

### RESUM

Les varietats tradicionals de tomàquet constitueixen un recurs important per les explotacions hortícoles ecològiques, tant per la seva adaptació a condicions d'una agricultura de baixa intensitat, com per les seves característiques culturals i culinàries. La seva presència en camps de cultiu comercials és, però, escassa, degut principalment a la seva sensibilitat a les plagues i malalties que afecten a l'espècie, així com en molts casos a la seva baixa productivitat. El mètode més efectiu de control d'algunes malalties com les virosis és la resistència genètica, la qual és present en la major part de varietats millorades. Introduir aquests gens de resistència en les varietats tradicionals pot ser una estratègia per revifar el seu cultiu i recuperar la diversitat varietal autòctona. Amb aquest objectiu s'està impulsant un programa de millora genètica per tal d'incorporar la resistència a virosis, fongs i nematodes en una línia tradicional del tomàquet Pera de Girona. El programa de millora s'està realitzant seguint diferents línies de treball. Els resultats de l'any 2020, han permès identificar 11 genotips resistents al virus del bronzejat (TSWV), un dels quals també té resistència a nematodes, que es troben en una generació avançada de desenvolupament (BC2S4). Aquests materials seran sotmesos a un procés de selecció participativa l'any 2021. Paral·lelament es disposa de materials en estadis avançats de desenvolupament per aconseguir obtenir varietats resistents a la resta de patògens que limiten el cultiu de les varietats tradicionals de tomàquet.

## 01. Introducció

Les varietats tradicionals de tomàquet són sensibles a la majoria de patògens que afecten a l'espècie cultivada. Gran part d'aquests patògens no formaven part dels agrosistemes on van evolucionar aquests materials, per la qual cosa no s'han produït els fenòmens d'adaptació que s'observen entre els materials tradicionals. Actualment la incidència de determinades virosis és un fenomen que limita seriosament el seu cultiu en zones hortícoles. La resistència a aquestes virosis és conferida per gens que estan molt ben descrits a la literatura científica. Els gens *Tm-1*, *Tm-2* o *Tm-2<sup>a</sup>* confereixen resistència parcial o completa al virus del mosaic del tomàquet (TMV, Tomato Mosaic Virus); el gen *Sw-5* confereix resistència al virus del bronzejat del tomàquet (TSWV, Tomato Spotted Wilt Virus); els gens *Ty-1*, *Ty-2* i *Ty-3* confereixen resistència al virus de la cullera (TYLCV, Tomato Yellow Leaf Curl Virus). Les varietats millorades generalment incorporen alguns d'aquests gens de resistència o combinacions d'ells, fent-les molt més competitives. A més, algunes varietats millorades també incorporen resistència a nematodes (*Meloidogyne* sp.), fusariosi (*Fusarium oxysporum*) o verticil·losi (*Verticillium* sp.), malalties per les quals també s'han descrit els gens de resistència.

El coneixement actual sobre aquestes fonts de resistència és molt elevat, existint marcadors moleculars que permeten una selecció eficient en poblacions segregants per aquests gens. Aprofitant aquest coneixement s'està desenvolupant un programa de millora genètica que té per objectiu introduir diferents gens de resistència (Taula 1) en una línia tradicional de tomàquet Pera de Girona. En cas de tenir èxit, aquest material serà de domini públic i es posarà a disposició del sector.

Taula 1. Gens de resistència que s'estan estudiant en el programa de millora.

Locus	Origen	Resistència	Cromosoma	Referència
<i>Ty-3</i>	<i>S. chilense</i>	TYLCV	T6	(Kalloo, 1991)
<i>Tm-2<sup>a</sup></i>	<i>S. peruvianum</i>	TMV	T9	(Lanfermeijer et al., 2005) (Brommonschenkel et al., 2000)
<i>Sw-5</i>	<i>S. peruvianum</i>	TSWV	T9	(Kawchuk et al., 2001)
<i>Ve</i>	<i>S. lycopersicum</i>	<i>Verticillium dahliae</i>	T9	(Simons et al., 1998)
<i>I-2</i>	<i>S. pimpinellifolium</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	T11	(Casteel et al., 2007)
<i>Mi</i>	<i>S. peruvianum</i>	<i>Meloidogyne</i> sp.	T6	

## 02. Metodologia

### 02.01. Mètode de millora

El programa de millora va partir d'una línia tradicional del tipus Pera de Girona (codi LC192), preservada al Banc de Germoplasma FMA/UPC (Casals et al., 2020) i que va ser col·lectada l'any 2006 a l'Alt Empordà. Aquest material va ser encreuat inicialment amb diferents línies d'elit portadores dels gens de resistència descrits a la Taula 1, generant diferents poblacions de millora. Posteriorment, i fent ús de la millora assistida per marcadors moleculars, es van realitzar diferents generacions de retroencreuament (BC, Backcross) i d'autofecundació (S, Self-pollination), fent seguiment dels gens de resistència a les diferents generacions on es produïa segregació. A l'inici d'aquest projecte es disposava de llavor de les generacions BC1S2, BC2S2 i F1, les quals conformen els materials de partida de les actuacions d'aquest projecte.

## 02.02. Caracterització agromorfològica

L'any 2020 s'ha continuat amb el programa de millora, avaluant a camp les diferents poblacions disponibles. S'han avaluat els materials de la generació més avançada (BC2S2), realitzant 2 cicles de cultiu que han permès obtenir les generacions BC2S3 i BC2S4, mitjançant autofecundacions controlades (S) (Figura 1). Les autofecundacions controlades s'han realitzat mitjançant la instal·lació de barreres físiques entorn les inflorescències (bosses de tela perforada).

Durant el cultiu s'han realitzat valoracions qualitatives dels materials, tant a nivell agronòmic com morfològic i d'arquitectura de la planta. En el primer cicle de cultiu (març-agost, cultiu dins hivernacle) es van estudiar 84 plantes de la generació BC2S2, de les quals es van seleccionar les 51 millors (pressió selecció = 61%). En el cicle tardà (agost-novembre, cultiu en exterior) es van estudiar 4 plantes de cadascuna de les esmentades 51 famílies BC2S3. S'ha obtingut llavor de cada planta individual, creant una col·lecció de 204 genotips BC2S4.



Figura 1. Cultiu amb les inflorescències protegides mitjançant bosses de tela, per tal de forçar les auto-fecundacions (esquerra); imatge del procés de fecundació d'un pistil en una flor a la qual se li han extret els estams per evitar l'autofecundació (dreta).

## 02.03. Marcadors moleculars

Els materials del programa de millora han estat genotipats mitjançant marcadors moleculars, amb l'objectiu de confirmar la presència dels gens de

resistència (Figura 2). Els protocols de les anàlisis moleculars es troben descrits a les referències que s'indiquen a la Taula 1.

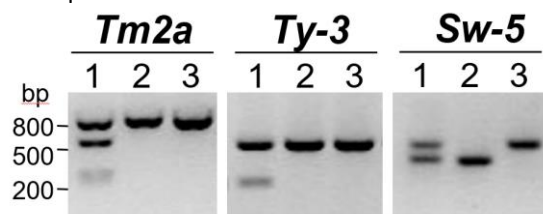


Figura 2. Exemple del genotipat dels gens de resistència Tm2a, Ty-3 i Sw-5. La línia 1 és heterozigota per tots els gens de resistència mentre que la línia 2 és la línia original. La línia 3 porta el gen Sw-5 en homozigosi. bp, parells de bases.

## 03. Resultats

### 03.01. Variabilitat a la generació BC2S2 per característiques agromorfològiques

En el cicle de cultiu primerenc es van estudiar 84 plantes de la generació BC2S2. Els materials presentaven tots una morfologia del fruit propera al tipus Pera de Girona (Figura 3), existint però variació per caràcters com el color del fruit (vermell/rosa) o la mida (100-300 g/fruit). D'altra banda es va observar també variació per l'arquitectura de la planta, tant per caràcters relacionats amb la distància entre inflorescències (7% dels genotips van presentar un hàbit de creixement compacte) o el tipus d'inflorescència (13% dels genotips van presentar una inflorescència regular, amb un bon quallat dins de pom) (Figura 4). Aquestes característiques, així com la valoració agronòmica que es va fer dels materials, va servir per seleccionar els millors genotips de la població (51 línies, generació BC2S3).

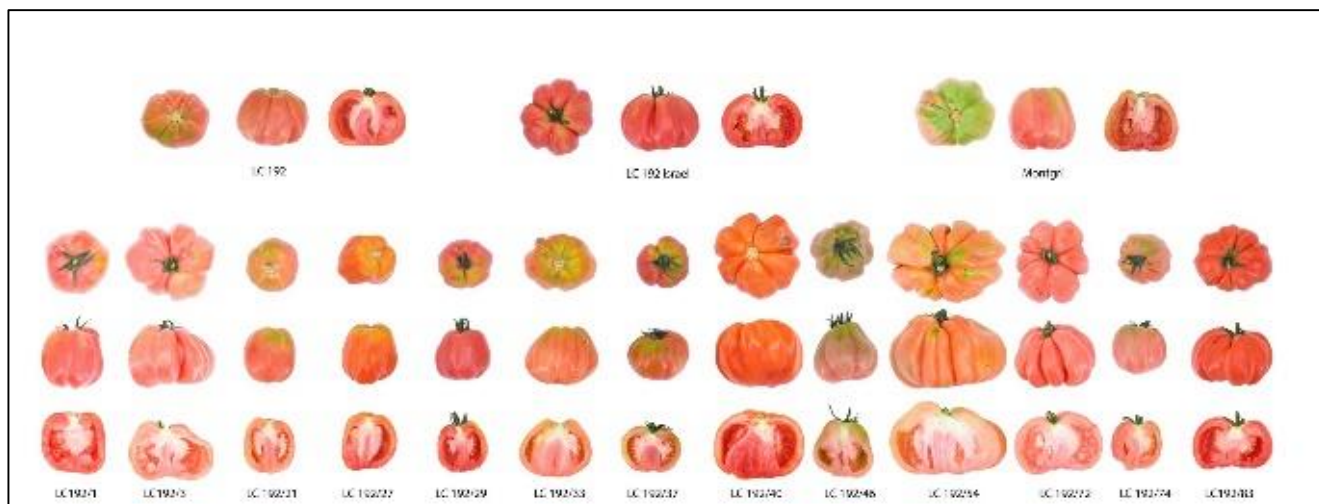


Figura 3. Imatge dels fruits de diferents plantes de la generació BC2S2 (cultiu primerenc). A la imatge es pot observar la diversitat per caràcters morfològics existents a la població de millora. A la part superior es mostra la forma del fruit dels parentals (LC192 i LC192 Israel) i del testimoni del grup Pera de Girona (Montgrí).

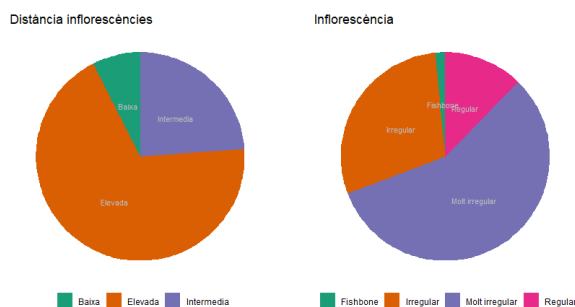


Figura 4. Distribució dels caràcters "distància entre inflorescències" (esquerra) i "tipus d'inflorescència" (dreta) a la població segregant BC2S2.

### 03.03. Estudi de la generació BC2S3

Les 51 línies de la generació BC2S3 van ser cultivades en cicle de cultiu tardà. Atenent que les condicions experimentals no permetien una bona valoració agronòmica dels materials, es va decidir no realitzar selecció en base a característiques fenotípiques, obtenint llavor per autofecundació de tots els materials (204 genotips, generació BC2S4).

### 03.02. Resultats de les proves moleculars

Forçats per les restriccions ocorregudes l'any 2020 a causa de la pandèmia per SARS-CoV-2, les proves moleculars no s'han pogut realitzar de manera prèvia a la realització dels cultius experimentals, sinó a posteriori. Això ha provocat un desviament important dels resultats, doncs els estudis de camp s'han fet sense validació de la presència dels gens de resistència.

Els resultats de les proves moleculars (Taula 2) han permès identificar la presència del gen *Sw-5* de resistència al virus del bronzejat (TSWV) introgressat i en homozigosi en 11 genotips de la generació BC2S2, dels quals se n'han derivat línies per autofecundació (BC2S4). Un d'aquests genotips presenta també el gen *Mi* de resistència a nematodes en homozigosi, essent un doble mutant resistent. Això implica que mitjançant autofecundacions aquesta resistència es manté en el material, permetent el desenvolupament de línies pures resistents al virus del bronzejat (11 genotips) i a nematodes (1). Paral·lelament s'ha identificat la presència de genotips amb presència, en homozigosi, del gen *Ty-3* de resistència al virus de la cullera (TYLCV) en la generació BC1S2. En aquesta població s'han identificat dos genotips que presenten els gens de resistència al virus del mosaic (TMV, *Tm2a*), i a nematodes (*Mi*) en heterozigosi, els quals s'estudiaran per derivar línies resistents. Finalment, s'ha avaluat la població F1, identificant la presència, en heterozigosi, dels gens de resistència a nematodes (*Mi*), verticil·losi (*Ve*) i fusariosi (*I-2*). Aquesta població, que segregarà en les futures generacions d'autofecundació, constitueix el material de partida d'un segon programa de millora per obtenir línies del tipus Pera de Girona resistents a aquests patògens.

Taula 2. Resultats de les proves moleculars: confirmació de la presència de gens de resistència en els materials de millora (acrònims: N° BC: núm. generacions retroencruament, N° S: núm. generacions autofecundació; Hm: homozigot; Hz: heterozigot). \* S'han identificat dos genotips amb presència del gen *Tm-2a*, *Sw-5*, *Ty-3* i *Mi* en heterozigosi, els quals s'estan estudiant; \*\* S'ha identificat un genotip amb el gen *Mi* en homozigosi.

Població	N° BC	N° S	Sw-5	Tm-2a	Ty-3	Mi	Ve	I-2
F1	0	0				Hz	Hz	Hz
BC1S2	1	2	Hm	*	Hm	*		Hz
BC2S2	2	2	Hm			**		
BC2S3	2	3	Hz					
BC2S4	2	4	Hm					

### 03.04. Materials disponibles

Les actuacions realitzades l'any 2020 han permès assolir les generacions BC2S3 i BC2S4 del programa de millora genètica, així com validar la presència de gens de resistència en els materials d'estudi. Com a resultat de les actuacions, actualment es disposa de llavor dels següents materials:

- 11 genotips resistents al virus del bronzejat (TSWV), i un també a nematodes (*Mi*) a la generació BC2S4.
- Una col·lecció de genotips resistents al virus del bronzejat (TSWV) i el virus de la cullera (TYLCV) i presència, en heterozigosi, del gen de resistència a fusariosi, a la generació BC1S2.
- Dos genotips amb presència, en heterozigosi, dels gens de resistència a les tres virosis, el virus del bronzejat (TSWV), el virus de la cullera (TYLCV) i al virus del mosaic (TMV), així com resistència a nematodes, a la generació BC1S2.
- Un híbrid amb resistència, en heterozigosi, a nematodes, verticil·losi i fusariosi.

## 04. Conclusions

Les varietats tradicionals de tomàquet constitueixen un material genètic amb molt potencial per les explotacions ecològiques, doncs aporten singularitat i qualitat a les produccions. El seu cultiu es veu limitat per la seva sensibilitat a les principals plagues i malalties que afecten al cultiu de tomàquet, especialment a les virosis (TMV, TSWV, TYLCV). Aquest projecte té per objectiu l'obtenció de variants tradicionals resistents a aquestes virosis, així com a altres patògens pels quals s'han descrit gens de resistència (nematodes, fusariosi i bacteries). Com a resultat del programa de millora ja s'han aconseguit línies resistents al virus del bronzejat i a nematodes, les quals es troben força fixades i poden ser sotmeses a processos de selecció participativa. Paral·lelament es disposa de material, en estats avançats del programa, per avançar cap a l'obtenció de línies també resistents al virus de la cullera. Finalment, es disposa de materials útils per l'obtenció de varietats resistents a la resta de patògens que s'estan treballant.

## 05. Referències

- Brommonschenke et al. 2000. *The Broad-Spectrum Tobacco Mosaic Virus Resistance Gene Sw-5 of Tomato Is a Homolog of the Root-Knot Nematode Resistance Gene Mi*. Mol. Plant-Microbe Interact. 13, 1130–1138.
- Casals et al. 2011. *The risks of success in quality vegetable markets: possible genetic erosion in Marmande tomatoes (Solanum lycopersicum L.) and consumer dissatisfaction*. Sci. Hortic. 130, 78–84.
- Casteel et al. 2007. *Effect of Mi-1.2 gene in Natural Host Plants on Behavior and Biology of the Tomato Psyllid Bactericerca cockerelli (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae)*. J. Entomol. Sci. 42, 155–162.
- Cubero 2013. *Introducción a la mejora genética vegetal*. Mundi-Prensa, Madrid.
- Heuvelink 2018. *Tomatoes*. CABI, Wallingford.
- Kaloo (Ed.) 1991. *Genetic Improvement of Tomato*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Lanfermeijer et al. 2005. *The products of the broken Tm-2 and the durable Tm-22 resistance genes from tomato differ in four amino acids*. J. Exp. Bot. 56, 2925–2933.
- Martin et al. 1993. *Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato*. Sci. 262, 1432 LP – 1436.
- Pico et al. 2002. *Widening the genetic basis of virus resistance in tomato*. Sci. Hortic. 94, 73–89.
- Rubio et al. 2016. *Introgression of virus-resistance genes into traditional Spanish tomato cultivars (Solanum lycopersicum L.): Effects on yield and quality*. Sci. Hortic. 198, 183–190.
- Simons et al. 1998. *Dissection of the Fusarium I2 gene cluster in tomato reveals six Homologs and one active gene copy*. Plant Cell 10, 1055 LP – 1068.
- Visscher et al. 1996. *Marker-Assisted Introgression in Backcross Breeding Programs*. Genetics 144, 1923 LP – 1932.

**Joan Casals Missio**  
**Fundació Miquel Agustí**  
**93.552.12.28**

<mailto:mrecerca@fundaciomiquelagusti.cat>

*El projecte ha estat finançat pel Departament d'Acció Climàtica, Alimentació i Agenda Rural de la Generalitat de Catalunya a través de l'ajut per incentivar la recerca aplicada en matèria de producció agroalimentària ecològica*