

LA TOMATA 'VALENCIANA D'EL PERELLÓ': COMPARACIÓ DE LES SEUES CARACTERÍSTIQUES GENÈTIQUES I FENOTÍPIQUES AMB EL CONJUNT DE TOMATES TRADICIONALS EUROPEES

C. Pons¹, A. J. Monforte¹, M.R. Figàs², S. Soler², J. Blanca², P. Ziarsolo², J. Cañizares², M.J. Díez², J. Prohens², A. Granel¹ (en representació del Consorci TRADITOM)

¹Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas Primo Yufera.
Carrer de l'Enginyer Fausto Elio, s/n, 46011 València. CPI ED 8H

²Instituto de Mejora y Conservacion de la Agrodiversidad Valenciana,
Universitat Politècnica de València, Camí de Vera 14, 46022 València

**cpons@upvnet.upv.es*

Resumen

La tomaca 'Valenciana d'El Perelló', procedent de la regió espanyola de l'Horta de València, representa una de les varietats locals valencianes més importants i apreciades pel mercat fresc. Tot i això, encara no tenim una tipificació i caracterització detallada d'aquesta varietat, que és un requisit previ per a la identificació de les característiques distintives específiques i objectives d'aquest tipus de tomaca. En aquest treball es van comparar els trets genètics i fenotípics de la varietat de tomat 'Valenciana', en particular, la 'Valenciana d'Perelló', contra més de 1000 varietats tradicionals amb la finalitat de proporcionar la base per distingir la tomaca 'Valenciana d'Perelló' d'una sèrie d'altres varietats locals anomenades com a 'Valenciana' d'aquells similars dins de la col·lecció de tomates tradicionals europea. La caracterització morfològica, basada en els 10 trets morfològics qualitius de fruit indica que malgrat les diferències entre poblacions, aquests trets no discriminen tipus varietals. El genotipatge de les varietats tradicionals europees revelen una estructura genètica ben definida de 'Valenciana d'El Perelló' diferent d'altres tomaques valencianes o europees amb característiques similars. En particular, 18 variants de seqüència SNP són suficients per distingir clarament el tipus de tomata 'Valenciana d'El Perelló' d'altres varietats 'Valenciana' i la varietat 'Valenciana' de la resta de tomaques tradicionals europees. Tenint en compte

això, els nostres resultats proporcionen una empremta genètica de la tomata 'Valenciana d'Perelló', útil per la valorització d'aquesta varietat local i per al seu ús en programes de millora o el seu certificat en els mercats d'alta qualitat.

Paraules clau: tradicional, empremta genètica, variabilitat

Abstract

The 'Valenciana d'El Perelló' tomato, originating from the Spanish region l'Horta de València, represents one of the most important and appreciated Valencian landraces for fresh market. Despite this, we still lack a detailed typification and characterization of this variety which is a prerequisite for identifying specific and objective distinctive characteristics of this type of tomato. In this work we compared genetic and phenotypic traits of the tomato variety 'Valenciana', in particular the 'Valenciana d'El Perelló', against more than 1000 traditional varieties in order to provide the basis to distinguish the tomato 'Valenciana d'El Perelló' from a number of other landraces named 'Valenciana' or to those similar within the traditional European tomato collection. Morphological characterization, based in 10 fruit morphological and qualitative traits indicated that despite differences between populations, these traits do not discriminate varietal types. The genotyping of European traditional varieties reveal a well defined genetic structure of 'Valenciana d'El Perelló' with respect to other Valencian or European tomatoes with similar characteristics. In particular, 18 sequence SNP variants are sufficient to distinguish clearly the tomato 'Valenciana d'El Perelló' type from other 'Valenciana' varieties and the 'Valenciana' variety from the rest of European traditional tomato. Taking this into account, our results provide the 'Valenciana d'El Perelló' tomato genetic fingerprint, starting point for the valorization of this landrace and for its use in breeding programs or its certified use in high quality markets.

Keywords: tradiciotial, genètic fingerprint, variability

1.- INTRODUCCIÓ

La tomata (*Solanum lycopersicum* L), originària de Mesoamèrica, va ser introduïda a Europa al voltant del segle XVI (Bauchet and Causse, 2012) on, al llarg dels segles, s'han desenvolupat un gran nombre de varietats locals adaptades al medi on es cultiva amb fruits de diferent formes i colors. Una de les regions amb major diversitat en varietats locals es la conca

Mediterrània especialment Espanya, Itàlia i Grècia, considerada el segon centre de diversificació d'aquest cultiu (Mazzucato *et al.*, 2008). A la regió de València les principals varietats tradicionals de tomata són les anomenades 'de borseta', 'del pebre', 'de penjar', 'de pruna', 'Mutxamel' i 'Valenciana' (Cebolla *et al.*, 2013; Figàs *et al.*, 2015). Entre elles, la tomata 'Valenciana' és una de les varietats més coneguda i apreciada per les seues propietats organolèptiques (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007). Els fruits de tomata 'Valenciana' són en general fruits de gran mida, amb lòculs petits distribuïts de forma irregular al voltant del cor de secció circular. Aquest tipus varietal presenta tres tipus de fruit (Borràs-Palomares, 2016). El tipus 'mascllet' amb forma de cor, que s'allarguen en la zona pistil·lar; el tipus 'femella', fruits lleugerament aplanats i en forma de cor, amb la regió pistil·lar indentada i amb cicatriu pistil·lar oberta; i el tipus 'rotllo', tomaques aplanades i que es desenvolupen irregularment a causa d'una fasciació de la flor.

Dins el grup varietal de tomata 'Valenciana', la tomata 'Valenciana d'El Perelló', de la Cooperativa Unió Protectora del Perelló (UNIPRO), és cada vegada més apreciada pels consumidors. Actualment té una producció mitjana anual al voltant de 800.000 Kg de tomaca que genera entre 1,2 i 1,4 milions d'euros (Borràs-Palomares, 2016). Al sector agroalimentari, de manera recurrent, quan un producte destaca i és valorat per la seua qualitat, apareixen en el mercat imitacions de menor qualitat, les quals acaben per erosionar la reputació de la marca (Casals *et al.*, 2011). Quan aquestes varietats locals són reconegudes amb una certificació o es garanteix l'estatus que les protegeix front la imitació o falsificació, adquireixen un valor afegit i són econòmicament atractives per els agricultors. (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007).

El problema radica en que les varietats locals sovint manquen d'una tipificació i caracterització correcta, el que dificulta identificar de manera específica i objectiva característiques distintives per a definir grups varietals (Figàs *et al.*, 2015). Mitjançant l'ús de caràcters morfològics/agronòmics, marcadors moleculars i bioquímics s'han observat nivells significants de diversitat genotípica i fenotípica entre varietats modernes i tradicionals (Labate *et al.*, 2009, Lin *et al.*, 2014). No obstant, es coneix poc sobre l'estructura i diversitat genètica d'aquestes poblacions de tomata local i tradicional, així com l'abundància de sinonímies indicant varietats anàlogues (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013). El coneixement d'aquestes característiques de diversitat i estructura genètica són claus per a la

valorització i conservació de les varietats tradicionals així com per desenvolupar estratègies òptimes per a la seua millora.

El projecte TRADITOM (traditom.eu) pretén identificar i valoritzar la diversitat genètica present a les varietats tradicionals de tomata europea així com incrementar la seua resiliència per tal d'alentir l'actual substitució d'aquestes varietats per d'altres més productives, més resistents però sovint amb un pitjor perfil sensorial. Aquest projecte inclou l'avaluació de caràcters agronòmics, morfològics, la composició química relacionada amb la qualitat del fruit i la variació genètica d'una gran col·lecció de tomata tradicional europea. Dins el context d'aquest projecte, en aquest treball hem realitzat un estudi exhaustiu a nivells morfològic i molecular per descriure i tipificar la varietat 'Valenciana' i en concret de la varietat 'Valenciana d'El Perelló'. L'objectiu es proporcionar informació genotípica i fenotípica per diferenciar la tomata 'Valenciana d'El Perelló' d'altres tomates valencianes o tomates europees de característiques similars.

2.- MATERIAL I MÈTODES

2.1.- Material vegetal

En aquest estudi es van utilitzar 1447 varietats de tomata tradicional europea del repositori del projecte TRADITOM. Aquest inclou 707 varietats d'Espanya, 119 de França, 405 d'Itàlia, 211 de Grècia i 3 d'Israel. En base a les dades de passaport aquesta col·lecció inclou les subpoblacions 'Valenciana' (56 varietats) i 'Valenciana d'El Perelló' (aquelles recol·lectades al Perelló)

2.2.- Anàlisis morfològic i qualitatiu

La caracterització fenotípica es va realitzar avaluant 8 caràcters descriptius del fruit (forma predominant del fruit, color extern del fruit, color de la pell, forma i intensitat de color dels múscles, fasciació del fruit, puffiness i pes del fruit) i 2 paràmetres de qualitat del fruit (Fermesa i °Brix). L'Anàlisi de Components Principals (PCA) es va fer utilitzant el software Acuity 4.0.

2.3.- Anàlisis molecular

Per realitzar els anàlisis moleculars és va utilitzar una matriu de 526 SNPs polimòrfics i 1347 varietats tradicionals de tomata que contenen el 80% dels SNPs. Per tal de conèixer l'estructura de la diversitat genètica

entre la població de tomata tradicional europea i ‘Valenciana’ i entre la ‘Valenciana’ i la ‘Valenciana d’El Perelló’ es va realitzar una Anàlisi Molecular de Variança (AMOVA) locus a locus per obtenir l’estimació de l’índex de fixació de Wright, F_{ST} (F_{ST}) amb el software Arlequin 3.11. Es va avaluar la hipotesis nula d’uniformitat genètica entre parells de poblacions. La significança es va determinar utilitzant 1000 permutacions. Un loci es va considerar fixat quan el $F_{ST} > 0.25$ p-valor < 0.01 (en el cas de la comparació entre tomata europea i ‘Valenciana’). En el cas de la comparació entre ‘Valenciana’ i ‘Valenciana d’El Perelló’, es van considerar sols aquells loci amb un p-valor $< 0,05$. El conjunt de tomata tradicional va ser analitzat amb els marcadors SNP seleccionats per Multidimensional Scaling Analysis (MDS) es va realitzar amb el programa TASSEL 5.0.

3.- RESULTATS I DISCUSSIÓ

3.1.- Avaluació morfològica

Per veure les principals característiques morfològiques i qualitatives del la tomata ‘Valenciana’ i ‘Valenciana d’El Perelló’ respecte a la tomata tradicional Europea es van avaluar 10 relacionats amb la morfologia i qualitat del fruit (Figura 1). En general podem dir que a Europa predominen les varietats (var.) que tenen fruits plans (445 var.) i rodons (270 var.), de color roig (895 var.), amb pell groga (1044 var.), amb un tamany del fruit mitja (354 var.) i xicotet (456 var.), amb muscles lleugera-moderadament deprimits (415 i 355 var., respectivament) i de color verd clar (438 var.) i intermig (585 var.), amb un índex de fasciació baix (665 var.), amb puffiness baix (480 var.) o absent (598 var.), amb un brix satisfactori (1069 var.) i una fermesa intermèdia (584 var.).

LA TOMATA 'VALENCIANA D'EL PERELLÓ': COMPARACIÓ DE LES SEUES CARACTERÍSTIQUES GENÈTIQUES I FENOTÍPIQUES AMB EL CONJUNT DE TOMATES TRADICIONALS EUROPEES

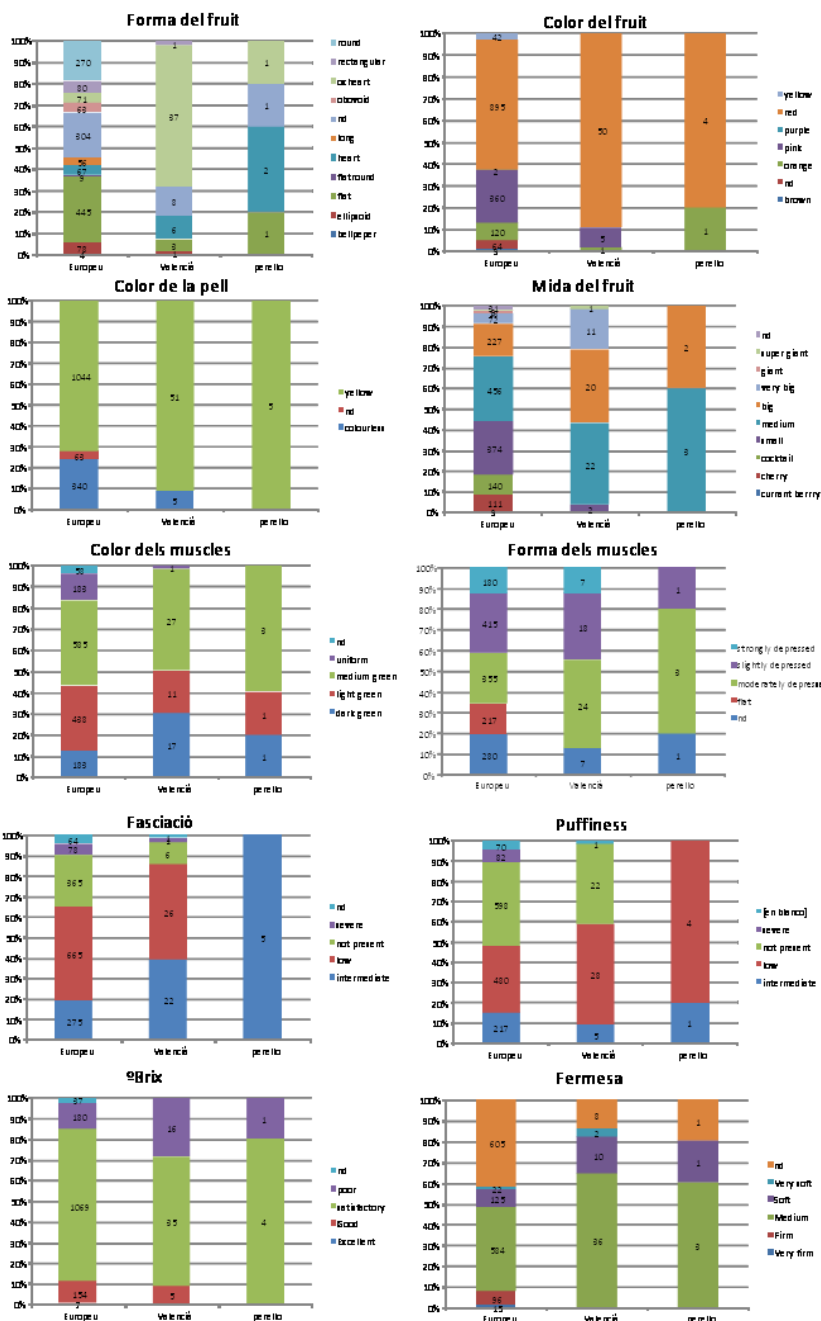


Figura 1.- Avaluació morfològica i qualitativa dels fruits del conjunt de varietats tradicionals europees en comparació als grups varietals 'Valenciana' i les 'Valenciana d'El Perelló'

Nombre de varietats pertanyents a cada classe de les característiques morfològiques i qualitatives en cadascuna de les poblacions avaluades. Europea (n= 1477); ‘Valenciana’ (n =56); ‘Valenciana d’El Perelló’ (n= 5). L’eix y representa el percentatge que representa cada classe sobre el nombre total de varietats en cada població. El nombre de varietats en cada classe està indicat. Pes del fruit: cherry (11-30g), cocktail (31-50g), xicotet (51-100g), mitjà (101-200g), gran (201-300g), molt gran (301-400g), gegant (401-500g), super-gegant(>501g). °Brix: pobre (<4), satisfactori (4-6), bo (6-8), excel·lent(>8). Fermesa: molt moll (<30), moll (30-40), intermèdia (40-60), ferm (60-70), molt ferm (>70). nd: no determinat

En el cas de les 56 varietats de tomata ‘Valenciana’ (Figura 1), els fruits tenen una forma predominant cor o oxheart (37 var.), de color roig (50 var.) i amb pell groga (51 var.), de mida mitjana a gran (22 i 20 var., respectivament), amb múscles lleugera-moderadament deprimits (10 i 24 var.) i de color verd intermedi (27 var.), amb un índex de fasciació baix-intermedi (20 i 22 var.), un puffiness absent o baix (28 i 22, var) amb un °Brix satisfactori (35 var.) i una fermesa intermèdia (36 var.)

Els fruits de les 5 entrades de tomata recollides al Perelló (Figura 1), que inclou la tomata de la cooperativa UNIPRO, tenen forma predominant de cor o oxheart (3 var en total), de color roig (4 var.) i amb la pell groga (5 var.), de tamany mitjà (3 var.), amb múscles moderadament deprimits (3 var.) i de color verd intermedi (3 var.), amb un índex de fasciació baix (5 var.) i un puffiness baix (5 var.), amb un °Brix satisfactori (4 var.) i una fermesa intermèdia (3 var.).

Taula 1.- Origen i nom de les entrades de tomata en la col·lecció TRADITOM que més l’assemblen a la tomata ‘Valenciana d’El Perelló’ en base als resultats del PCA utilitzant 10 caràcters relacionats amb la morfològica i la qualitat del fruit.

Col·lecció	País	Nom local	Tipus us
TR_CA	SPA	Pometa	Consum en fresc
TR_MO	FRA	Nemausae = B'	Consum en fresc
TR_TH	GRC	Dipli (double)	Consum en fresc/processat
TR_TH	GRC	Tomata ahl	processing
TR_TH	GRC	Zakinthos	Consum en fresc
TR_VA	SPA	Tomata	Consum en fresc
TR_VA	SPA	Tomata	Consum en fresc
TR_VA	SPA	Tomate valenciano	Consum en fresc

Per analitzar si aquests 10 trets avaluats son capaços de discriminar la tomata 'Valenciana' i 'Valenciana d'El Perelló' dins el conjunt de tomata tradicional Europeu es va realitzar un anàlisi PCA utilitzant els valors dels caràcters morfològics i qualitius per a cadascuna de les 1447 varietats estudiades. Aquest anàlisi indica dins el conjunt Europeu hi ha diferents varietats que a nivell fenotípic l'assemblen a la tomata 'Valenciana d'El Perelló' (Taula 2 i Figura 2). Així doncs, el trets avaluats, encara que agrupen fruit similars, no són capaços de discriminar la tomates 'Valencianes' de la resta de les tomates europees.



Figura 2.- Tall transversal de la tomata 'Valenciana d'El Perelló' i les entrades de tomata en la col·lecció TRADITOM que més l'assemblen a la tomata 'Valenciana d'El Perelló' en base als resultats del PCA utilitzant 10 caràcters relacionats amb la morfològica i la qualitat del fruit

3.2.- Anàlisi de la diversitat genètica

Per fer una tipificació més precisa vam utilitzar les dades de genotipat generades al projecte TRADITOM. Un total de 526 SNP loci, distribuïts als 12 cromosomes de la tomata, es van utilitzar per comparar la diversitat genètica 1347 varietats de tomata tradicional Europea (incloent varietats espanyoles, italianes, gregues i franceses) front a 56 varietats anotades com a 'Valenciana' i de les varietats 'Valencianes' front a 4 anotades com a 'Valenciana d'El Perelló'. La divergència de loci per a cada població va ser estimada amb el valor F_{ST} . Qualsevol loci amb valors de F_{ST} superiors o inferiors a la distribució neutra (extrems) es considerat un candidat de estar sota pressió selectiva. Aquest mètode ha identificat 17 SNPs fixats ($F_{ST} > 0.25$, Figura 3A) que podrien distinguir la població 'Valenciana' de la Europea (Figura 3) i quatre (42, 43, 136 i 512) que ho podrien fer entre la 'Valenciana' i la 'Valenciana d'El Perelló', tres d'ells inclosos en l'anterior comparació (Figura 3A). (Figura 3A). Els 18 SNP estan localitzats als cromosomes CH01 (39, 40, 41, 42, 43 i 52), CH02 (93), CH03 (107, 136, 141, 142), CH07 (286, 294), CH10 (401), C11 (451, 454, 505) i Ch12 (512).

L'anàlisi MDS (Figura 3B) indica que aquests 18 marcadors permeten discriminar la població 'Valenciana' de la Europea i dins de la 'Valenciana', la 'Valenciana d'El Perelló' o d'altres de tipus 'Valenciana'. A banda, aquests marcadors han agrupat algunes de les entrades anotades com 'Valenciana' al conjunt de tomata no valenciana, indicant que possiblement no ho siguen (Figura 3B) i altres que no estaven anotades com a 'Valenciana', però si recol·lectades a la regió de València, a cadascuna de les subpoblacions de tomata 'Valenciana'. A la Figura 3C, es mostra l'empremta genètica del tipus varietat 'Valenciana d'El Perelló' i 'Valenciana'. L'haplotip està basat en els 18 marcadors seleccionats en el anàlisi F_{ST} i MDS (Figura 3A,B), 14 d'ells defineixen la varietat 'Valenciana' i quatre la 'Valenciana d'El Perelló'

En conclusió, hem caracteritzat fenotípicament i genèticament la tomata 'Valenciana d'El Perelló'. Els nostres resultats han permès discriminar la tomata 'Valenciana d'El Perelló' d'altres varietats tradicionals anomenades també valencianes o aquelles que són similars dins del conjunt tradicional europeu. A banda, en base a l'haplotip que defineix la tomata 'Valenciana' hem pogut corregir la classificació d'algunes entrades de tomata anotades com a 'Valenciana', 'Valenciana d'El Perelló' o no valenciana. En resum, els nostres resultats proporcionen l'empremta genètica de la tomata 'Valenciana d'El Perelló', punt de partida per a la valorització d'aquesta varietat local i per a la seua utilització en programes de millora o el seu us certificat en mercats de productes d'alta qualitat.

LA TOMATA 'VALENCIANA D'EL PERELLÓ': COMPARACIÓ DE LES SEUES CARACTERÍSTIQUES GENÈTIQUES I FENOTÍPIQUES AMB EL CONJUNT DE TOMATES TRADICIONALS EUROPEES

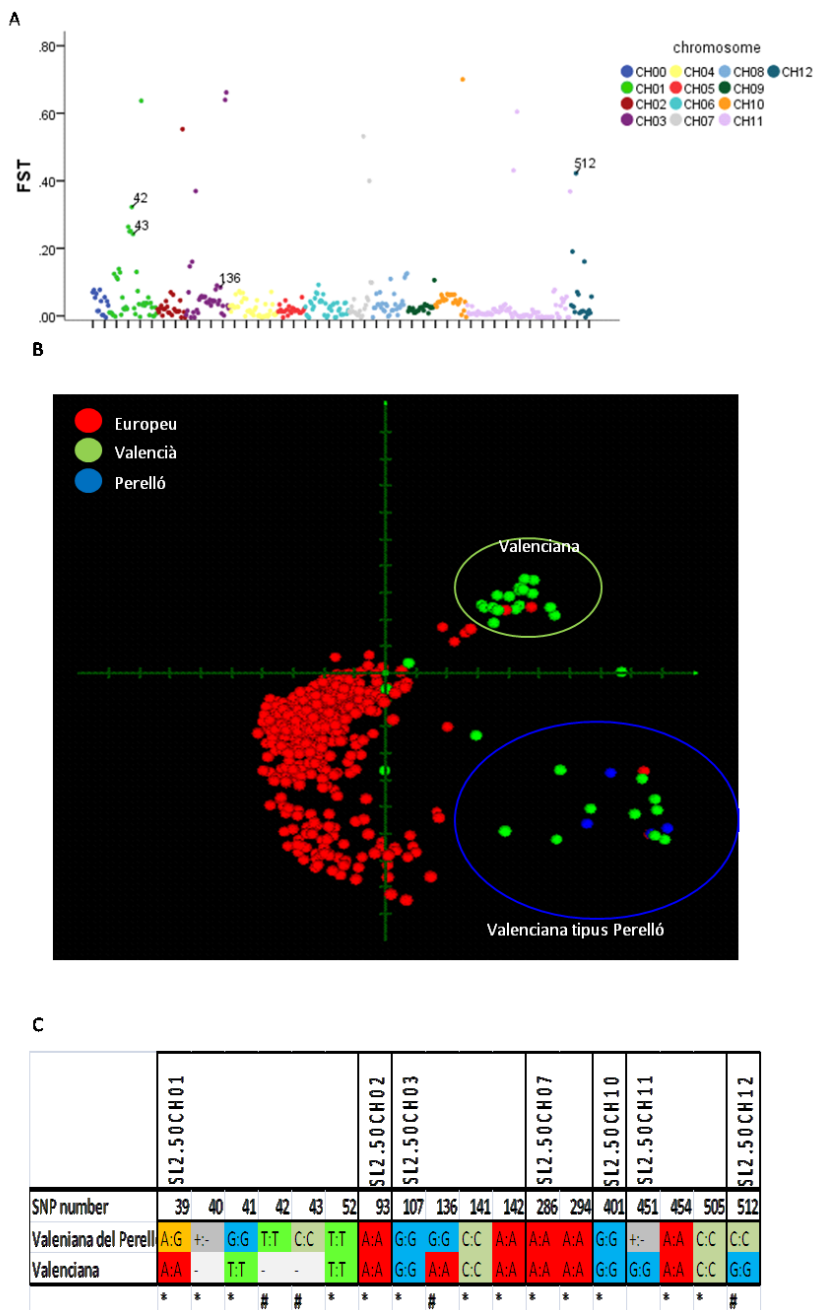


Figura 3.- Anàlisi. F_{ST} i MDS de la divergència poblacional de la tomata 'Valenciana' front a la Europea.

A) Índex de fixació (valors F_{ST}) per a tots els SNPs entre la tomata tradicional europea i la tomata 'Valenciana'. Els valors de F_{ST} sobre 0.25 estan sobre el percentil 99% i tenen un p-valor < 0.001. Els SNPs 42,43,136 i 512 corresponen als SNPs que ens permeten discriminar a la tomata 'Valenciana d'El Perelló' de la 'Valenciana'. Van ser seleccionats amb un p-valor associat al F_{ST} < 0.05. B) Anàlisi MDS de la col·lecció de tomata tradicional Europea utilitzant els 18 marcadors candidats a caracteritzar molecularment la varietat 'Valenciana' i en concret la varietat 'Valenciana d'El Perelló' (C). empremta genètica del tipus de tomata 'Valenciana d'El Perelló' i 'Valenciana'. L'haplotip està basat en els 18 marcadors seleccionats en el anàlisi F_{ST} . * Marcadors SNP que defineixen la varietat 'Valenciana'; # Marcadors que diferencien la varietat 'Valenciana del Perelló' de la 'Valenciana'. Discussió

AGRAÏMENTS

Aquest projecte ha rebut financiació del programa Horizon 2020 de la Unió Europea a través del projecte No 634561 [This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 634561].

REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

Bauchet, G., Causse, M. 2012. Genetic diversity in tomato (*Solanum lycopersicum*) and its wild relatives. En: Mahmut Caliskan (Editor), Genetic diversity in plants (p. 133-162), Ed. InTech.

Casals, J., Pascual, L., Cañizares, J., Cebolla-Cornejo, J., Casañas, F., Nuez, F. 2011. The risks of success in quality vegetable markets: Possible genetic erosion in Marmande tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) and consumer dissatisfaction, *Scientia Horticulturae* 130:78-84.

Cebolla-Cornejo, J., Soler, S., Nuez, F. 2007. Genetic erosion of traditional varieties of vegetable crops in Europe: tomato cultivation in València (Spain) as a case study. *International Journal of Plant Production* 1:113-128.

Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F. 2013. Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Scientia Horticulturae* 162:150-164

Figàs, M.R., Prohens, J., Raigón, M.D., Fernández-de-Córdoba, P., Fita, A., Soler S. 2015. Characterization of a collection of local varieties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) using conventional descriptors and the high-throughput phenomics tool Tomato Analyzer. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62:189–204.

Labate, J.A., Robertson, L.D., Baldo, A.M. 2009. Multilocus sequence data reveal extensive departures from equilibrium in domesticated tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Heredity* 103:257–267.

Lin, T., Zhu, G., Zhang, J., Xu, X., Yu, Q., Zheng, Z., Zhang, Z., Lun, Y., Li, S., Wang, X., Huang, Z., Li, J., Zhang, C., Wang, T., Zhang, Y., Wang, A., Zhang, Y., Lin, K., Li, C., Xiong, G., Xue, Y., Mazzucatto, A., Causse, M., Fei, Z., Giovannoni, J.J., Chetelat, R., Zamir, D., Städler, T., Li, J., Ye, Z., Du, Y., Huang, S. 2014. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature Genetics* 46:1220-1226.

Mazzucatto, A., Papa, R., Bitocchi, E., Mosconi, P., Nanni, L., Negri, V., Enea, M., Picarella, M., Siligato, F., Soressi, G.P., Tiranti, B., Veronesi, F. 2008. Genetic diversity, structure and marker-trait associations in a collection of Italian tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Theoretical and Applied Genetics* 116:657.

Borràs-Palomares, D. 2016. Mejora genética de la "Tomaca Valenciana d'El Perelló" para la resistencia al virus del mosaico del tomate (Tomato mosaic virus, ToMV). Tèsi de Màster, Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/67874>.