



Sociedad
Española
de **Ciencias**
Hortícolas

97

Septiembre
2024

ACTA DE HORTICULTURA

Comunicaciones Técnicas
Sociedad Española de
Ciencias Hortícolas

XI Congreso Nacional de
Mejora Genética de Plantas

Editores:
Margarita López Corrales
M^a Engracia Guerra Velo
María Ramos García
Antonio Jesús Galán Jiménez

Cáceres, 24-26 de septiembre de 2024

ACTAS DE HORTICULTURA N° 97

Comunicaciones Técnicas Sociedad Española de Ciencias Hortícolas

XI Congreso Nacional de Mejora Genética de Plantas



Actas del XI Congreso Nacional de Mejora Genética de Plantas

Sociedad Española de Ciencias Hortícolas

Editores:

Margarita López Corrales

M^a Engracia Guerra Velo

María Ramos García

Antonio Jesús Galán Jiménez

ISBN-13. 978-84-09-65070-5

Identificación de resistencias genéticas a virus en una colección de tomate tradicional ‘De colgar’ del banco de germoplasma del IMIDA (BAGERIM)

Pedro Carbonell Cerdá^{1*}, Alba García Molina¹, Aránzazu Alonso Sanchís¹, Adrián Grau Sánchez¹, José Ángel Cabrera Miras², Nuria López Pérez², Josefa Gomariz Pérez², Asunción Amorós Marco¹, Juan José Ruiz Martínez¹, Elena Sánchez López² y Santiago García Martínez¹.

¹ Centro de Investigación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Carretera de Beniel km 3,2, 03312, Orihuela-Alicante

² Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y medioambiental (IMIDA), Calle Mayor s/n, 30150, La Alberca-Murcia

*Autor para correspondencia: pcarbonell@umh.es

Palabras clave: genotipado, HRM, De penjar, marcador molecular, *Solanum Lycopersicum*

Resumen

El banco de germoplasma del IMIDA (BAGERIM) contiene una gran colección de variedades tradicionales de tomate procedentes en su mayoría de la Región de Murcia. Entre ellas, se encuentran decenas de accesiones de tomate ‘De colgar’, variedad también conocida como ‘Tomata de penjar’, que se caracteriza por una larga vida post-cosecha y una calidad de fruto muy apreciada por los consumidores. Este material ha sido donado por agricultores, que lo han cultivado e intercambiado a lo largo de muchos años, siendo prácticamente imposible certificar su origen tradicional a partir del fenotipo, ya que existe mucha diversidad dentro de la misma variedad. En este trabajo se ha realizado una búsqueda de resistencias genéticas a tres virus (ToMV, TYLCV y TSWV), las cuales son habituales encontrarlas en muchas variedades comerciales desde los años 70, con el objetivo de diferenciar las accesiones realmente tradicionales (sin resistencias) de aquellas que podrían haber sido derivadas de material comercial por parte de los agricultores. Para ello se han utilizado tres marcadores moleculares diseñados específicamente para la técnica *High Resolution Melting* (HRM,) asociados a los genes de resistencia *Tm-2a*, *Ty-1* y *Sw-5*. Hemos genotipado un grupo de 88 accesiones de tomate ‘De colgar’, encontrando alelos de resistencia en 13 de ellas. Este estudio nos permite hacer un primer cribado rápido y efectivo de la colección y establece un punto de partida para optimizar la gestión del material tradicional del BAGERIM, incluyendo su mejora genética en un programa que se está llevando a cabo actualmente.

INTRODUCCIÓN

El banco de germoplasma del IMIDA (BAGERIM) contiene una gran colección de variedades tradicionales de tomate procedentes de la Región de Murcia y de provincias cercanas. Aquí se almacena semilla de tipos varietales muy diversos como el tomate De colgar (Figura 1), también conocido como De Penjar en Valencia, Cataluña o Mallorca, donde es muy popular. Este grupo de tomates, desarrollados intuitivamente por los agricultores, poseen una calidad organoléptica muy apreciada (es el tomate restregado del famoso *pan tomaca* catalán) y adaptación a las zonas de cultivo originales. Además, se caracterizan por poseer un gen de larga vida, *alcobaça* (Casals et al., 2011)), que permite alargar su postcosecha más de tres meses sin refrigeración. El BAGERIM posee una colección de más de 90 accesiones catalogadas como tomate De colgar. Aunque se han caracterizado fenotípicamente todas ellas, no es posible determinar con facilidad su origen tradicional, ya que pueden confundirse con variedades comerciales De colgar que poseen resistencias genéticas no

presentes en las tradicionales, y las cuales podrían haber sido almacenadas también en el banco. Por tanto, es importante determinar el origen de la semilla, ya que la protección del acervo genético autóctono es el objetivo principal de los bancos de germoplasma. La mejor forma de hacerlo es mediante marcadores moleculares, ya que permiten, por ejemplo, determinar la presencia de resistencias genéticas que se llevan introduciendo sistemáticamente en el tomate cultivado desde los años 70 del pasado siglo (Blanca et al., 2022; Schouten et al., 2019).

Debido al gran interés que suscita el tomate De colgar, nuestro objetivo ha sido realizar un cribado de las accesiones De colgar del BAGERIM para determinar cuáles no tienen un origen tradicional, empleando marcadores moleculares asociados a los genes de resistencia *Tm-2a*, *Ty-1* y *Sw-5*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado un conjunto de 88 accesiones de tomate De colgar pertenecientes al BAGERIM. Se extrajo el ADN de 3 plantas de cada una de las 88 accesiones mediante el método del SDS descrito por Dellaporta et al. (1983). Se realizó el genotipado de tres genes de resistencia a virus mediante la técnica *High Resolution Melting* (HRM), usando el LightCycler 480 y el colorante fluorescente *High Resolution Melting Dye*, ambos de Roche®. Se emplearon marcadores moleculares SNPs asociados a los genes *Tm-2a* (ToMV), *Ty-1* (TYLCV) y *Sw-5* (TSWV), diseñados y empleados en nuestro laboratorio (Carbonell, 2021). En la mezcla de reacción, se utilizó una concentración de 0.2 μM de cebadores y 3 mM de MgCl_2 , así como 20-30 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ de ADN de cada muestra. El protocolo de HRM empleado se detalla en el trabajo de Carbonell (2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han encontrado alelos de resistencia en 13 entradas, un 15% de las 88 totales (Figura 1). De estas 13, ocho presentan resistencia a TYLCV, seis a TSWV y cinco a ToMV. Además, tres entradas tienen resistencia a dos de estos virus, y dos entradas presentan los tres genes de resistencia simultáneamente. La presencia de genes de resistencia modernos no es exclusiva de esta colección de tomate De Colgar, sino que se han visto resultados similares en otras colecciones de tomate del propio BAGERIM (Carbonell, en elaboración), e incluso en grandes colecciones a nivel europeo (Blanca et al., 2022).

Los tres genes proceden de variedades silvestres de tomate, y su introgresión en el tomate cultivado se llevó a cabo a partir de los años 70, dando lugar a un gran abanico de variedades comerciales resistentes a estas enfermedades (Schouten et al., 2019). Fruto de la coexistencia, la barrera entre el tomate tradicional y el moderno se ha vuelto difusa, siendo indistinguibles fenotípicamente en muchos casos. Es posible que haya habido cruzamientos (espontáneos o dirigidos) entre ellos, dando lugar a líneas de tipología tradicional con genes de resistencia. E incluso es más que probable que los agricultores hayan recogido semilla de variedades comerciales De colgar, como Sarristra o Suca (Fitó), derivando líneas de tipología tradicional con introgresiones silvestres en un proceso que se ha denominado “tradicionalización” (Pons et al., 2023). De esta forma, los agricultores recogen la semilla de la variedad comercial, la intercambian, y cultivan la planta en sistemas tradicionales, resultando en una variedad “tradicionalizada” con el paso del tiempo. En cualquier caso, el agricultor está convencido de poseer semilla autóctona, por lo que su inclusión en el banco de germoplasma es posible si la donan al mismo con pasaporte tradicional. Sin embargo, estas líneas no son tradicionales, por lo que detectar su presencia en los bancos de germoplasma es de vital importancia para diferenciarlas del material genuinamente autóctono. Es fundamental no sólo para optimizar la gestión del material dentro del banco, sino para facilitar el acceso al patrimonio vegetal nativo por parte de los agricultores, los mejoradores, las asociaciones de productores, marcas de calidad, etc. En

definitiva, la curación que proponemos de la colección del tomate De colgar del BAGERIM debe contribuir a la puesta en valor del tomate tradicional almacenado en el banco, siendo además una técnica que se puede emplear en cualquier otra colección de tomate tradicional.

CONCLUSIÓN

Los marcadores moleculares empleados permiten diferenciar fácilmente las variedades tradicionales de las que no lo son (el 15% del total de accesiones genotipadas) en la colección de tomate De colgar del BAGERIM.

AGRADECIMIENTOS

Esta publicación es parte del proyecto de I+D+i PID2022-137735OR-C32, financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por FEDER, UE.

Referencias

Blanca, J., Pons, C., Montero-Pau, J., Sanchez-Matarredona, D., Ziarsolo, P., Fontanet, L., Fisher, J., Plazas, M., Casals, J., Rambla, J. L., Riccini, A., Pombarella, S., Ruggiero, A., Sulli, M., Grillo, S., Kanellis, A., Giuliano, G., Finkers, R., Cammareri, M., ... Granell, A. 2022. European traditional tomatoes galore: a result of farmers' selection of a few diversity-rich loci. *Journal of Experimental Botany*, 73(11), 3431–3445. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERAC072>

Carbonell, P. 2021. Programa de mejora genética de tomate tradicional UMH: nuevas técnicas moleculares, registro de líneas y agricultura de resiliencia [Universidad Miguel Hernández]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=291814&info=resumen&idioma=SPA>

Casals, J., Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Beltrán, J., Casañas, F., & Nuez, F. 2011. Long-term postharvest aroma evolution of tomatoes with the alcobaça (alc) mutation. *European Food Research and Technology*, 233(2), 331–342. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1517-6>

Dellaporta, S. L., Wood, J., & Hicks, J. B. 1983. A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1(4), 19–21. <https://doi.org/10.1007/BF02712670>

Pons, C., Casals, J., Brower, M., Sacco, A., Riccini, A., Hendrickx, P., Figás, M. D. R., Fisher, J., Grandillo, S., Mazzucato, A., Soler, S., Zamir, D., Causse, M., Díez, M. J., Finkers, R., Prohens, J., Monforte, A. J., & Granell, A. 2023. Diversity and genetic architecture of agro-morphological traits in a core collection of European traditional tomato. *Journal of Experimental Botany*, 74(18), 5896–5916. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad306>

Schouten, H. J., Tikunov, Y., Verkerke, W., Finkers, R., Bovy, A., Bai, Y., & Visser, R. G. F. 2019. Breeding Has Increased the Diversity of Cultivated Tomato in The Netherlands. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01606>