

Editando el futuro de la MEJORA GENÉTICA DE TOMATE

A medida que profundizamos en nuestra comprensión sobre la genética y los mecanismos moleculares que regulan el crecimiento y la reproducción de las plantas de tomate, podemos impulsar estrategias de mejora genética basadas en el conocimiento y dirigidas a optimizar la productividad de este cultivo, e incluso ofrecer alternativas a los desafíos que supone el cambio climático.

RAFAEL LOZANO, JUAN CAPEL, FERNANDO J. YUSTE-LISBONA

Departamento de Biología y Geología (Unidad de Genética). Centro de Investigación en Agrosistemas Intensivos Mediterráneos y Biotecnología Agroalimentaria (CIAIMBITAL). Universidad de Almería

La nueva normativa de la Comisión Europea abre la puerta al uso de las nuevas tecnologías genómicas para el desarrollo de nuevas variedades de todos los cultivos, y de tomate en particular. Ello podría reducir significativamente el tiempo y el coste económico de los programas de mejora basados en métodos convencionales. Promover el uso de tecnologías más eficientes y sostenibles, no solo beneficia a los agricultores reduciendo gastos e incrementando la productividad, también supone avanzar hacia un sistema agrícola más respetuoso con el medio ambiente, alineado con los objetivos de sostenibilidad del Pacto Verde Europeo. Esto nos acerca a construir un futuro alimentario más saludable, equitativo y sostenible para todos.

Al principio fue Mendel y la selección de “las mejores”

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) representa de las hortalizas más consumidas y apreciadas en todo el mundo por su alto valor nutricional (vitaminas, carotenoides, compuestos fenólicos, y otros antioxidantes). Con aproximadamente 5 millones de hectáreas destinadas a su cultivo, una producción de 186,11 millones de toneladas y un rendimiento de 37,84

toneladas por hectárea (FAOSTAT, 2022), el tomate es un cultivo hortícola líder a nivel mundial, a la vez que un componente fundamental de la dieta de millones de personas. Además de su importancia económica y nutricional, el tomate es considerado el organismo modelo por excelencia dentro de las especies de fruto carnoso (Li y col., 2018), situándose como la piedra angular de la investigación biológica y la mejora genética de los cultivos de solanáceas, como la patata, el pimiento o la berenjena.

La domesticación y mejora genética del tomate se remonta a las antiguas civilizaciones precolombinas de América Latina. Los primeros agricultores aprovecharon la variabilidad genética generada por mutaciones espontáneas en la naturaleza para seleccionar e introducir características deseables en este cultivo, plantas más vigorosas y mejor adaptadas, productoras de frutos de mejor tamaño y sabrosos. Con la llegada de los españoles a América y la posterior dispersión del tomate por el mundo, se inició un proceso de adaptación del cultivo y de mejora genética un tanto inconsciente basada en la elección y propagación, que no en la selección, de las mejores plantas. A principios del siglo XX, el nacimiento de la Genética y los principios mende-

lianos de la herencia supuso una etapa clave en la mejora genética de los cultivos, al poder incluir métodos basados en la selección de líneas y cruzamientos entre progenitores convenientemente escogidos con el fin de identificar y seleccionar, entre sus descendientes, aquellas plantas que hereden los rasgos deseados. Desde entonces, el proceso de mejora genética del tomate ha sido constante, y en las últimas décadas ha experimentado los avances quizás más notables entre todas las especies cultivadas. Ello ha sido fruto de integrar métodos tradicionales de hibridación con las últimas técnicas en biotecnología vegetal. En esta trayectoria, los objetivos de mejora han ido cambiando para adecuarse a las necesidades de los productores de cada zona de cultivo. Sin embargo, la resistencia a plagas y enfermedades, caracteres relativos a la vida útil, la calidad organoléptica y nutricional del fruto, han estado siempre presentes en los mejoradores de tomate. Más recientemente, factores impuestos por el cambio climático, nos hacen añadir a las nuevas variedades propiedades como la tolerancia a sequía, temperaturas extremas o salinidad, que sin duda constituyen nuevos desafíos para la mejora genética de tomate en particular, pero también para la agricultura mundial

de los próximos años. Es importante señalar que las actuales metodologías de mejora genética siguen procedimientos similares desde hace más de 200 años, aprovechando la variación genética, ya sea natural o inducida, para incorporar nuevos caracteres al tomate. Un buen ejemplo es la mutación *hairplus*, cuyo análisis ha demostrado que dicha variante corresponde a una nueva forma de un gen que confiere tolerancia a plagas gracias a la mayor densidad de tricomas que promueve (Figura 1; Fonseca y col., 2018). El estudio de la variación resulta esencial para descubrir nuevos genes y conocer la función que estos desempeñan, elemento necesario cuando se incorporen las nuevas técnicas de edición genética basadas en el conocimiento preciso de los genes que determinan las características necesarias para cada variedad.

El conocimiento del genoma de tomate revolucionó las estrategias de mejora genética

En los primeros años del siglo XXI se hizo patente que la tecnología científica desarrollada durante el proyecto de secuenciación del genoma humano era lo suficientemente efectiva como para permitir la secuenciación de los genomas de otras especies. Debido a su interés económico a nivel mundial, uno de los primeros genomas vegetales en ser secuenciado fue el de tomate. Las aplicaciones comerciales de la información generada promovieron la creación de un consorcio internacional, que inició sus trabajos en 2004, y que incluía investigadores de Estados Unidos, Argentina, Alemania, Corea, China, Francia, India, Israel, Italia, Países Bajos, Reino Unido, Japón y España. El proyecto original consistía en la secuenciación de aquellas regiones del genoma que contienen la mayor cantidad de genes (regiones de eucromatina). Los investigadores españoles, entre los que figuraban los autores de este trabajo, secuenciaron la eucromatina del cromosoma 9, uno de los 12 que componen el genoma de tomate. Al poco tiempo, se obtuvo el primer genoma de esta hortícola (The

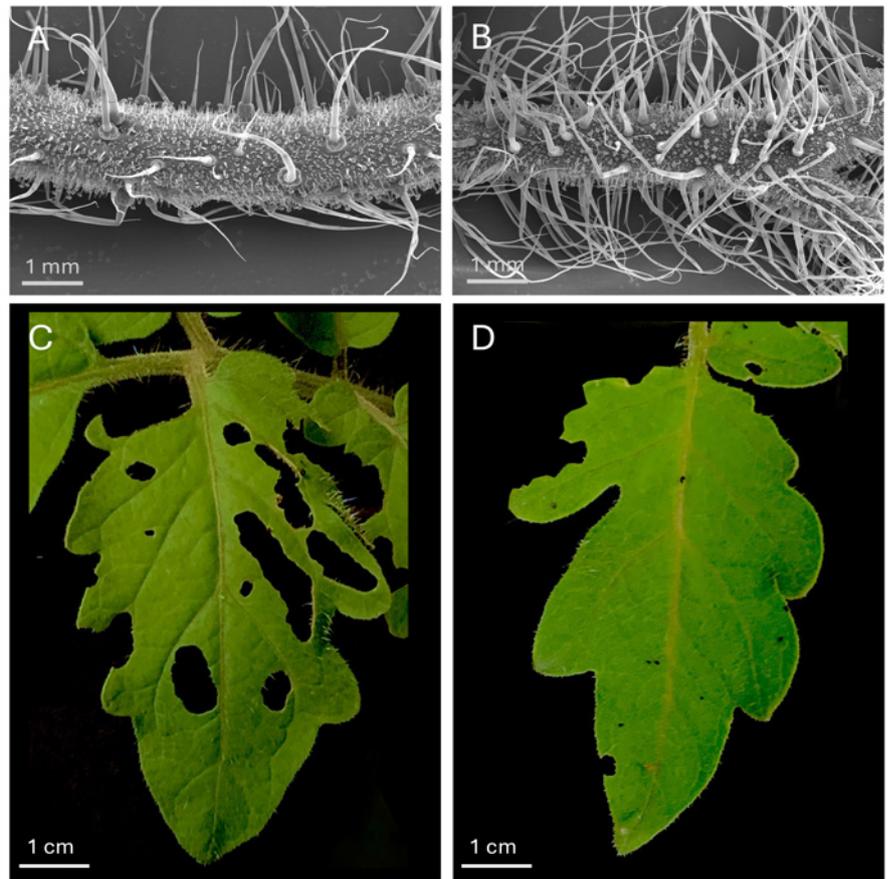


FIGURA 1 Las plantas de tomate con mayor densidad de tricomas son más resistentes a plagas como *Helicoverpa armigera* (Hübner). Cuando se observa el tallo de la inflorescencia mediante microscopio electrónico de barrido (SEM), se advierte que las plantas normales de tomate (A) tienen una menor densidad de tricomas (A) en comparación con plantas portadoras de la mutación *hairplus* (B). Esta característica hace que los daños causados por la plaga después de 15 días alimentándose en hojas de normales (C) sean mucho mayores que los mostrados por plantas con mayor densidad de tricomas (D).

Tomato Genome Consortium, 2012), con un gran impacto científico-técnico a nivel mundial, si bien este aún contenía algunas lagunas.

En paralelo a la secuenciación del genoma de tomate, se iniciaron otros proyectos encaminados a la aplicación práctica de la información que se obtendría del mismo. En ese contexto, nuestro grupo de investigación generó un mapa genético de tomate con alta densidad de marcadores, en el que se localizaron las regiones del genoma (denominadas QTLs) que controlan la herencia de caracteres importantes relacionados con la calidad del fruto. A modo de ejemplo, determinamos que el peso de los frutos depende de siete QTLs ubicados en cuatro cromosomas

distintos. Del mismo modo, pudimos concluir que las variaciones heredables en el peso, la acidez, o el contenido en sólidos solubles, licopeno y otros carotenoides se localizan en QTLs específicos, pero distribuidos en los doce cromosomas (Capel y col., 2015). La utilización de esta información en la mejora genética del tomate era inmediata, si bien técnicamente resultaba complicado diseñar un programa de mejora genética que incluyera múltiples caracteres y, por tanto, la selección de varias regiones del genoma al mismo tiempo.

Los avances científicos en los albores de este siglo permitieron disponer de la secuencia del genoma de numerosas especies, incluyendo microorganismos,

plantas y animales. A su vez, ello hizo posible el desarrollo de nuevas técnicas de secuenciación de genomas, excepcionalmente rápidas, y menos costosas. Junto a la especie cultivada de tomate, se conocen 12 especies de tomates silvestres que se utilizan frecuentemente en programas de mejora genética como donadores de caracteres de interés agronómico (resistencia a plagas y patógenos, calidad de fruto y tolerancia a estreses ambientales). Mejorar cada uno de estos caracteres requería numerosas generaciones de cruzamientos y selección para recuperar los caracteres de aspecto, forma y color de la especie cultivada. Con las nuevas tecnologías de secuenciación, ya se han secuenciado casi 100 genomas de esos donadores silvestres, además de varios cientos de variedades de la especie cultivada. Toda esta información se integra en lo que se denomina el Pangenoma de tomate (Li y col., 2023), en el que se pueden conocer las diferencias entre los genomas cultivado y silvestre, y seleccionar aquellas variantes de interés. Además, estamos empezando a conocer en detalle los cambios en el genoma del tomate que han ocurrido como consecuencia de la domesticación de las especies silvestres ancestrales, *S. pimpinellifolium* y *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* y los cambios debidos a la mejora genética de las actuales variedades cultivadas. A esta ingente cantidad de información se añaden las nuevas aproximaciones bioinformáticas para el análisis de las secuencias genómicas, que hacen posible en pocos días la identificación de los genes responsables de cada carácter que se herede de forma mendeliana (Yuste-Lisbona y col., 2021). A diferencia de los programas de mejora basados en selección fenotípica y marcadores moleculares, que se centraban en una región genómica, que podía contener uno o numerosos genes, las actuales estrategias de mejora genómica permiten seleccionar, de manera simultánea, las variantes adecuadas de muchos genes específicos, siempre que se conozca la función de estos. Y es esta la mayor limitación con la que se encuentra la mejora genética de nuestros días, el co-

nocer la función de todos los genes que contiene el genoma del tomate y de las especies silvestres que sirven como valioso reservorio de variación genética. Como en medicina y en ganadería, son necesarios proyectos de investigación competitivos para llegar a conocer el papel que tiene cada uno de los genes que importan para mejorar el cultivo de tomate. Únicamente de esa forma podremos llegar a aprovechar en su totalidad la información que comenzó a proporcionarnos en 2012 la primera versión del genoma de esta hortícola.

Editar para mejorar: innovaciones en la mejora genética de tomate

Conocer la función de nuevos genes de tomate adquiere especial relevancia para incorporar las nuevas tecnologías genómicas (NGT, por sus siglas en inglés, New Genomic Techniques) en programas de mejora innovadores

y eficaces. Entre tales NGT destaca la edición genética mediante CRISPR/Cas. En su versión original, se trata de un mecanismo que las bacterias utilizan de forma natural para defenderse de la infección continuada por parte de virus. Variaciones de esta herramienta permiten utilizar una guía para dirigir una enzima Cas a un sitio específico del ADN y realizar cortes precisos, como si de un bisturí molecular se tratara. Ello posibilita la sustitución, adición, eliminación o modificación de la secuencia de genes que puedan tener un interés biotecnológico en cualquier organismo (Figura 2). Esta capacidad para editar, de manera precisa, la secuencia del ADN ha sido reconocida con el Premio Nobel de Química en 2020, otorgado a las investigadoras Emmanuelle Charpentier y Jennifer Doudna.

La tecnología CRISPR/Cas ha revolucionado la investigación biomédica,

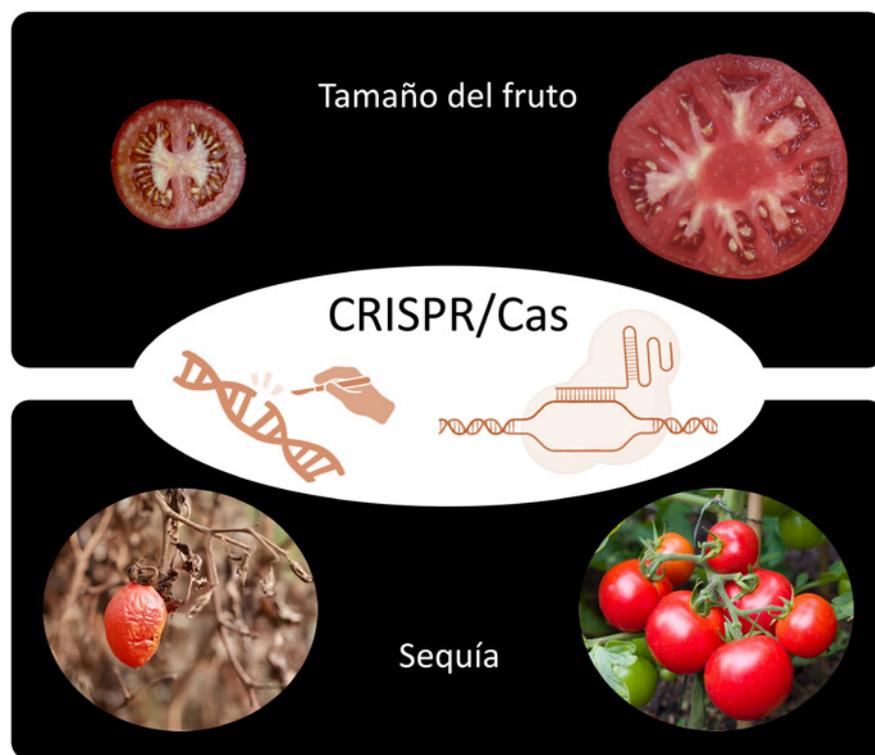


FIGURA 2

La tecnología CRISPR/Cas ha irrumpido en diferentes ámbitos científico-técnicos, desde la medicina a la agronomía (centro). Se trata de una tecnología que permite editar la secuencia de genes de interés agronómico, generando nuevas variantes que hacen a las plantas, y en concreto al tomate, incrementar su tamaño y producción (panel superior) o la tolerancia condiciones de sequía (panel inferior). En los paneles superiores e inferiores se muestran el aspecto de variedades estándar de tomate (izquierda) y las correspondientes líneas obtenidas mediante edición CRISPR/Cas (derecha).

pero de la misma manera lo está haciendo en el caso de la investigación agraria, uno de cuyos pilares es la mejora genética. En un escenario marcado por el cambio climático, la producción de tomate se ve limitada por factores como la sequía, la temperatura, la salinidad y los ataques de plagas y enfermedades. El aumento de las temperaturas y la escasez de recursos hídricos que afectan a la región mediterránea están provocando una reducción en la cantidad y viabilidad del polen, lo que se traduce en una disminución en el cuajado y la producción de frutos. Para abordar estos desafíos, Gupta y col. (2021) han desarrollado líneas editadas del gen *AGL6* mediante CRISPR/Cas capaces de producir en condiciones de temperaturas extremas, tomates con peso y forma comparables a los obtenidos en condiciones favorables. Otros factores como la sequía o el estrés salino desencadenan la producción de óxido nítrico, lo que a su vez aumenta

la síntesis de prolina, ayudando así a reducir el potencial hídrico celular y a mantener las funciones celulares. Con base en este conocimiento, Liu y col. (2024) han editado el gen *SLP5CR*, implicado en la síntesis de prolina y que codifica la enzima $\Delta 1$ -pirrolina-5-carboxilato reductasa, y han desarrollado mediante CRISPR/Cas una variante de esta enzima que mejora su actividad enzimática. Tal modificación permite a las plantas de tomate aumentar los niveles de prolina y mejorar el uso del agua, a la vez que eliminan algunas especies reactivas de oxígeno y excretan el sodio; todo ello hace que estas líneas CRISPR/Cas puedan crecer mejor e incrementar su producción bajo condiciones de sequía y salinidad. Los investigadores de nuestro grupo de Genética y Fisiología del Desarrollo Vegetal de la Universidad de Almería estamos utilizando las NGT como estrategia para desarrollar tomates climáticamente inteligentes capaces de resistir las incre-

mencias ambientales. Nuestros proyectos ToMaTo (TED2021-132141B-C22) e INNATO (TED2021-131400B-C31), financiados con fondos NextGeneration en el marco de los Proyectos de Transición Ecológica y Digital, tienen como objetivo principal comprender los determinantes genéticos, las vías de señalización y los procesos metabólicos relacionados con la tolerancia a estreses ambientales en las plantas de tomate. Para lograr este fin, estamos utilizando un enfoque multidisciplinario que combina técnicas avanzadas de genómica, edición CRISPR/Cas, transcriptómica y metabolómica, junto con herramientas de bioinformática y análisis de datos que nos permitan trasladar estos conocimientos a los programas de mejora genética de esta hortícola. Igualmente, se está empleando la tecnología CRISPR/Cas para desarrollar variedades de tomate tolerantes al virus del rugoso del tomate



El poder de las enzimas, la fuerza de la tecnología

- Alta calidad de las materias primas.
- Exclusivo proceso de obtención.
- Propiedades biológicas contrastadas.
- Aumenta la tolerancia y resistencia frente al estrés.



(ToBRFV), una amenaza que se está propagando rápidamente por todo el mundo y que afecta tanto a la calidad y al rendimiento del cultivo. Ishikawa y col. (2022) han editado los cuatro homólogos de TOM1, un gen esencial para la multiplicación de tobamovirus. Las plantas cuádruples mutantes no mostraron acumulación detectable de ToBRFV ni cambios en el crecimiento o la producción de frutos. Además, encontraron que estas plantas también son resistentes a otras tres especies de tobamovirus. En definitiva, en breve podremos disponer de variedades de tomate más resistentes a virosis, en especial las transmitidas por mosca blanca, y con ello disminuir la dependencia de pesticidas, dando pasos hacia una agricultura más ecológica y saludable. Hoy en día, la comunidad científica y los organismos internacionales están convencidos que el uso de las NGT facilitará el desarrollo de cultivos mejor adaptados a cambios climáticos y a plagas y enfermedades emergentes, que a la vez ofrezcan un mayor rendimiento y precisen de menos fertilizantes y plaguicidas. Esto supondrá un avance significativo hacia un sistema alimentario más sostenible y robusto. Es importante destacar que, aunque estas técnicas no están siendo actualmente utilizadas en la Unión Europea debido a que las variedades obtenidas mediante NGT están sujetas a las mismas normas que los organismos modificados genéticamente (OMG), esta situación está empezando a cambiar. El 7 de febrero de 2024, el Parlamento Europeo respaldó la propuesta de establecer dos categorías diferentes y dos paquetes de normativas para los vegetales obtenidos mediante NGT. Aquellos considerados equivalentes a los convencionales, como los obtenidos mediante la tecnología CRISPR/Cas, quedarían exentos de los requisitos de la legislación sobre OMG (NGT de categoría 1), mientras que los demás estarían sujetos a regulaciones más rigurosas (NGT de categoría 2). Las líneas principales de la propuesta regulatoria sobre plantas obtenidas mediante NGT se pueden consultar en la web del Ministerio de Agricultura,

Gracias a la edición genética, en breve podremos disponer de variedades de tomate más resistentes y adaptadas a los desafíos del cambio climático

Pesca y Alimentación (https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/biotecnologia/2023_08_30_principales-temas-propuestas-angt_tcm30-660388.pdf). La Eurocámara también aboga por prohibir las patentes sobre este tipo de vegetales y su material genético, con el fin de evitar incertidumbres legales y mayores costos para agricultores y obtentores. Actualmente, el Parlamento europeo ha iniciado negociaciones con los Estados miembros para que adopten su posición y sea posible aprobar una ley definitiva que regule de manera clara y precisa el uso de las NGT en la Unión Europea, un paso es fundamental para promover la innovación en la agricultura europea, garantizar la seguridad alimentaria y promover prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente. De esta manera, los futuros programas de mejora genética de tomate serán más eficientes, y dadas las ventajas de las NGT, harán posible la obtención de variedades más productivas y adaptadas a los desafíos del cambio climático.

Agradecimientos

Los resultados descritos en este trabajo han sido obtenidos en el marco de proyectos de investigación financiados por el Ministerio de Ciencia,

Innovación y Universidades (y cofinanciados por la Unión Europea), en concreto PID2022-142901NB-I00, TED2021-131400B-C31 y TED2021-132141B-C22.

Bibliografía

- Capel C. y col. (2015). *Wide-genome QTL mapping of fruit quality traits in a tomato RIL population derived from the wild-relative species Solanum pimpinellifolium L. Theoretical and Applied Genetics*, 128, 2019–2035.
- FAOSTAT (2022). *Food and agriculture statistics*. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Fonseca R. y col. (2022). *Functional characterization of the tomato HAIR-PLUS gene reveals the implication of the epigenome in the control of glandular trichome formation*. *Hort. Res.* 9:uhab015.
- Gupta S.K. y col. (2021). *Tomato agamous-like6 parthenocarpy is facilitated by ovule integument reprogramming involving the growth regulator KLUH*. *Plant Physiol.* 185:969-984.
- Ishikawa M. y col. (2022) *Tomato brown rugose fruit virus resistance generated by quadruple knockout of homologs of TOBAMOVIRUS MULTIPLICATION1 in tomato*. *Plant Physiol.* 189:679-686.
- Li N. y col. (2023). *Super-pangenome analyses highlight genomic diversity and structural variation across wild and cultivated tomato species*. *Nat. Genet.* 55:852-860.
- Li Y. y col. (2018). *Can the world's favorite fruit, tomato, provide an effective biosynthetic chassis for high-value metabolites?* *Plant Cell Reports* 37:1443-1450.
- Liu W. y col. (2024) *Genetic engineering of drought- and salt-tolerant tomato via $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate reductase S-nitrosylation*. *Plant Physiol.* 195:1038-1052.
- The Tomato Genome Consortium (2012). *The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution*. *Nature* 485, 635–641.
- Yuste-Lisbona F.J. y col. (2021). *Effective mapping by sequencing to isolate causal mutations in the tomato genome*. *Methods Mol. Biol.* 2264: 89–103.