



Desenvolupament de línies de ‘Tomata Valenciana’ multirresistents a malalties fúngiques, víriques i ocasionades per nemàtodes

Development of ‘Valencian Tomato’ lines multi-resistant to fungal viral and nematodes diseases

María del Rosario Figàs Moreno, Miquel Martínez Busó, Ramón Gabriel Rico, Cristina Casanova Calancha, Elena Soler Calabuig, Jaime Prohens Tomás i Salvador Soler Aleixandre

Institut de Conservació i Millora de l’Agrodiversitat Valenciana, Universitat Politècnica de València, 46022 València, Espanya, mfimo@upvnet.upv.es.

How to cite: Pérez-Martínez, J.A.; Nombre Autor y Nombre Autor. 2024. Título de la Comunicación. En libro de actas: *II Congrés de la Tomata Valenciana. L’Autèntica*. València, 30 de maig de 2024. <https://doi.org/10.4995/TOMAVALE2024.2024.18685>

Abstract

*The ‘Tomata Valenciana’ as a traditional tomato variety is affected by multiple diseases that limit its yield, and for which no genetic improvement has been made. Among the diseases that affect it most importantly are those caused by the Tomato mosaic virus (ToMV), the Tomato spotted wilt virus (TSWV), the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, the fungus *Vericillium* spp. and nematodes of the genus *Meloidogyne*. In this context, an improvement program has been carried out for the introduction of resistance genes to the aforementioned diseases in different combinations. This has made it possible to generate a set of lines or varieties of the ‘Tomata Valenciana’ that will allow the cultivation of the ‘Tomata Valenciana’ with fewer losses caused by the incidence of diseases. In addition, the consumption of pesticides will decrease to control the incidence of diseases. In conclusion, more competitive varieties have been made available to farmers that will allow for more profitable cultivation of the ‘Tomata Valenciana’.*

Keywords: *tomato, genetic improvement, resistance, viruses, fungus, traditional varieties*

Resum

La 'Tomata Valenciana' com a varietat tradicional de tomata es veu afectada per múltiples malalties que en limiten el rendiment, i per a les quals no s'ha realitzat cap millora genètica. Entre les malalties que l'afecten de manera més important hi ha les causades pel virus del mosaic de la tomata (ToMV), el virus del bronzejat de la tomata (TSWV), el fong *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, el fong *Verticillium* spp. i nemàtodes del gènere *Meloidogyne*. En aquest context s'ha executat un programa de millora per retrocreuaments per a la introducció de gens de resistència a les malalties esmentades en diferents combinacions. Això ha permès generar un conjunt de línies o varietats de la 'Tomata Valenciana' que permetran un cultiu d'aquesta amb menors pèrdues causades per la incidència de malalties. A més, disminuirà el consum de pesticides per controlar la incidència de malalties i plagues. En conclusió, s'han posat a disposició dels agricultors varietats més competitives que permetran realitzar un cultiu de la 'Tomata Valenciana' més rendible.

Palabras clave: tomata, millora genètica, resistència, virus, fongs, varietats tradicionals

1. Introducció

La 'Tomata Valenciana' és una varietat tradicional valenciana de tomata amb excepcionals característiques de qualitat organolèptica i un dels productes hortícoles més característics de l'horticultura valenciana. En els darrers anys ha quedat de manifest la necessitat de valoritzar-ne el cultiu, de manera que l'augment tant de la superfície cultivada com el volum de producció siguem un fet i es consolide com un dels productes agraris que contribuïsquen de manera important a la rendibilitat dels agricultors valencians (Soler et al., 2022). No obstant això, la incidència de malalties com les causades pel virus del mosaic de la tomata (*Tomato Mosaic virus*, ToMV), el virus del bronzejat de la tomata (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), fongs com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) o *Verticillium* sp. (VE) i nematodes del gènere *Meloidogyne* (N) constitueixen una seriosa amenaça a l'obtenció de produccions rendibles per part dels agricultors que cultiven varietats tradicionals de tomata (Soler et al., 2010) i en particular de la 'Tomata Valenciana' (Figàs et al., 2017).

La resistència al ToMV i al TSWV conferida pels gens *Tm2²* i *Sw5* està permetent actualment el control de les malalties produïdes per aquests virus en el cultiu de la tomata. És també el cas de les malalties fúngiques ocasionades per FOL i VE que estan sent contralades mitjançant la incorporació dels gens *I2* i *Ve1*, i dels problemes causats per nematodes del gènere *Meloidogyne* (gen *Mi*). Tot i això, les varietats tradicionals no han estat motiu d'inclusió en programes de millora genètica a malalties, mitjançant la introducció de aquests gens de resistència. La introgressió d'aquestes resistències en varietats tradicionals pot contribuir de manera decisiva a la seva valorització i potenciació del seu cultiu (García-Martínez et al., 2015), mantenint sempre

les característiques de qualitat (García-Martínez et al., 2012). En aquest sentit, disposar de varietats de 'Tomata Valenciana' millorades per a resistència a aquestes malalties és estratègic per als agricultors de l'Associació de Productors i Comercialitzadors de la Tomata Valenciana (APCTV). En aquest treball, s'ha abordat la incorporació de resistència genètica a les malalties esmentades. La introgressió de resistència a virus, fongs i nematodes en varietats de 'Tomata Valenciana' permetrà que els agricultors disposin de varietats més competitives amb més rendiment i el cultiu de les quals requereixi un menor nivell d'ús de pesticides per controlar insectes vectors transmissors de virus o de tractaments de desinfecció del sòl en el cas de fongs i nematodes (Figàs et al., 2015).

2. Objectiu

L'objectiu d'aquest treball ha estat obtenir línies de 'Tomata Valenciana' multiresistents a malalties fúngiques, víriques i causades per nemàtodes, mitjançant l'execució d'un programa de millora genètica per retrocreuament. En aquest programa, s'han millorat dues varietats de 'Tomata Valenciana' per a resistència a ToMV, TSWV, FOL, VE i N (una de tipus 'Masclat' i altra de tipus 'Blanca').

3. Material i mètodes

3.1. Material vegetal

Es van emprar les entrades SL-Meliana-1 (tipus 'Masclat') o 'FE' i SL-Meliana-3 (tipus 'Blanca') o 'FJO' com a parentals recurrents de 'Tomata Valenciana' elegits a partir de la caracterització morfològica, agronòmica i de composició realitzada amb anterioritat. Es va utilitzar com a parental donant la línia SOL.11.2, donant dels gens *Tm2²*, *Sw5*, *I2*, *Ve1* i *Mi* que confereixen resistència al virus del mosaic de la tomata (*Tomato mosaic virus*, ToMV), el virus del bronzejat de la tomata (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium* sp. i nematodes del gènere *Meloidogyne* respectivament.

3.2. Programa de millora utilitzat

S'ha fet un programa de retrocreuament per a la introgressió d'aquests gens de resistència. Es pretén obtenir 8 combinacions de gens de resistència diferents per a cada varietat: una amb només *Tm2²*, 3 amb *Tm2²* i un altre gen (*Tm2² + Sw5*, *Tm2² + I2*, i *Tm2² + Ve1*), 3 amb *Tm2²* i dos gens més (*Tm2² + Sw5 + I2*, *Tm2² + Sw5 + Ve1*, i *Tm2² + I2 + Ve1*), i una amb les quatre combinacions de gens (*Tm2² + Sw5 + I2 + Ve1*).

En el cas de la resistència a nematodes es va desenvolupar la combinació $Tm2^2 + Mi$.

Els cicles de creuaments desenvolupats fins ara són:

- Cicle primavera-estiu de 2021, encreuament inicial FE x SOL.11.2 i FJO x SOL.11.2 (Borbotó, Julio Quilis).
- Cicle tardor-hivern de 2021, primer retrocreuament cap a FE i FJO (Borbotó, Julio Quilis).
- Cicle primavera-estiu de 2022, segon retrocreuament cap a FE i FJO (Borbotó, Julio Quilis).
- Cicle tardor-hivern de 2022, tercer retrocreuament cap a FE i FJO (Borbotó, Julio Quilis).
- Cicle primavera-estiu de 2023, quart retrocreuament cap a FE i FJO (Borbotó, Julio Quilis).
- Cicle tardor-hivern de 2023, autofecundació del quart retrocreuament cap a FE i FJO (Alboraia, Juan Giner) (Figura 1).
- Cicle de primavera-estiu del 2024, selecció d'individus amb gens de resistència fixats en homocigosi i obtenció de llavor d'autofecundació (Alboraia, Juan Giner) (Figura 2).



Fig. 1 Plantació dels quarts retrocreuaments de la 'Tomata Valenciana' per a introduir resistència a malalties (esquerra) i plantes adultes amb pomells de flors embosat per aconseguir llavor de autofecundació en el cicle tardor-hivern de 2023 (dreta)



Fig. 2 Hivernacle amb plantes seleccionades per presentar distintes combinacions de gens de resistència en homocigosis en cicle de primavera-estiu de 2024

3.3. Marcadors moleculars utilitzats

Per a la selecció de les plantes portadors dels gens de resistència a cadascuna de les generacions de retrocreuament es van emprar marcadors moleculars per a cadascun dels gens. Els marcadors utilitzats van ser els següents:

- Un marcador tipus PCR codominant per a la detecció del gen *Sw5* (Dianese et al., 2010) (Figura 3).
- Un marcador tipus PCR codominant per a la detecció del gen *I2* (Staniaszek et al., 2007) (Figura 4).
- Un marcador tipus High Resolution Melting (HRM) per a la detecció del gen *Tm2²* (Panthee et al., 2013) (Figura 5).
- Un marcador tipus HRM per a la detecció del gen *Vel* (Acciarri et al., 2007) (Figura 6).
- Un marcador tipus PCR per a la detecció del gen *Mi* (El-Sappah, et al., 2019) (Figura 7).

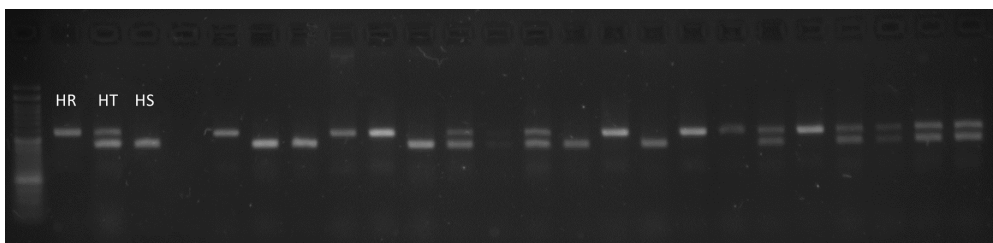


Fig. 3 Electroforesis per a la detecció de les plantes portadores del gen *Sw5* utilitzant un marcador tipus PCR

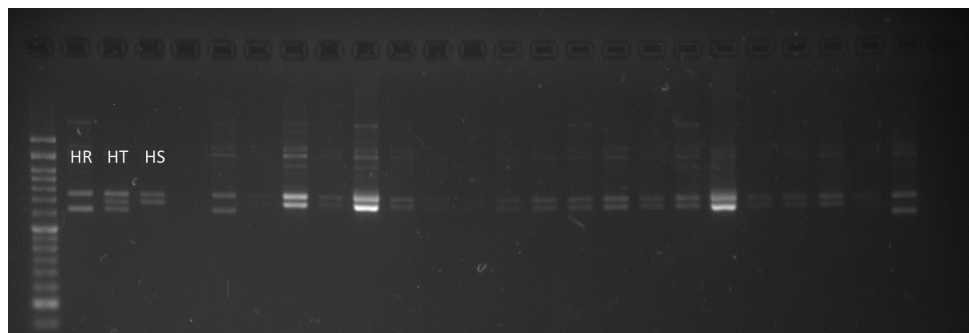


Fig. 4 Electroforesis per a la detecció de les plantes portadores del gen *I2* utilitzant un marcador tipus PCR

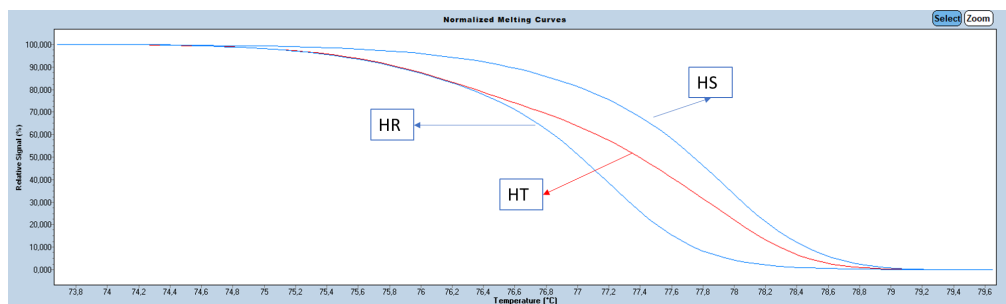


Fig. 5 Gràfic HRM del gen *Tm2*²

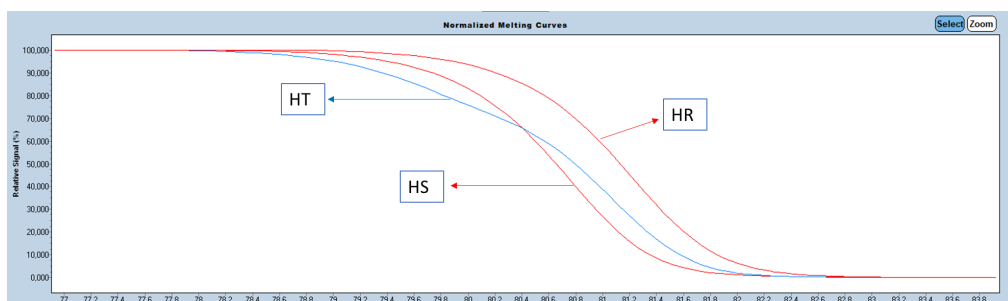


Fig. 6 Gràfic HRM del gen *Vel*

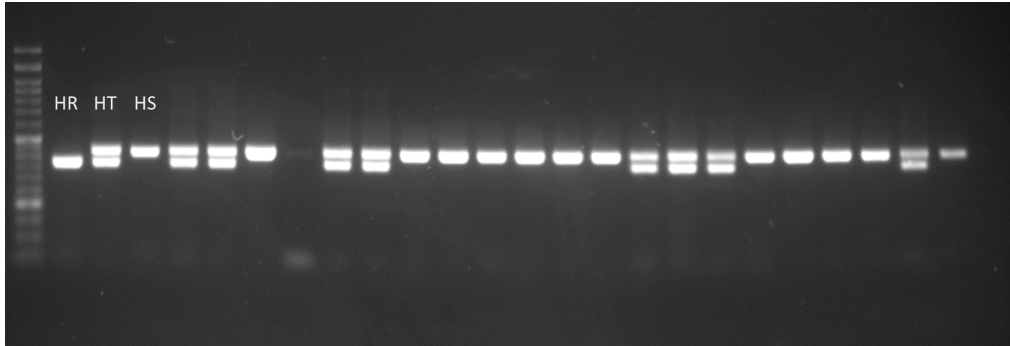


Fig. 7 Electroforesis per a la detecció de les plantes portadores del gen *Mi* utilitzant un marcador tipus PCR

4. Resultats i discussió

En el cicle de primavera-estiu del 2021 es va realitzar el creuament inicial entre les entrades FE (valenciana tipus ‘Masplet’) i FJO (valenciana tipus ‘Blanca’) i la línia SOL.11.2. Es va obtenir llavor d'aquests creuaments a finals de juliol de 2021. Al setembre de 2021 es van posar plantes dels creuaments inicials (CI) obtinguts amb les varietats recurrents i es va comprovar que les plantes dels dos CI presenten en heterocigosi els gens *Tm2²*, *Ve1*, *Sw5* i *l'12*. Al desembre de 2021 es disposava de les llavors del retrocreuament 1 (RC1) cap a les dues entrades de ‘Tomata Valenciana’. L'abril del 2022, es van disposar en hivernacle plantes dels dos RC1 i, a partir de la selecció d'aquestes per marcadors, es va obtenir llavor dels segons retrocreuaments (RC2) el juliol del 2022. L'agost d'aquest any es van preparar planters de les RC2 amb les dues tipologies de ‘Tomata Valenciana’. L'octubre del 2022 es va realitzar, mitjançant selecció assistida amb marcadors moleculars, la selecció de les plantes de les dos RC2 portadores de les diferents combinacions de gens i el desembre del 2022 es va obtenir llavor de la RC3. Seguint amb el programa de retrocreuaments, es va obtenir el juliol de 2023 llavors de la generació RC4 per als dos tipus de Tomata Valenciana. Fins a aquesta generació el cultiu de les plantes es va realitzar a l'hivernacle de Borbotó.

El setembre del 2023 es va passar a cultivar les plantes de les generacions RC4 en un hivernacle d'Alboraia. Es va procedir a la selecció de les plantes portadores de les diferents combinacions de gens desitjades. A més, en aquest punt es va comptar amb la col·laboració de l'agricultor (Juan Giner) per a la selecció d'aquelles plantes que portant els gens de resistència d'interès presentaven les millors característiques de les dos tipologies de ‘Tomata Valenciana’ (Figura

8). D'aquesta manera, el desembre del 2023 es va obtenir sobre les plantes de RC4 seleccionades llavor d'autofecundació.



Fig. 8 Pomell de fruits de la línia 5.17 (esquerra) i 5.58 (dreta) de ‘Tomata Valenciana’ amb la combinació de gens $Tm2^2 + Vel$

Es va posar al febrer de 2024 plantes en camp de cadascuna de les autofecundació de RC4 (RC4S1) seleccionades al cicle anterior. A l'abril es va procedir a la selecció a les RC4S1 de les plantes portadores de les combinacions de gens de resistència referenciades en homocigosi (Taula 1).

Taula 1. Relació del nombre de plantes de les varietats de ‘Tomata Valenciana’ FE i FJO amb les distintes combinacions de gens de resistència a malalties fixats en homocigosi

Combinació de gens de resistència	Nº de plantes seleccionades per al tipus FE (tipus ‘Mascler’)	Nº de plantes seleccionades per al tipus FJO (tipus ‘Blanca’)
$Tm2^2$	10	16
$Tm2^2 + I2$	4	1
$Tm2^2 + Sw5$	5	3
$Tm2^2 + Vel$	6	12
$Tm2^2 + I2 + Sw5$	4	2
$Tm2^2 + I2 + Vel$	8	1
$Tm2^2 + Sw5 + Vel$	3	5
$Tm2^2 + I2 + Sw5 + Vel$	4	2
$Tm2^2 + Mi$	6	7

En l'actualitat s'està procedint a l'embossament de pomells de flors de les plantes de RC4S1 per a l'obtenció de llavor d'autofecundació per a la realització d'experiments per a determinar-ne el comportament en diferents condicions d'infecció per patògens, així com per a transferir-les als agricultors de l'APCTV.

5. Conclusions

El desenvolupament del programa de millora descrit permetrà posar a la disposició dels agricultors valencians varietats de 'Tomata Valenciana' amb diferents combinacions de gens de resistència a les malalties que afecten de forma important aquesta varietat tradicional. A més, l'agricultor podrà triar la combinació de gens que li siga més útil en funció quin patògen siga el que presente incidència a la seua zona de cultiu.

El cultiu de les línies o varietats de la 'Tomata Valenciana' permetran un cultiu d'aquesta amb menors pèrdues causades per la incidència de malalties. A més, disminuirà el consum de pesticides per controlar la incidència de malalties i plagues. En conclusió, s'han posat a disposició dels agricultors varietats més competitives que permetran realitzar un cultiu de la Tomata Valenciana més rendible.

6. Agraïments

Aquest estudi forma part del programa AGROALNEXT i està recolzat pel Ministeri de Ciència i Innovació (MICIU) amb finançament de la Unió Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) i la Generalitat Valenciana.

Els autors agraeixen també als agricultors Julio Quilis Siurana i Juan Giner per la seua contribució al present treball i a l'Associació de Productors i Comercialitzadors de la Tomata Valenciana pel seu suport.

7. Referències

- Acciarri, N., Rotino, G.L., Tamietti, G., Valentino, D., Voltattomi, S., Sabatini, E. 2007. Molecular markers for Ve1 and Ve2 Verticillium resistance genes from Italian germplasm. *Plant Breeding*, 126: 617-621.
- Dianese, E.C., Fonseca, M.E.N., Goldbach, R., Kormelink, R., Inoue-Nagata, A.K., Resende, R.D., Boiteux, L.S. 2010. Development of locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Molecular breeding*, 25: 133-142.
- El-Sappah, A.H.; Islam M.M.; El-awady, H.H.; Yan, S.; Qi, S.; Liu, J.; Cheng, G.; Liang, Y. 2019. Tomato Natural Resistance Genes in Controlling the Root-Knot Nematode. *Genes*, 10: 925.

- Figàs, M.R.; Martín, A.; Casanova, 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). I Congrés de la Tomaca Valenciana: La Tomaca Valenciana d'El Perelló, pp. 115-127.
- Figàs, M.; Soler, S.; Díez, M.J.; Granell, A.; Monforte, A.; Prohens, J. 2015c. Strategies for the enhancement of local tomato varieties: a study case with varieties from the Spanish region of València. Book of Abstracts of INNOHORT Symposium:9.
- García-Martínez S, Galvez-Sola LN, Alonso A, Agullo E, Rubio F, Ruiz JJ, Moral R. 2012. Quality assessment of tomato landraces and virus-resistant breeding lines: quick estimation by near infrared reflectance spectroscopy. *J Sci Food Agric.*, 92: 1178–1185.
- García-Martínez S, Grau A, Alonso A, Rubio F, Carbonell P, Ruiz JJ. 2015. UMH 916, UMH 972, UMH 1093, UMH 1127, and UMH 1139: Four Freshmarket Breeding Lines Resistant to Viruses Within the Muchamiel Tomato Type. *HortScience*, 50: 927-929.
- Panthee, D.R., Brown, A.F., Yousef, G.G., Ibrahem, R., Anderson, C. 2013. Novel molecular marker associated with Tm2(a) gene conferring resistance to Tomato mosaic virus in tomato. *Plant Breeding*, 132: 413-416.
- Soler S., Prohens J., López C., Aramburu J., Galipienso L., Nuez F. 2010. Viruses infecting tomato in Valencia, Spain: occurrence, distribution and effect of seed origin. *Journal of Phytopathology*, 158: 797 – 805.
- Soler, S.; Arroyo, N.; Figàs, M.R.; Casanova, C.; Soler, E.; Martínez, M.; Rico, R.G.; Prohens, J. 2022. Conservando el germoplasma del tomate Valenciano. *L'Agraria*, 5: 10-14.
- Staniaszek, M., Kozik, E.U., Maraczewski, W. 2007. A CAPS marker TA01-902 diagnostic for the I-2 gene conferring resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 in tomato. *Plant Breeding*, 126: 331-333.
- El-Sappah, A.H.; Islam M.M.; El-awady, H.H.; Yan, S.; Qi, S.; Liu, J.; Cheng, G.; Liang, Y. 2019. Tomato Natural Resistance Genes in Controlling the Root-Knot Nematode. *Genes*, 10: 925.