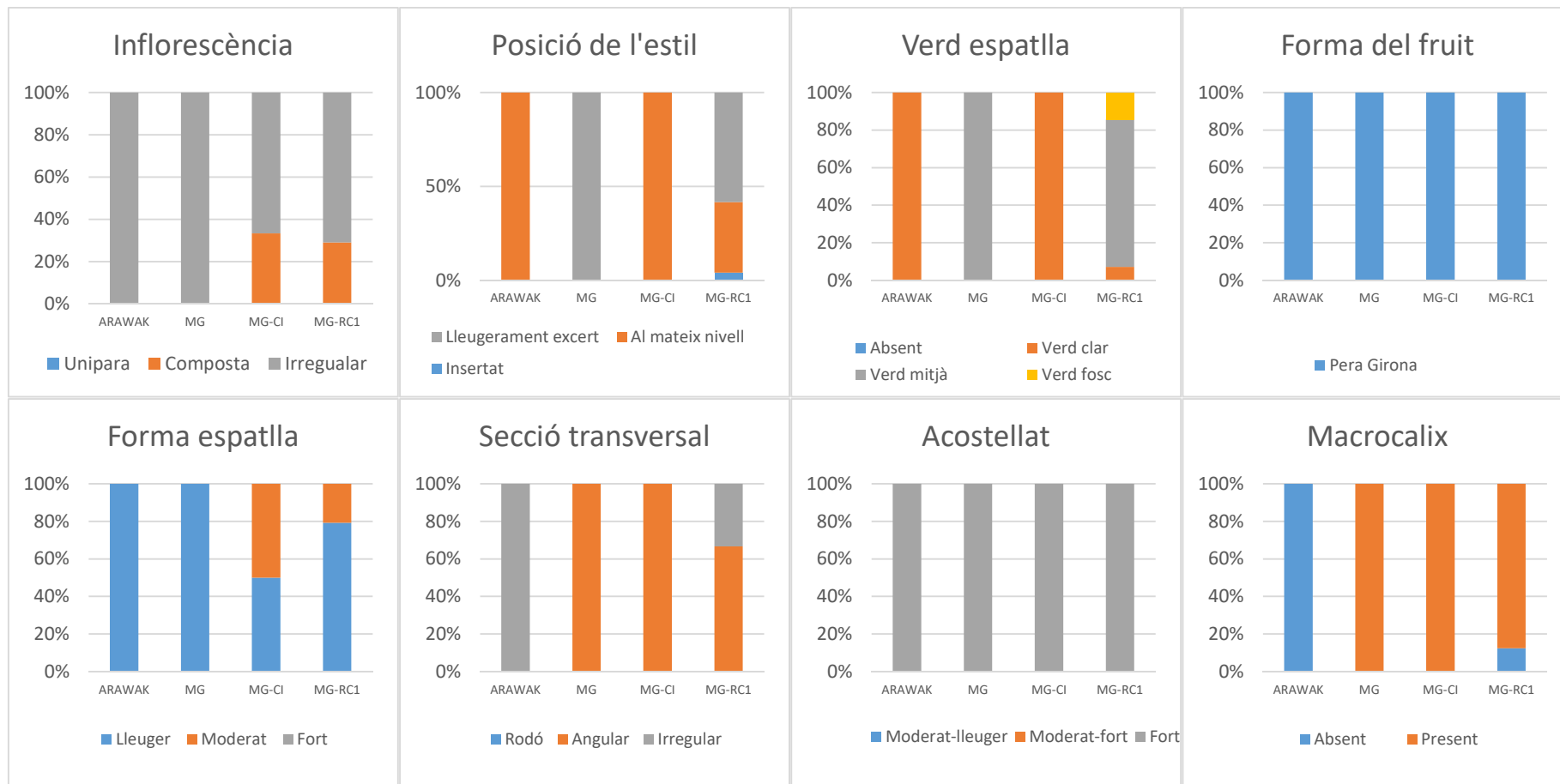
**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 15** Representació dels caràcters qualitatius de la varietat FONT1, marcant com a testimoni la varietat donant EUFRATES. S'hi representen com a FONT1 la varietat original en el primer cicle; FONT1 CI la generació híbrida entre la línia recurrent i la donant; FONT1 RC1 com a primera línia RC1.

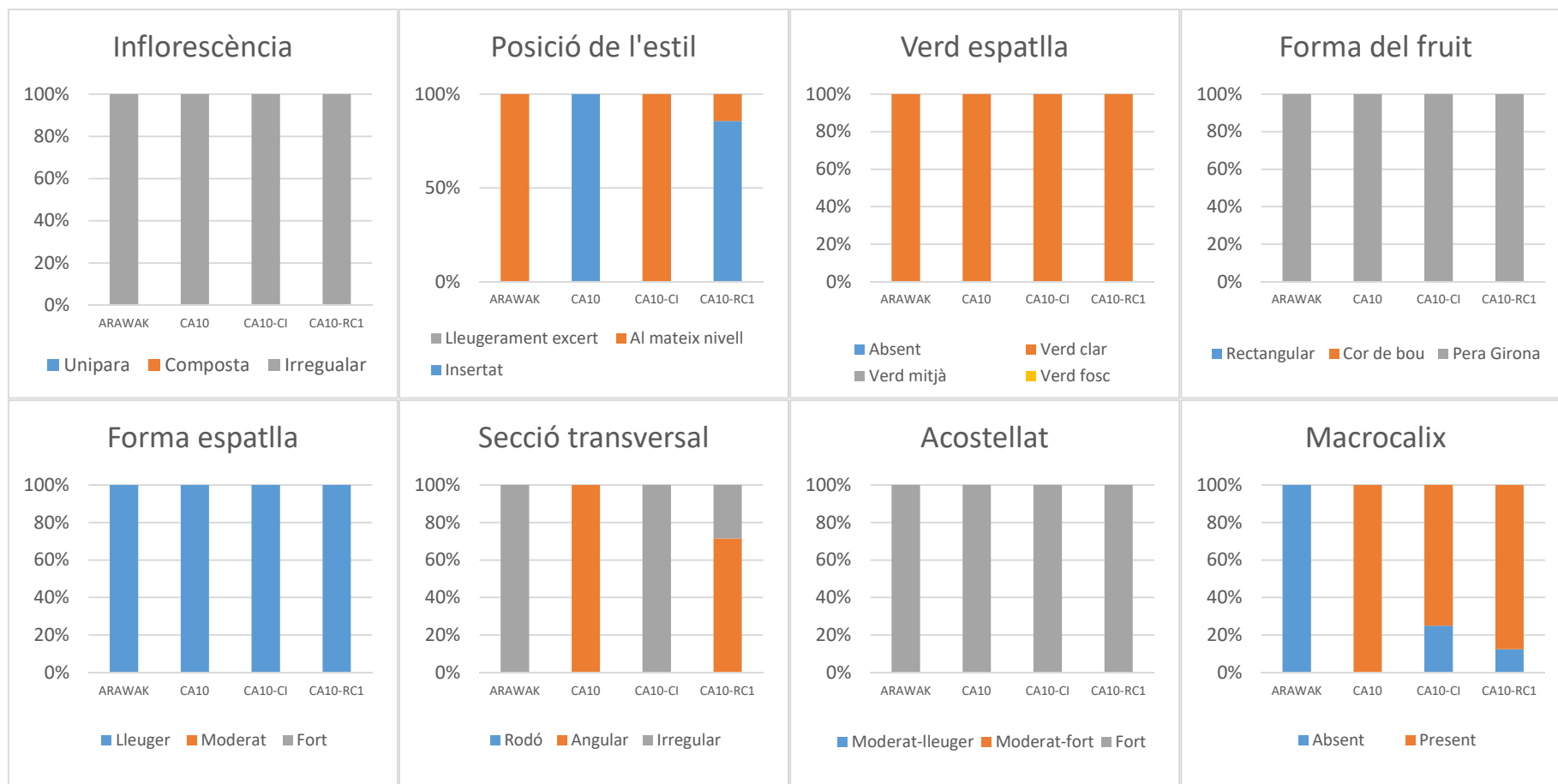


**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 16** Representació dels caràcters qualitius de la varietat MG1, marcant com a testimoni la varietat donant ARAWAK. S'hi representen com a MG1 la varietat original en el primer cicle; MG CI la generació híbrida entre la línia recurrent i la donant; MG1 RC1 com a primera línia RC1.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 17** Representació dels caràcters qualitius de la varietat CA10, marcant com a testimoni la varietat donant ARAWAK. S'hi representen com a CA10 la varietat original en el primer cicle; CA10 CI la generació híbrida entre la línia recurrent i la donant; CA10 RC1 com a primera línia RC1.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

**4.3.2. Caràcters de tipus quantitatiu**

Els caràcters quantitius estudiats són els més representatius de les sis varietats locals i de les tres varietats donants. El que s'ha buscat, són les variables que van permetre diferenciar cada una de les generacions i remarcar la similitud amb la varietat original.

Per a la varietat local 'AG1' (**Figura 17**) la diferència entre la varietat original i la generació RC1 ha estat important en la major part dels caràcters. Únicament trobem similitud en els caràcters de color ( $L$ ,  $a$  i  $b$ ), on la variació és mínima tant entre els dos parentals com en la generació més avançada del retrocreuament. La mínima diferència en el color, pot ser explicada per haver seleccionat dos parentals amb el mateix color extern, reduint així la possible variabilitat fenotípica dins del caràcter.

Els caràcters que han presentat diferència entre la varietat local 'BOC2' (**Figura 18**) i la seva generació RC1 han estat important han sigut: Perímetre, Àrea, Amplada màxima, Altura màxima i Duròmetre. Els caràcters de color, han presentat similitud en el paràmetres  $L$ , d'altra banda, els paràmetres  $a$  i  $b$  han distat notablement entre parental recurrent i generació RC1. El procés de recuperació fenotípica de la varietat local 'BOC2' ha estat deficient en la generació RC1.

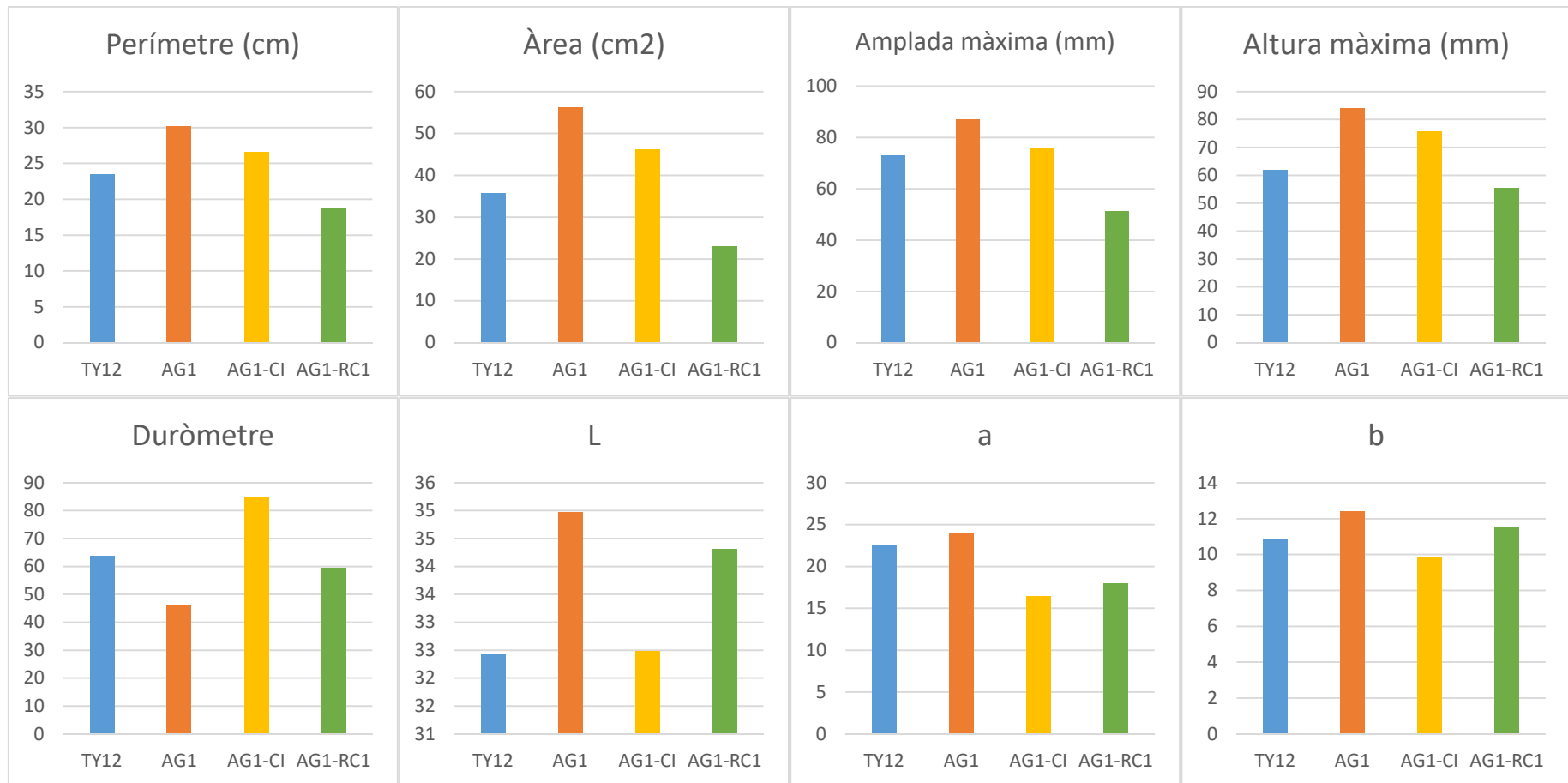
La línia de millora de la varietat local 'ONT1' (**Figura 19**) ha presentat una elevada similitud en els caràcters Perímetre, Amplada màxima, Altura màxima, Duròmetre i els patrons de color  $L$ ,  $a$  i  $b$ . La similitud fenotípica entre els dos parentals ha reduït la potencial variabilitat. L'evolució de recuperació s'ha ajustat al patró desitjat, ja que en la generació CI la diferenciació al parental ha estat pronunciada, mentre que en la generació RC1 la semblança fenotípica al parental recurrent ha remarcat la recuperació del tipus varietal.

La varietat local 'FONT1' (**Figura 20**) presenta uns trets característics diferenciadors respecte els altres tipus varietals. Els caràcters quantitius de Perímetre, Àrea, Duròmetre,  $L$ ,  $a$  i  $b$  han mostrat una baixa diferència entre el parental 'FONT1' i la generació RC1. Pel que fa als caràcters Amplada màxima i Altura màxima, representen quantitativament la forma del fruit. La generació CI ha presentat una diferència important entre aquests dos caràcters, allunyant-se del fenotip objectiu. D'altra banda, a la generació RC1, aquesta similitud sí ha quedat representada, prenent major altura del fruit i menor amplada.

La recuperació fenotípica de la varietat 'MONGRÍ' (**Figura 21**) ha sigut lleugera en la generació RC1, visible per la diferència dels caràcters Perímetre, Amplada màxima, Duròmetre,  $a$  i  $b$ . Com a símbol de la recuperació, s'han trobat el caràcter Àrea, on en el CI ha augmentat i en la RC1 ha mostrat la recuperació fenotípica. El caràcter Altura màxima ha presentat baixa variació. El paràmetre de color  $L$  ha estat similar a la varietat original.

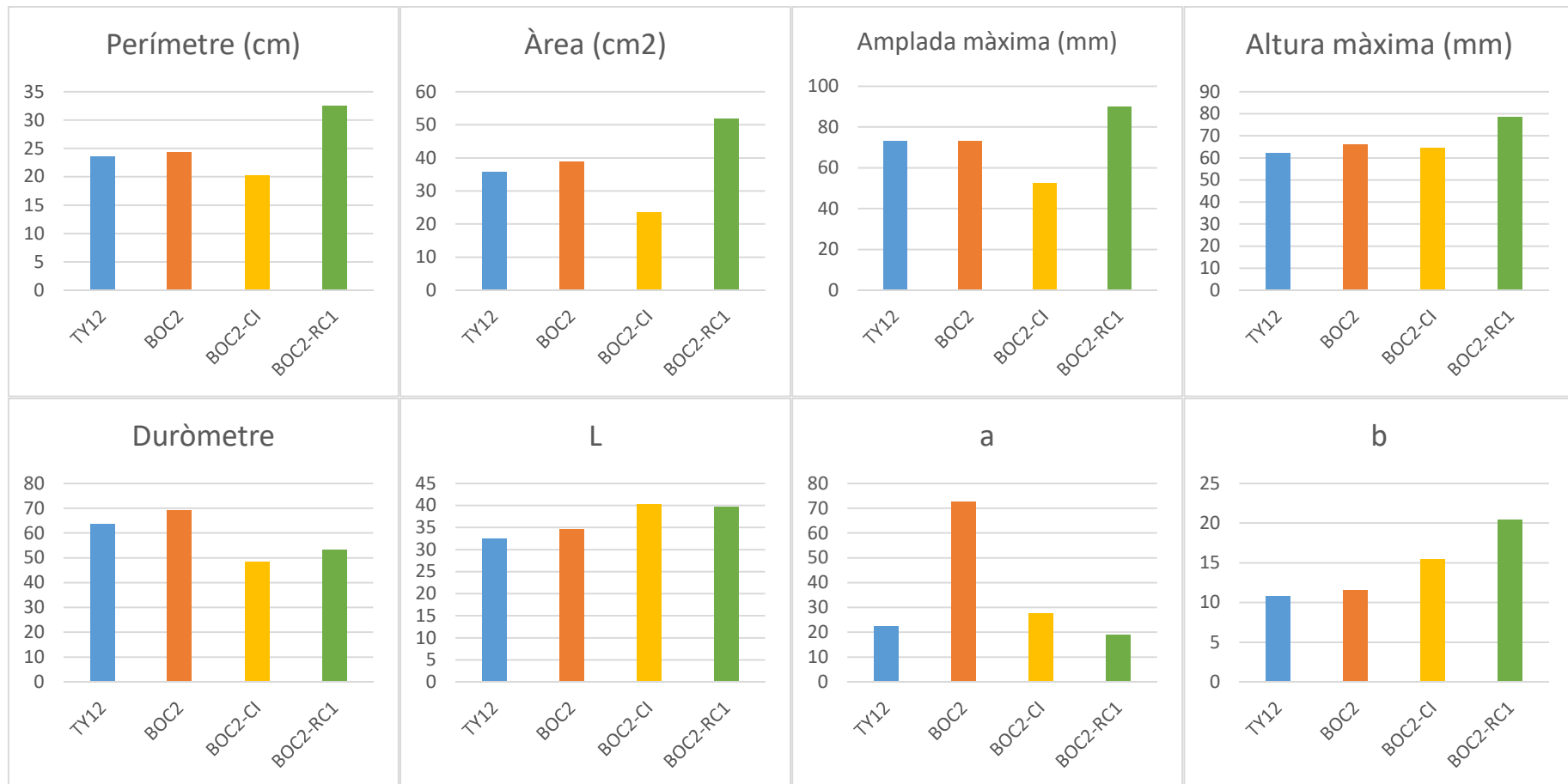
A diferència de 'MONTGRÍ', la varietat 'CA10' (**Figura 22**) ha tingut una millor recuperació fenotípica. Els caràcters que ho han demostrat són: Àrea, Amplada màxima, Altura màxima, Duròmetre i  $L$ . D'altra banda, els caràcters Perímetre,  $a$  i  $b$ , és mantenen distants a la tipologia varietat objectiu.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



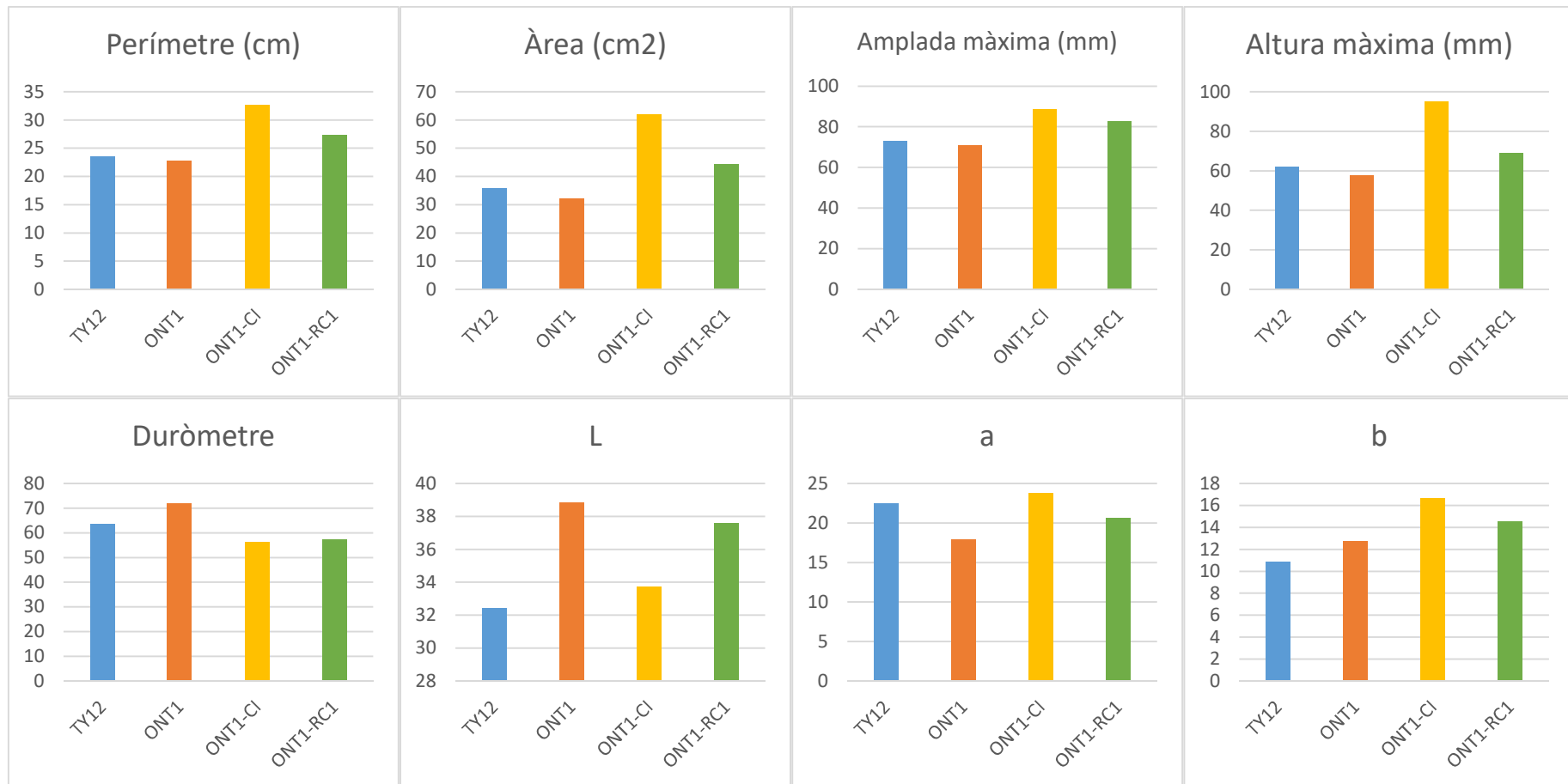
**Figura 18** Caràcters qualitius de la línia de millora AG1, representat el parental donant, el parental recurrent, el primer creuament i el primer retrocreuament.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



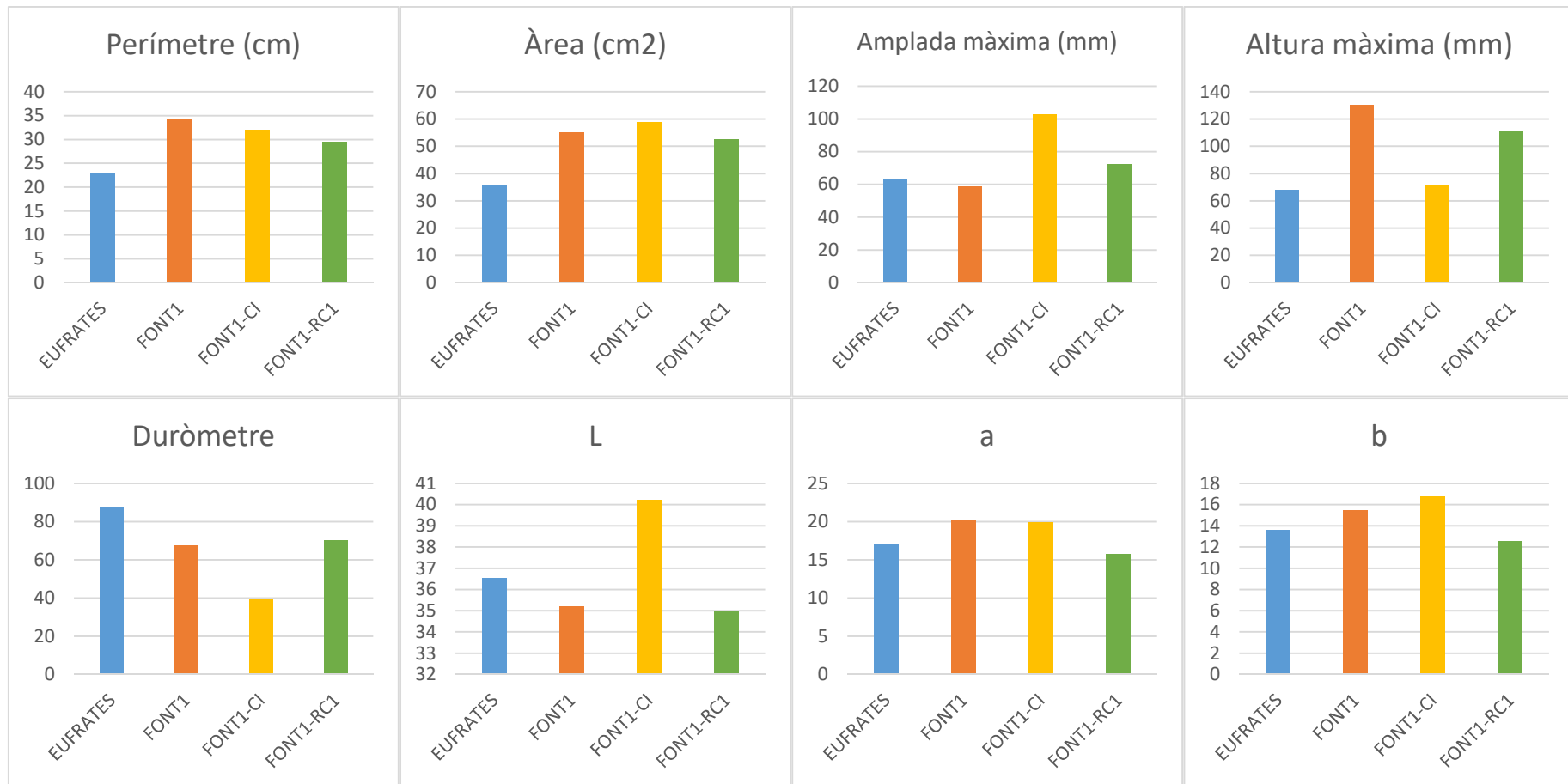
**Figura 19** Caràcters qualitius de la línia de millora BOC2, representat el parental donant, el parental recurrent, el primer creuament i el primer retrocreuament.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



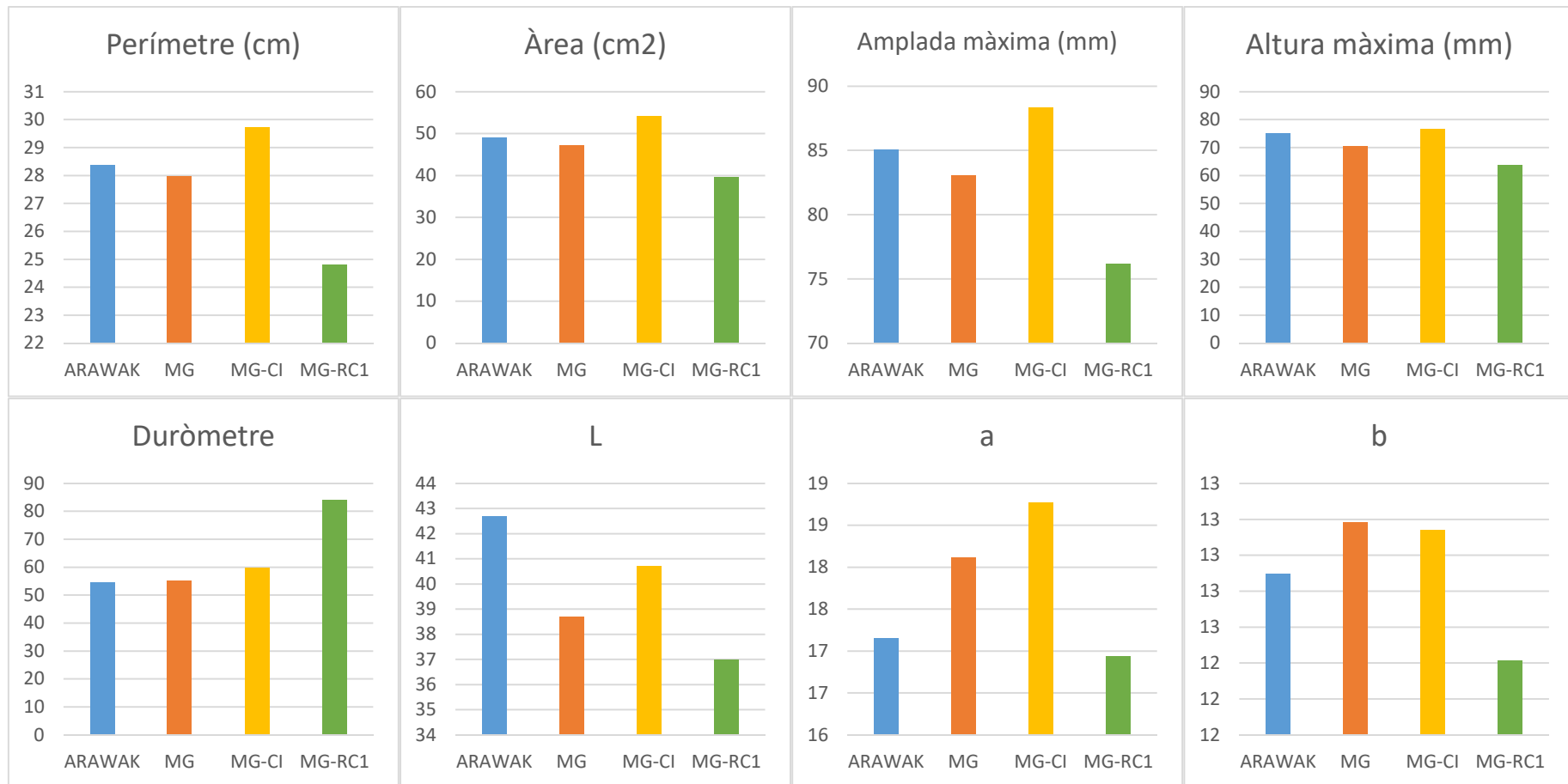
**Figura 20** Caràcters qualitius de la línia de millora ONT1, representat el parental donant, el parental recurrent, el primer creuament i el primer retrocreuament.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 21** Caràcters qualitius de la línia de millora FONT1, representat el parental donant, el parental recurrent, el primer creuament i el primer retrocreuament.

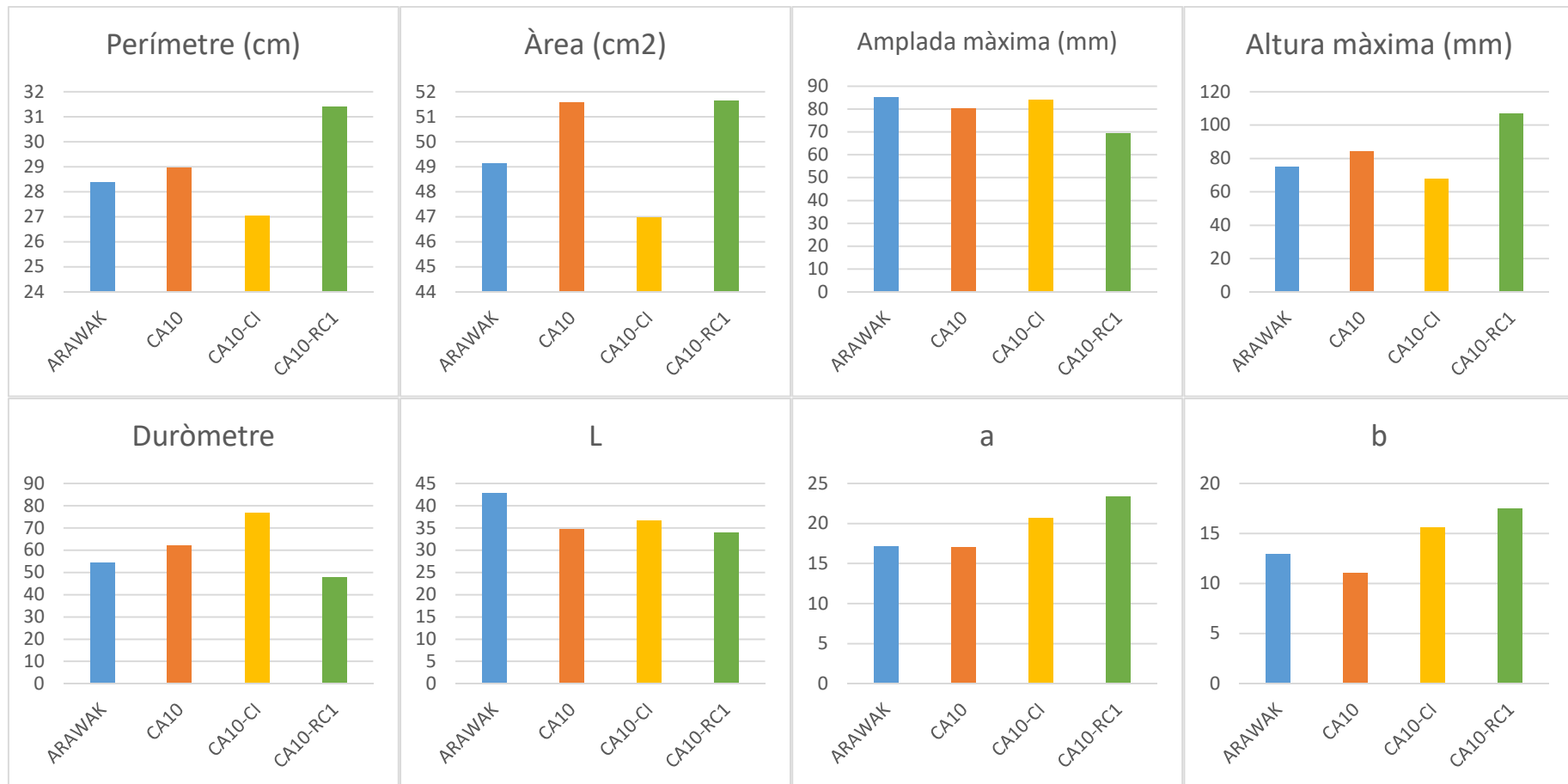
**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 22** Caràcters qualitius de la línia de millora MG, representat el parental donant, el parental recurrent, el primer creuament i el primer retrocreuament.



**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**



**Figura 23** Caràcters qualitius de la línia de millora CA10, representat el parental donant, el parental recurrent, el primer creuament i el primer retrocreuament.

## 5. Conclusions

- 1.- S'ha establert una sèrie de descriptors o característiques que descriuen el ideotip de les 4 varietats locals valencianes a millorar (AG1, BOC2, ONT1 i FONT1) y les dos catalanes (CA10 i MONTGRÍ).
- 2.- S'ha iniciat el programa de millora per retrocreuament per a introduir els gens *Tm2<sup>2</sup>* i *I2* en les 4 varietats locals valencianes i les 2 catalanes. Així s'ha confeccionat les generacions CI, RC1 i RC2.
- 3.- La selecció assistida per marcadors ha permès realitzar dos cicles de cultiu per any. Això permetrà obtindre les 6 varietats locals millorades en aproximadament 8 cicles de cultiu (4 anys).
- 4.- La realització de la selecció assistida per marcadors juntament amb una selecció de les plantes portadores dels gens de resistència per les característiques que defineixen cadascun dels idiotips han permetran una acceleració del programa de millora al possibilitar una recuperació del fenotip de la varietat original més eficaç.
- 5.- L'execució del present programa de millora permetrà disposar de les 6 varietats locals esmentades millorades per a resistència al ToMV i al Fol.

## 6. Referències

- Noor-ul-Ane, Ali Mirhosseini, Crickmore, & Saeed. (2018). Temperature-dependent development of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and its larval parasitoid, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae): implications for species interactions. *Bulletin of Entomological Research*, 295-304.
- Bichseam, K., Nahui, K., Jun Young, K., Byung Sub, K., Hee-Jeong, J., Indoek, H., . . . Younghoon, P. (2015). Development of a high-resolution melting marker for selecting *Fusarium* crown and root rot resistance in tomato. *Genome*, 173-183.
- Biondi, A., Guedes, N., Wan, F.-H., & Desneux, N. (2018). Ecology, Worldwide Spread, and Management of the Invasive South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta*: Past, Present, and Future. *Annual Review of Entomology*, 239-258.
- Borràs, D. (2016). Millora genètica de la "tomaca Valenciana" d'El Perelló per a la resistència al Virus del Mosaic de la Tomaca (Tomato Mosaic Virus, ToMV). *Universitat Politècnica de València*.
- Bota, J., Conesa, M., Ochogavía, J., Medrano, H., Francis, D., & Cifre, J. (2014). Characterization of a landrace collection for Tomàtiga de Ramellet (*Solanum lycopersicum* L.) from the Balearic Islands. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61:1131-1146.
- Casals, J., Bosch, L., Casañas, F., Cebolla, J., & Nuez, F. (2010). Montgrí, a Cultivar within the Montserrat Tomato Type. *Hort Science*, 1885-1886.
- Casals, J., Pascual, L., Cañizares, J., Cebolla-Cornejo, J., Casañas, F., & Nuez, F. (2012). Genetic basis of long shelf life and variability into Penjar tomato. *Springer*, 59:219–229. doi:10.1007/s10722-011-9677-6
- Casañas, F., Simó, J., Casals, J., & Prohens, J. (2017). Toward an Evolved Concept of Landrace. *Frontiers in Plant Science*, 8:145. doi:10.3389/fpls.2017.00145
- Chiang, F., & Landrum, L. (2009). Vascular Plants of Arizona: Solanaceae Part Three: *Lycium*. *Canotia*, 17-26.
- Conesa, M., Galmés, J., Ochogavía, J., March, J., Jaume, J., Martorell, A., . . . Cifre, J. (2014). The postharvest tomato fruit quality of long shelf-life Mediterranean landraces is substantially influenced by irrigation regimes. *Postharvest Biology and Technology*, 93: 114-121.
- Doyle, J., & Doyle, J. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1):11-15.
- Figàs, M., Martín, A., Casanovas, C., Soler, E., Prohens, J., & Soler, S. (2017). Millora genètica de la tomaca 'Valenciana d'El Perelló' per a resistència al virus del mosaic de la tomaca (Tomato Mosaic Virus, TOMV). In S. Soler Alexandre, M. Figàs Moreno, & J. Prohens Tomàs, *I Congrés de la Tomaca Valenciana: La Tomaca Valenciana d'El Perelló* (pp. 115-). València: Universitat Politècnica de València. doi:http://dx.doi.org/10.4995/TOMAVAl2017.2017.6525
- Figàs, M., Prohens, J., Fernandez-de-Cordoba, P., Fita, A., & Soler, S. (2014). Characterization of a collection of local varieties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) using conventional descriptors and the high-throughput

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

- phenomics tool Tomato Analyzer. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 189-204. doi:<https://doi.org/10.1007/s10722-014-0142-1>
- Figàs, M., Prohens, J., Raigón, M., Fernández-de-Córdova, P., Fita, A., & Solera, S. (2015). Characterization of a collection of local varieties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) using conventional descriptors and the high-throughput phenomics tool Tomato Analyzer. *Genet Resour Crop Evolution*, 189.
- Figàs, M., Prohens, J., Raigón, M., Fita, A., García-Martínez, M., Casanova, C., . . . Soler, S. (2015). Characterization of composition traits related to organoleptic and functional quality for the differentiation, selection and enhancement of local varieties of tomato from different cultivar groups. *Elsevier*, (187) 517-524.
- Fontanet, X., & Vila, A. (2014). *Plagas y enfermedades en hortalizas y frutales ecológicos*. Estella: La Fertilidad de la Tierra Ediciones.
- Fort, F., Baig, C., Puig, T., Barbera, N., Canals, J., & Zamora, F. (2010). Identificació i tipificació de varietats de *Vitis vinifera* L. autoctones o bé molt arrelades als Països Catalans. *V Congrés de la ICEA, Cent Anys d'Agricultura Catalana*, 687-696.
- Fry, W. (2016). Phytophthora infestans: New Tools (and Old Ones) Lead to New Understanding and Precision Management. *Annual Review of Phytopathology*, 529-547.
- Ghanim, & Czosnek. (2016). Interactions Between the Whitefly Bemisia tabaci and Begomoviruses: Biological and Genomic Perspectives. *Management of Insect Pests to Agriculture*. Springer, 181-200.
- Hoisington, D., Khairallah, M., Reeves, T., Ribaut, J.-M., Skovmand, B., Taba, S., & Warburton, M. (1999). Plant genetic resources: What can they contribute toward increased crop productivity? *Plants and Population: Is There Time?* (p. 5937-5943). Irvine, CA: National Academy of Science.
- IPGRI. (1996). *Descriptors for tomato (Lycopersicon spp.)*. Rome (Italy): IPGRI.
- Krishnamoorthy, & Bhaskaran. (1990). Biological control of damping-off disease of tomato caused by Pythium indicum Balakrishnan. *Journal of Biological Control*, 52-54.
- Lanfermeijer, F., Dijkhuis, J., Sturre, M., de Haan, P., & Hille, J. (2003). Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene Tm-22 from Lycopersicon esculentum. *Plant Molecular Biology* 52, 1039-1051.
- Lanfermeijer, F., Warmink, J., & Hille, J. (2005). The products of the broken Tm-2 and the durable Tm-22 resistance genes from tomato differ in four amino acids. *Journal of Experimental Botany* 56, 2925-2933.
- Lara Minda, M. (2017). Caracterización Morfológica y Agronómica de una colección de Variedades de Tomate y Pimiento de la Comarca de la Vall d'Albaida. *Universitat Politècnica de València; Treball Final de Màster*, 1-144.
- Mordor Intelligence. (2018). *Global Tomato Seeds Market - Segmented by Geography - Growth, Trends and Forecasts (2018 - 2023)*. Hyderabad (Índia): Mordor Intelligence.
- Oliveira, de Resende, Maluf, Luccini, de Lima Filho, de Lima, & Nardi. (2018). Trichomes and Allelochemicals in Tomato Genotypes Have Antagonistic Effects Upon Behavior and Biology of Tetranychus urticae. *Front Plant Sci.*, 1132.

**Millora genètica de quatre varietats locals de tomàquet de la Vall d'Albaida i dues varietats locals de tomàquet de Catalunya per a resistència al Virus del Mosaic del Tomàquet (ToMV) i al fong *Fusarium oxysporum* f. sp.**

- Rechner, Laurenz, & Hondermann. (2017). Local and systemic interactions of *Aulacorthum solani* and *Myzus persicae* on tomato. *Plant Dis Prot*, 289.
- Rodríguez, G., Strecker, J., Brewer, M., Gonzalo, M., Anderson, C., Lang, L., . . . van der Knaap, E. (2010). Tomato Analyzer User Manual Version 3 .
- Rodríguez, M., & Morar Catala, R. (2007). *Estadística Informàtica: casos y ejemplos con el SPSS*. Alicante: Sevicios de Publicaciones Universidad de Alicante. doi:ISBN 13; 9788479086381
- Sacco, A., Ruggieri, V., Parisi, M., Festa, G., Rigano, M., Picarella, M., . . . Barone, A. (2015). Exploring a Tomato Landraces Collection for Fruit-Related Traits by the Aid of a High-Throughput Genomic Platform. *PLoS ONE*, 10(9): e0137139.
- Shi, A., Vierling, R., Grazzini, R., Chen, P., Caton, H., & Panthee, D. (2011). Molecular Markers for Tm-2 Alleles of Tomato Mosaic Virus Resistance in Tomato. *American Journal of Plant Sciences*, 180-189. doi:10.4236/ajps.2011.22020
- Simons, Groenendijk, Wijbrandi, & Reijan. (1998). Simons, Guus, et al. "Dissection of the *Fusarium* I2 gene cluster in tomato reveals six homologs and one active gene copy. *The Plant Cell*, 1055-1068.
- Soler, S., & Nuez, F. (2004). Genes de resistència en cultivos hortícolos. A F. Nuex, P. M., & C. J.M., *Resistencia genética a patógenos vegetales*. Valencia: EDITORIAL DE LA UPV.
- Soler, S., Prohens, J., Lopez, C., Aramburu, J., Galipienso, L., & Nuez, F. (2010). Viruses Infecting Tomato in Valencia, Spain: Occurrence, Distribution and Effect of Seed Origin. *Journal of Phytopathology*, 797-805.
- Yi Chuan. (2008). A co-dominant molecular marker of fusarium wilt resistance gene I-2 derived from gene sequence in tomato. *Yi Chuan*, 30(7):926-32.
- Zeven, A. (1998). Landraces: A review of definitions and classifications. *Euphytica*, 127-139.