



Avaluació de la diversitat genètica del germoplasma de la 'Tomata Valenciana' utilitzant el genotipat SPET i l'anàlisi bioinformàtic

Genetic Diversity Assessment of 'Tomata Valenciana' Germplasm Using SPET Genotyping and Bioinformatic Analysis

Ramón Gabriel Rico Ferrer, Nicolás Arroyo Fernández, María del Rosario Figàs Moreno, Cristina Casanova Calancha, Elena Soler Calabuig, Miquel Martínez Busó, Jaime Prohens Tomás, Santiago Vilanova Navarro i Salvador Soler Aleixandre

Grup de Conservació i Millora de Varetats Tradicionals Valencianes, Institut de Conservació i Millora de l'Agrodiversitat Valenciana, Universitat Politècnica de València, Camí de Vera 14, 46022 València, rarifer1@alumni.upv.es.

How to cite: Rico Ferrer, R.G.; Arroyo Fernández N.; Figàs Moreno M^a R.; Casanova Calancha C.; Soler Calabuig E.; Martínez Busó M.; Prohens Tomás J.; Vilanova Navarro S.; Soler Aleixandre S. 2024. Genetic Diversity Assessment of 'Tomata Valenciana' Germplasm Using SPET Genotyping and Bioinformatic Analysis. En libro de actas: *II Congrés de la Tomata Valenciana. L'Autèntica*. València, 30 de maig de 2024. <https://doi.org/10.4995/TOMAVAL2024.2024.18682>

Abstract

Aiming to evaluate the genetic diversity present in the 'Tomata Valenciana' germplasm, a collection of 50 entries sourced from the Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV) de la Universitat Politècnica de València (from now on Banco de Germoplasma COMAV-UPV) has been genotyped by means of the SPET (Single Primer Enrichment Technology). The results have been analyzed using bioinformatic software TASSEL (Trait Analysis by aSSociation Evolution and Linkage). The genetic information obtained was utilized for the classification, grouping, and comparison of various subtypes of tomatoes within this esteemed landrace originating from the Valencian region.

Keywords: 'Tomata Valenciana', genotyping, variety, subtype.

Resum

Amb l'objectiu d'avaluar la diversitat genètica que existeix en el germoplasma de la 'Tomata Valenciana', una col·lecció de 50 entrades procedents del Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV) de la Universitat Politècnica de València (endavant referenciat com Banco de Germoplasma COMAV-UPV) ha sigut genotipada mitjançant la tecnologia SPET (Single Primer Enrichment Technology). Els resultats

han estat analitzats utilitzant el programari bioinformàtic TASSEL (Trait Analysis by aSSociation Evolution and Linkage). La informació genètica obtinguda ha sigut utilitzada per a la classificació, agrupació i comparació de diversos subtipus de tomata dins d'aquesta apreciada varietat autòctona originària de la regió valenciana.

Palabras clave: *'Tomata Valenciana', genotipado, variedad, subtipo.*

1. Introducció

La diversitat genètica serveix com a material primordial en el desenvolupament de noves varietats de cultiu, ja siga amb l'objectiu d'augmentar el rendiment o la qualitat nutricional, conferint resistència a plagues i malalties emergents, o facilitant el creixement en diverses condicions climàtiques. Les varietats locals o tradicionals, juntament amb els parentals silvestres dels cultius (CWR per les seues segles en anglés), són els pilars de la millora genètica de plantes ja que representen vora el 80% de la biodiversitat agrícola contemporània (Ebert, A. W. Engels, & J.M.M., 2020). Aquestes entitats encarnen poblacions dinàmiques de plantes cultivades amb rics llinatges històrics, identitats distintives i un mínim de treball aplicat sobre la varietat en lo que a millora del cultiu es refereix (Casañas et al., 2017). Normalment associades amb sistemes agrícoles tradicionals, les varietats locals han evolucionat gràcies a processos de selecció naturals i impulsats pels agricultors en entorns agrícoles de baixos ensums (Terzopoulos and Bebeli, 2008; Mavromatis et al., 2013). A més, aquest reservori genètic es caracteritza per una alta tolerància a l'estrés i adaptabilitat a l'entorn local (Acciarri et al., 2010; Digilio et al., 2010; Newton et al., 2011).

Centrant-se específicament en la tomaca, les informacions més antigues indiquen que, després de l'entrada de les primeres llavors pel port de Sevilla en el segle XVI, l'espècie va viatjar a Itàlia, on va captivar l'atenció dels botànics del Renaixement. Posterior a aquesta introducció, la tomaca va proliferar per tota la regió mediterrània i els països del sud d'Europa en els segles següents (van Andel T., et. al. 2022). Des de la seua introducció inicial fins a l'actualitat, la tomaca ha experimentat extenses interaccions amb les societats humanes i els diversos contextos ambientals al llarg de la regió mediterrània, establint-se aquesta com un centre secundari de diversificació de l'espècie. Això ha generat una plèthora de varietats tradicionals que es distribueixen per tot el sud d'Europa, les quals són el resultat de la selecció impulsada pels agricultors per adaptar-se als entorns i condicions de cultiu locals i ajustar-se als gustos de la població (Pons C., et. al. 2022). En el context del cultiu de la tomaca a Espanya, s'ha documentat una àmplia gama de varietats tradicionals, que exhibeixen variacions en les formes, mides, colors, sabors i textures del fruit, amb cada varietat ostentant un ric patrimoni cultural i una llarga tradició de cultiu en les diverses comunitats autònomes.

La 'Tomata Valenciana' és una varietat tradicional típica de la regió valenciana, a Espanya. Tradicionalment, el terme "Valenciana" ha sigut sovint utilitzat fora de la Comunitat Valenciana

com a designació general per a qualsevol varietat originada en aquesta àrea. No obstant això, el tipus varietal autèntic 'Valenciana' engloba varietats amb característiques molt específiques i discernibles. Originària principalment de L'Horta de València, el seu cultiu s'ha estès a causa dels seus excel·lents atributs de qualitat. El tipus varietal 'Valenciana' es distingeix per presentar tres morfologies de fruits diferents o subtipus delimitats pels seus trets morfològics observats des de la immaduresa fins a l'estat de maduració comercial: 'Mascllet', 'Blanca' o 'Femella' i 'Rotllo' (Cebolla-Cornejo, J., et al. 2007; Alcubierre, L. 2016; Soler, S., et al. 2017) (Fig. 1).



Fig. 1 A. Fotografia d'un fruit del subtipus 'Mascllet' en etapa immadura (dalt esquerra) i madur comercialment (baix esquerra); B. Fotografia d'un fruit del subtipus 'Blanca' en etapa immadura (dalt centre) i madur comercialment (baix centre); C. Fotografia d'un fruit del 'Rotllo' en etapa immadura (dalt dreta) i madur comercialment (baix dreta)

En aquest estudi, es desenvoluparà l'anàlisi genètica de 50 entrades procedents del BGV i referenciades per les dades de passaport com 'Tomata Valenciana' i 2 controls comercials mitjançant la tecnologia SPET. Es tracta d'una tecnologia de genotipat dirigit, basada en la seqüenciació de la regió que envolta un primer per permetre la descoberta de SNP (polimorfismes de nucleòtid únic) estretament relacionats. Els resultats del genotipat seran analitzats mitjançant software bioinformàtic per tal d'esclarir la potencial diversitat genètica existent en el germoplasma de la 'Tomata Valenciana'.

Les varietats tradicionals en general i la 'Tomata Valenciana' en particular son productes altament apreciats per la seua qualitat superior, culturalment significatius i amb implicacions tant econòmiques (a nivell regional principalment) com científiques (biodiversitat genètica). L'empra d'eines biotecnològiques com l'SPET és crucial en l'actualitat per a garantir una

adequada conservació i gestió de les varietats tradicionals, principalment als bancs de germoplasma.

2. Objectiu

L'objectiu principal d'aquesta caracterització genètica de germoplasma de 'Tomata Valenciana' és obtenir informació sobre la biodiversitat genètica existent en el cultiu amb la finalitat de fer més eficients els esforços de conservació dels recursos fitogenètics.

3. Material i Mètodes

Una col·lecció de 50 mostres de tomaques locals procedent del Banco de Germoplasma del Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV) de la Universitat Politècnica de València es van utilitzar en aquesta caracterització (Taula 1). A més, es van utilitzar dues varietats, externes a la col·lecció de mostres locals, com a controls. D'una banda, la varietat VLT es va utilitzar com a control de 'Tomata Valenciana' portant el gen de resistència Tm2² que confereix als individus protecció contra la infecció amb el virus del mosaic del tomàquet (ToMV) (Hall, 1980). D'altra banda, la varietat comercial MM-1 també es va utilitzar com a control.

Taula 1. Llistat de les entrades de tomaca de la col·lecció i els controls comercials. T.V = Varietat Tradicional; B.L = Breeding line; C.V = Varietat comercial.

ABREVIATURA	CODI	ORIGEN		TIPUS DE MATERIAL
		POBLE	COMARCA	
ALC1	SL-ALCUDIA-1	ALCUDIA	LA RIBERA ALTA	T.V.
CAU1	SL-CAUIDIEL-1	CAUIDIEL	ALTO PALANCIA	T.V.
ALB2	SL-ALBORAIA-2	ALBORAIA	L'HORTA NORD	T.V.
PAT1	SL- PATERNA-1	PATERNA	L'HORTA OEST	T.V.
VLC1	SL-VALENCIA-1	VALENCIA	VALENCIA	T.V.
ELP1	SL-ELPERELLO-1	EL PERELLO	LA RIBERA BAIXA	T.V.
ELP2	SL-ELPERELLO-2	EL PERELLO	LA RIBERA BAIXA	T.V.
ELP3	SL-ELPERELLO-3	EL PERELLO	LA RIBERA BAIXA	T.V.
ALG1	SL-ALGINET-1	ALGINET	LA RIBERA ALTA	T.V.
MEL3	SL-MELIANA-3	MELIANA	L'HORTA NORD	T.V.
MEL2	SL-MELIANA-2	MELIANA	L'HORTA NORD	T.V.
XEL1	SL-XELVA-1	XELVA	LOS SERRANOS	T.V.
SUE1	SL-SUECA-1	SUECA	LA RIBERA BAIXA	T.V.
TUR1	SL-TURIS-1	TURIS	LA RIBERA ALTA	T.V.
TTO2	SL-TORRESTORRES-2	TORRES TORRES	CAMP DE MORVEDRE	T.V.
TTO1	SL-TORRESTORRES-1	TORRES TORRES	CAMP DE MORVEDRE	T.V.
MEL1	SL-MELIANA-1	MELIANA	L'HORTA NORD	T.V.
TOR1	SL-TORRENT-1	TORRENT	L'HORTA OEST	T.V.
BET1	SL-BETERA-1	BETERA	CAMP DEL TURIA	T.V.
ALD1	SL-ALBAIDA-1	ALBAIDA	LA VALL D'ALBAIDA	T.V.
VLT		-	-	B.L.
CAT1	SL-CATARROJA-1	CATAROJA	L'HORTA SUD	T.V.
CAT3	SL-CATARROJA-3	CATAROJA	L'HORTA SUD	T.V.
REQ1	SL-REQUENA-1	REQUENA	LA PLANA UTIEL	T.V.
SAG1	SL-SAGUNT-1	SAGUNT	CAMP DE MORVEDRE	T.V.
SIL1	SL-SILLA-1	SILLA	L'HORTA SUD	T.V.
CAT2	SL-CATARROJA-2	CATAROJA	L'HORTA SUD	T.V.
PU11	SL-ELPUIG-1	EL PUIG	L'HORTA NORD	T.V.
STM3	SL-SANTMATEU-3	SANT MATEU	BAIX MAESTRAT	T.V.
TOG1	SL-TOGA-1	TOGA	ALT MILLARS	T.V.
SUE2	SL-SUECA-2	SUECA	LA RIBERA BAIXA	T.V.
BET2	SL-BETERA-2	BETERA	CAMP DEL TURIA	T.V.
SEG1	SL-SEGORBE-1	SEGORBE	ALT PALANCIA	T.V.
PIN1	SL-PINEDO-1	PINEDO	L'HORTA SUD	T.V.
POV1	SL-LAPOBLADEVALLBONA-1	LA POBLA DE VALLBONA	CAMP DEL TURIA	T.V.
PIC1	SL-PICANYA-1	PINCANYA	L'HORTA OEST	T.V.
UTL1	SL-UTIEL-1	UTIEL	LA PLANA UTIEL	T.V.
ELI1	SL-L'ELIANA-1	L'ELIANA	CAMP DEL TURIA	T.V.
PUÇ1	SL-PUÇOL-1	PUÇOL	L'HORTA NORD	T.V.
RAF1	SL-RAFELBUNYOL-1	RAFELBUNYOL	L'HORTA NORD	T.V.
CDF1	SL-CAUDETDELASFUENTES-1	CAUDETE DE LAS FUENTES	LA PLANA UTIEL	T.V.
NAQ1	SL-NAQUERA-1	NAQUERA	CAMP DE L TURIA	T.V.
NAQ2	SL-NAQUERA-2	NAQUERA	CAMP DEL TURIA	T.V.
ELI2	SL-L'ELIANA-2	L'ELIANA	CAMP DEL TURIA	T.V.
GOD1	SL-GODELLA-1	GODELLA	L'HORTA NORD	T.V.
ABT1	SL-ALBALATDELARIBERA-1	ALBALAT DE LA RIBERA	LA RIBERA BAIXA	T.V.
ABT2	SL-ALBALATDELARIBERA-2	ALBALAT DE LA RIBERA	LA RIBERA BAIXA	T.V.
AGT7	SL-AGULLENT-7	AGULLENT	LA VALL D'ALBAIDA	T.V.
ALB1	SL-ALBORAIA-1	ALBORAIA	L'HORTA NORD	T.V.
CDC1	SL-CASTELLONETDELA CONQUESTA -1	CASTELLONET DE LA CONQUESTA	LA SAFOR	T.V.
AGT8	SL-AGULLENT-8	AGULLENT	LA VALL D'ALBAIDA	T.V.
MM-1	MONEYMAKER-1	-	-	C.V.

3.1. Processament de les mostres per a l'obtenció de l'ADN

S'agafaren mostres de fulla de les plantes en camp amb tubs Eppendorf de 2 mL i posteriorment es congelaren a -80°C fins al seu processat. L'extracció d'ADN es va realitzar utilitzant el protocol SILEX, que és un protocol d'extracció d'ADN d'alt rendiment, basat en el mètode CTAB estàndard amb una recuperació de matriu de sílice d'ADN, permetent obtenir ADN genòmic de plantes de pes molecular alt de qualitat NGS lliure de compostos inhibidors (Vilanova, et al. 2020).

3.2. Genotipat de les entrades

El conjunt de 52 varietats va ser genotipat mitjançant Single Primer Enrichment Technology o SPET (Nugen®, Patent dels Estats Units 9,650,628). L'empres de genotipat de primers únics simplifica el disseny del panell permetent alts nivells de multiplexatge (Fig. 2). Aquesta estratègia de genotipat requereix informació genòmica prèvia per dissenyar les sondes ja que estan dissenyades contigües a un SNP (Barchi L, et al. 2019).

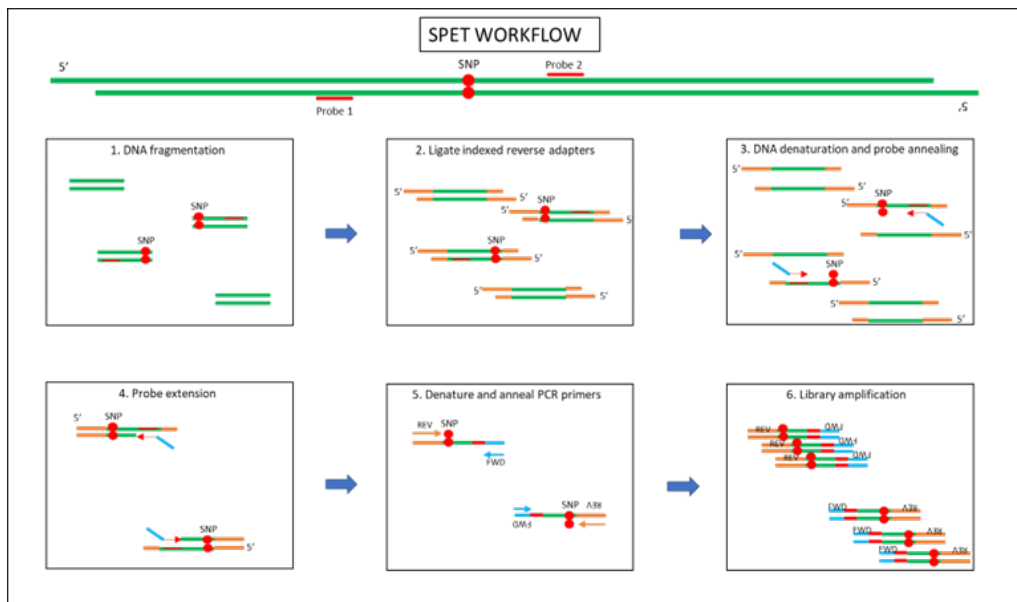


Fig. 2 Representació esquemàtica del procés de genotipat mitjançant la tecnologia SPET

Els resultats, rebuts en Variant Calling Format (VCF), van servir com a punt de partida per a l'anàlisi genètic a nivell molecular. En aquest context, un fitxer '.vcf' és el resultat d'un procés bioinformàtic, especificant el format d'un fitxer de text utilitzat en bioinformàtica per emmagatzemar variacions en seqüències genètiques. Normalment, una mostra d'ADN es seqüencia a través d'un sistema de seqüenciació de següent generació (NGS per les seues sigles a l'anglès), produint un fitxer de seqüència en cru, conegut com 'raw reads'. Posteriorment, les

dades de seqüència s'alineen, i es generen els fitxers BAM/SAM. A continuació, es realitza el Variant Calling o SNP calling, identificant els canvis en el genoma analitzat comparat amb el genoma de referència. El resultat s'emmagatzema en un format '.vcf' per a anàlisis posteriors.

L'anàlisi bioinformàtic d'aquests SNPs es va dur a terme mitjançant l'eina TASSEL v5.2.90. És un paquet de software utilitzat per avaluar associacions de característiques, patrons evolutius i desequilibri d'enllaç. Entre les virtuts d'aquest programa es troben: L'oportunitat d'utilitzar una sèrie de noves i poderoses aproximacions estadístiques per a la cartografia d'associació com ara un General Linear Model (GLM) i un Mixed Linear Model (MLM). MLM és una implementació de la tècnica Unified Mixed-Model Method for Association Mapping que redueix l'error de Tipus I en la cartografia d'associació amb pedigris complexos, famílies, efectes fundadors i estructura poblacional. Una altra virtut d'aquesta eina és la capacitat de gestionar una àmplia gamma d'indels (insercions i delecions).

4. Resultats

El fitxer '.vcf' amb la informació genètica va ser carregat en TASSEL per a procedir amb l'anàlisi. Per tal d'eliminar informació espúria i SNP falsos potencialment resultat d'errors de seqüenciament, es van aplicar els següents filtres: Site Count = 52; Minimum Allele Frequency = 0,05; Maximum Allele Frequency = 0,95; Maximum Heterozygous Proportion = 0,75. Un cop filtrats, dels 44315 SNP originals del fitxer vcf, es va eliminar el 96,64% del total, resultant en una quantitat final de 1490 SNP robustos i fiables que es van utilitzar per a procedir amb l'anàlisi. El programa TASSEL també conté eines per a l'anàlisi genètic, les quals, en aquest cas, seran principalment utilitzades per a avaluar la variabilitat genètica i visualitzar els resultats a través de diferents representacions gràfiques.

Inicialment, es va realitzar una PCA incorporant totes les entrades de la col·lecció i els controls, com es mostra a la Figura 3. Es pot observar que la majoria de les varietats estan agrupades en la part central de l'espai de components principals. A més, es vislumbra una desviació espacial d'aquest agrupament central a l'esquerra, on estan situades ELP1, ELP2 i ELP3. En contrast, es pot observar una distribució espacial alternativa a la part superior dreta, amb RAF1, ELI2, CDF1 i TTO2.

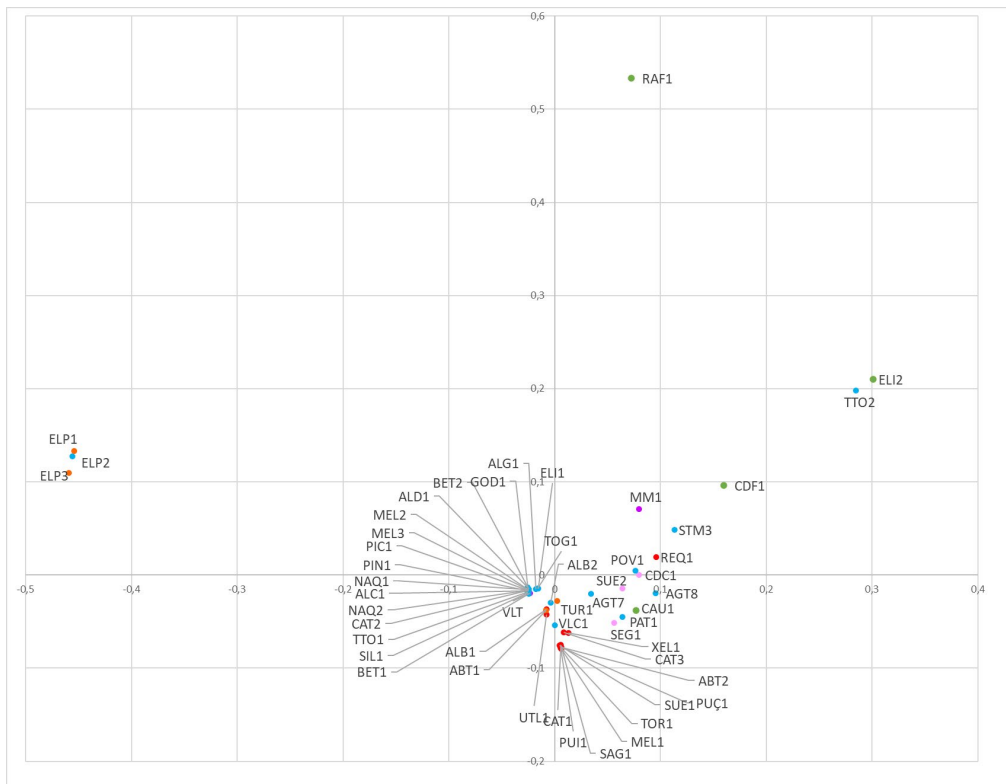


Fig 4. ACP de la col·lecció de 'Tomata Valenciana' basada en els 1490 SNP resultants de l'anàlisi genètica. Les mostres han estat colorades segons la tipologia de cada entrada determinada per les seues característiques morfoagronòmiques. Blau = "Blanca"; Roig = "Masclat"; Taronja = "Intermèdia"; Rosa = "Rosa"; Verd = "Fora de tipus"; Lila = "Control"

El posicionament de les ELP (ELP1, ELP2 i ELP3) obeeix a la seua condició de varietats millorades per la introgressió del gen *Tm2²* en homocigosi amb l'objectiu de fer aquestes varietats més robustes front a malalties típiques del cultiu. La introgressió de gens sol portar associada la introducció en les varietats de fragments d'ADN lligats genèticament a les regions gèniques que determinen aquestes resistències, encara que no estiguen implicats de forma directa en aquestes, fenomen conegut com 'linkage drag' (Kashyap, A., et. Al. 2022). D'aquesta manera, era d'esperar que aquestes 3 entrades presentaren diferències respecte a la resta de la població si s'hi té en compte exclusivament la informació genètica.

D'altra banda, tenim RAF1, ELI2 i CDF1. Aquestes entrades, juntament amb CAU1, van ser incloses en la col·lecció avaluada al figurar com a varietats tipus valencià en les dades de recol·lecció, però després de la seua caracterització morfoagronòmica, han sigut catalogades com a varietats "Fora de tipus" perquè no s'ajusten als estàndards de lo que es considera 'Tomata

Valenciana'. També s'evidencia a nivell genètic excepte en el cas de CAU1 que sí que s'agrupa amb les entrades valencianes. Com també s'ha citat ja, pot ser degut a que siga resultat d'un creuament amb formes o varietats de tomaca tipus 'Valenciana'. Destacar el cas de l'entrada TTO2. Aquesta també es diferencia de la resta d'entrades tot i que, aparentment, és una tomaca de tipus valenciana.

Malgrat la informació que es pot extraure d'aquest anàlisi inicial, és important assenyalar que la presència d'entrades genèticament llunyanes del nucli de la col·lecció de tomaques valencianes dificulta l'avaluació de la seua variabilitat genètica interna. Això complica la selecció d'entrades que formarien part de la futura col·lecció principal. Per tant, les entrades ELP1, ELP2, ELP3 i RAF, que van introduir el soroll més gran en l'anàlisi, van ser excloses.

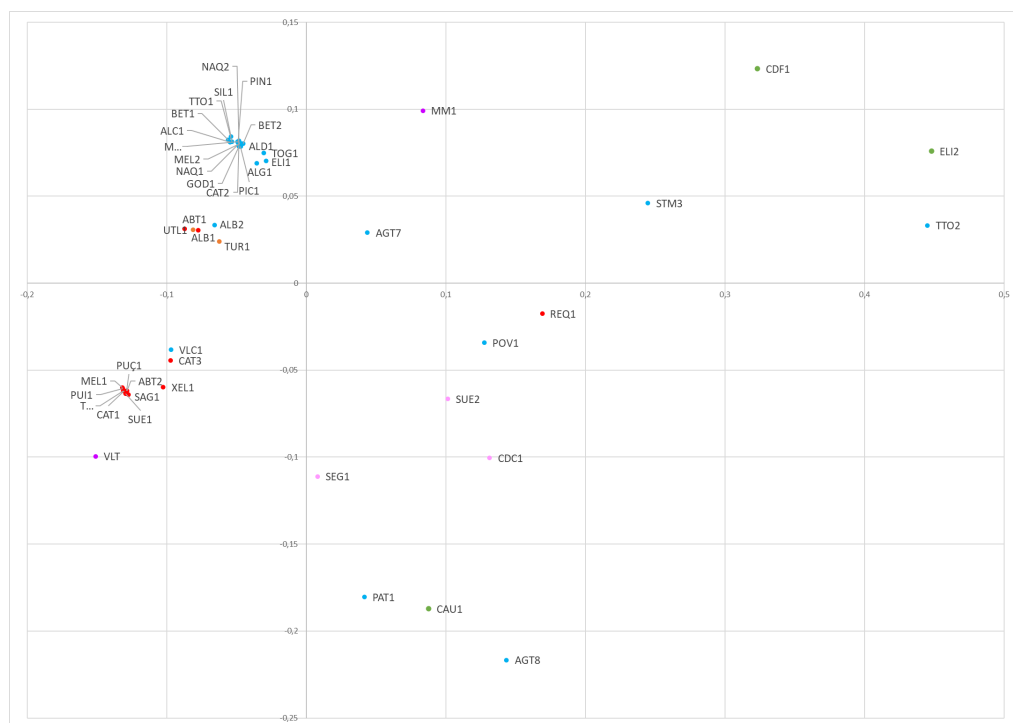


Fig. 5 ACP de la col·lecció de 'Tomata Valenciana' basada en els 1490 SNP resultants de l'anàlisi genètic, en aquest cas, sense les entrades ELP1, ELP2, ELP3 i RAF.

El codi de colors es manté igual al del PCA de la Figura 4

En aquest nou PCA (Figura 5), la disposició espacial de les entrades és més clara i permet diferenciar diverses agrupacions mostrejades. Els dos controls, VLT i MM, es disposen en la part central del gràfic. A més, aquest segon ACP permet observar moltes entrades que fenotípicament es consideren 'Tomata Valenciana' no s'agrupen genotípicament amb el subtípus que se'ls suposa, com és el cas del tipus 'Rosat' (SEG1, SUE2 i CDC1). Aquestes entrades

inicialment també formaven part de la col·lecció, però la seua morfologia, així com el seu color rosa-taronja, van determinar que pertanyen a un subconjunt apart, encara que probablement derivat de varietats de Tomata Valenciana.

A la part superior esquerra de l'espai de components principals, colorades de blau, es troben les mostres que, després de la caracterització morfoagronòmica, van ser catalogades com a tipologia 'Blanca'. Més avall, a la zona esquerra, s'agrupen les mostres de tipus 'Masplet', colorades en vermell. Entre aquestes 2 agrupacions es forma un petit grup de mostres que confirma les sospites derivades de la caracterització morfoagronòmica de la col·lecció, en les quals es va intuir que és possible que existisca una tercera tipologia, catalogada inicialment com a 'Intermèdia' amb característiques compartides entre el tipus 'Blanca' i 'Masplet'.

5. Conclusions

La caracterització genètica d'aquesta col·lecció d'entrades de tomata Valenciana té una importància crucial en l'àmbit agrícola i científic. A través d'aquest procés, es pot obtenir informació detallada sobre la diversitat genètica present en aquestes entrades. Complementant la caracterització morfoagronòmica tradicional, que se centra en aspectes visibles de la planta i els seus fruits com l'hàbit de creixement, tipus de fulla, mida, color i rendiment dels fruits, la caracterització genètica ofereix una comprensió més profunda de la base genètica subjacent a aquestes característiques. Esta combinació d'enfocaments facilita la selecció i el desenvolupament de varietats de tomata amb unes característiques superiors.

La caracterització genètica, a més, refrena observacions donades durant la caracterització morfoagronòmica i permet descobrir característiques imperceptibles a l'ull humà o altres que poden estar camuflades o influenciades per factors ambientals que impedeixen la seua anàlisi fenotípica amb precisió. En aquest cas d'estudi, gràcies a la caracterització genètica realitzada mitjançant SPET i TASSEL s'ha descobert entre altres coses que les entrades catalogades com a 'Fora de tipus', no es corresponien amb varietats de tipus valencià. A més, també ha sigut possible identificar varietats en la col·lecció que, malgrat ser considerades com a tradicionals, són el resultat de programes de millora genètica (ELP-1, ELP-2 i ELP-3) i entrades de tipus 'Rosat' (SEG1, SUE2 i CDC1) que tampoc haurien de pertànyer a una col·lecció de tomata Valenciana.

D'altra banda, la disposició espacial de les mostres en el PCA (Figura 5) corrobora les sospites que havien derivat de la caracterització dels fruits d'algunes entrades. De l'anàlisi fenotípica dels fruits s'intuïa l'existència de varietats que no es podien classificar en les tipologies tradicionals ('Masplet' i 'Blanca') ja que mostraven fenotips a cavall entre aquestes. Estes entrades, catalogades com a 'Intermitges' (ABT1, TUR1 i UTL1), podrien formar part d'un nou subtipus de tomata Valenciana que fins a la data no s'ha considerat com a tal juntament amb altres entrades de la col·lecció que espacialment es situen prop d'elles (ALB1 i ALB2).

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.

7. Referències bibliogràfiques

- Acciarri, N., Sabatini, E., Ciriaci, T., Rotino, L. G., Valentine, D., and Tamietti, G. (2010). The presence of genes for resistance against *verticillium dahliae* in Italian tomato landraces. *Eur. J. Hortic. Sc.* 75 (1), 8–14. 1611–4426
- Alcubierre, L. (2016). Caracterización morfológica y agronómica de una colección de variedades tradicionales de tomate [Trabajo Final de Máster, Universitat Politècnica de València]. Riunet.
- Barchi L, Acquadro A, Alonso D, Aprea G, Bassolino L, Demurtas O, Ferrante P, Gramazio P, Mini P, Portis E, Scaglione D, Toppino L, Vilanova S, Díez MJ, Rotino GL, Lanteri S, Prohens J and Giuliano G (2019) Single Primer Enrichment Technology (SPET) for High-Throughput Genotyping in Tomato and Eggplant Germplasm. *Front. Plant Sci.* 10:1005. doi: 10.3389/fpls.2019.01005
- Casañas, F., Simó, J., Casals, J., and Prohens, J. (2017). Toward an evolved concept of landrace. *Front. Plant Sci.* 8. doi: 10.3389/fpls.2017.00145
- Cebolla-Cornejo, Jaime & Soler, S & Nuez, F. (2007). Genetic erosion of traditional varieties of vegetable crops in Europe: tomato cultivation in Valencia (Spain) as a case Study. *International Journal of Plant Production.* 1.
- Digilio, M. C., Corrado, G., Sasso, R., Coppola, V., Iodice, L., Pasquariello, M., et al. (2010). Molecular and chemical mechanisms involved in aphid resistance in cultivated tomato. *New Phytol.* 187, 1089–1101. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03314.x
- Ebert AW, Engels JMM. Plant Biodiversity and Genetic Resources Matter! *Plants.* 2020; 9(12):1706. <https://doi.org/10.3390/plants9121706>
- Hall, T. J. 1980. Resistance at the Tm-2 locus in the tomato to tomato mosaic virus. *Euphytica* 29:189-197.
- Kashyap, A., Garg, P., Tanwar, K. et al. Strategies for utilization of crop wild relatives in plant breeding programs. *Theor Appl Genet* 135, 4151–4167 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04220-x>
- Mavromatis, A. G., Athanasouli, V., Vellios, E., Khah, E., Georgiadou, E. C., Pavli, O. I., et al. (2013). Characterization of tomato landraces grown under organic conditions based on molecular marker analysis and determination of fruit quality parameters. *J. Agric. Sci.* 5, 239–252. doi: 10.5539/jas.v5n2p239
- Newton, A. C., Akar, T., Baresel, J. P., Bebeli, P. J., Bettencourt, E., Blanenopoulos, K. V., et al. (2011). Cereal landraces for sustainable agriculture. *J. Agron. Sustain. Dev.* 30 (2), 237–269. doi: 10.1007/978-94-007-0394-0_10

Avaluació de la diversitat genètica del germoplasma de la 'Tomata Valenciana' utilitzant el genotipat SPET i l'anàlisi bioinformàtic

- Soler, S.; Figàs, MR. & Prohens Tomàs, J. (2017). I Congrés de la tomaca valenciana. La tomaca valenciana d'el Perelló. Universitat Politècnica de València.
- Terzopoulos, P. J., and Bebeli, P. J. (2008). DNA And morphological diversity of selected Greek tomato. *Scientia Horti*. 116, 354–361. doi: 10.1016/j.scienta.2008.02.010
- van Andel T, Vos RA, Michels E, Stefanaki A. Sixteenth-century tomatoes in Europe: who saw them, what they looked like, and where they came from. *PeerJ*. 2022 Jan 17;10:e12790. doi: 10.7717/peerj.12790. PMID: 35111406; PMCID: PMC8772448.