

Universitat Politècnica de València



TESIS DOCTORAL

**Puesta en valor de variedades tradicionales
de tomate**

Autor

Carles Cortés Olmos

Para optar al título de

DOCTOR POR LA UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Valencia, Julio del 2014

Director:

Jaime Cebolla Cornejo (UPV-COMAV)

Departamento de Biotecnología, Universidad Politécnica de Valencia

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	III
RESUM.....	V

1. INTRODUCCIÓN..... 1

1.1. ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN DEL TOMATE.....	2
1.1.1. El origen del tomate.....	2
1.1.2. La domesticación del tomate	4
1.1.2.1. <i>Tamaño del fruto</i>	5
1.1.2.2. <i>Morfología del fruto</i>	6
1.1.2.3. <i>Aumento del tamaño y del peso de las semillas</i>	8
1.1.2.4. <i>Tendencia a la autogamia</i>	8
1.1.3. La difusión del tomate	9
1.2. LAS VARIEDADES TRADICIONALES	11
1.2.1. Origen y características de las variedades tradicionales.....	11
1.2.2. Erosión genética	13
1.2.3. Las variedades tradicionales y el mercado de calidad.....	17
1.2.3.1. <i>El mercado de calidad</i>	18
1.3. ATRIBUTOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD	21
1.3.1. La calidad organoléptica en el tomate	21
1.3.1.1. <i>Textura y estructura</i>	22
1.3.1.2. <i>Sabor: la percepción a través del gusto</i>	23
1.3.1.3. <i>Sabor: la percepción a través del aroma</i>	25
1.3.2. La calidad nutricional y funcional	26
1.3.2.1. <i>Vitaminas</i>	27
1.3.2.2. <i>Carotenoides</i>	28
1.3.2.3. <i>Compuestos fenólicos</i>	33
1.4. LAS VARIEDADES TRADICIONALES EN EL CONTEXTO DE LA AGRICULTURA ACTUAL	35
1.4.1. La pérdida de calidad de las variedades comerciales	35

1.4.1.1. <i>El aumento de la producción en las nuevas variedades</i>	36
1.4.1.2. <i>El cultivo fuera de estación</i>	36
1.4.1.3. <i>El cultivo intensivo</i>	36
1.4.1.4. <i>Recolección prematura de los frutos</i>	37
1.4.1.5. <i>El desarrollo de características de “larga vida”</i>	37
1.4.1.6. <i>La introgresión de fondo genético silvestre</i>	38
1.4.2. <i>La problemática asociada a los mercados de calidad</i>	39
1.4.2.1. <i>La calidad generalizada en las variedades tradicionales</i>	39
1.4.2.2. <i>La identificación varietal y los marcadores moleculares</i>	40
1.4.3. <i>Mejora genética</i>	41
1.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	66
3. DIVERSIDAD MORFO-AGRONÓMICA	69
<i>Characterization of eastern Spanish traditional varieties of tomato</i>	70
4. CALIDAD ORGANOLÉPTICA	91
<i>Análisis de la calidad organoléptica en variedades tradicionales y obsoletas de tomate</i>	92
<i>Identification organoleptic and functional quality profiles in Spanish traditional varieties of tomato</i>	95
5. CALIDAD FUNCIONAL	105
<i>The role of traditional varieties of tomato as sources of functional compounds</i> .106	
6. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR	131
<i>SNP markers applied to the characterization of Spanish tomato (<i>Solanum lycopersicum</i>) landraces</i>	132
7. DISCUSIÓN GENERAL	158
8. CONCLUSIONES	182

RESUMEN

Las variedades tradicionales de tomate son apreciadas por los consumidores, que están dispuestos a pagar mayores precios por recuperar el sabor del tomate. Este interés ha propiciado que los estudios referentes a estos materiales se hayan multiplicado durante los últimos años, aunque normalmente se ciñen a pocas variedades, pocas poblaciones por variedad, o a aspectos muy concretos de sus características. El presente trabajo aborda una caracterización de variedades tradicionales del levante español que permita reunir e integrar los resultados de caracterización morfo-agronómica, organoléptica, funcional y molecular, en un intento de poner en valor estos importantes recursos fitogenéticos.

Dentro de las poblaciones de las variedades tradicionales evaluadas se han observado niveles elevados de variación en características morfo-agronómicas y funcionales. Dicha variación puede deberse a factores micro-ambientales o diferencias genotípicas, puesto que se trata de variedades población. No obstante, las diferencias observadas en los niveles de variación respecto a híbridos F₁ empleados como control, sugiere que las diferencias genotípicas entre individuos no serían tan importantes como cabría pensar.

La variación detectada entre poblaciones de la misma variedad es, en general, mayor en todos los niveles (morfo-agronómico, organoléptico, funcional y molecular). Aunque parece existir una cierta tendencia en el perfil organoléptico, funcional y morfológico para cada variedad, lo cierto es que los rangos de variación de estos perfiles entre distintas variedades se solapan. La selección diferencial realizada por cada agricultor dentro de variedad podría ser una de las principales causas de la elevada variabilidad detectada. A ésta se añade los efectos de la mezcla de semillas y los cruzamientos espontáneos que se han evidenciado en la evaluación de los materiales (tanto por segregación morfo-agronómica como por los niveles de heterocigosidad observada en algunas poblaciones). De esta forma, tras estos sucesos el agricultor aplicaría una elevada presión de selección para recuperar las características básicas externas de la variedad, pero la variación se mantendría, especialmente, en los caracteres internos.

La elevada variabilidad entre las poblaciones de una misma variedad presenta varios problemas a la hora de abordar la promoción de su cultivo y su conservación *in situ*. Por un lado, la existencia de tanta variación complica que los consumidores asocien un morfotipo muy definido con un elevado estándar de calidad. Además, la falta de un ideotipo claro y relativamente uniforme, dificulta el registro de los materiales como variedades de conservación. Por otro lado, no todas las poblaciones de una variedad aglutinan una morfología y estructura del fruto adecuada, representativa de la variedad y que además manifieste el mejor sabor posible. Por ello, es conveniente llevar a cabo programas de depuración varietal en los que se realicen selecciones de las mejores poblaciones que reúnan las mejores características. Por otro lado, también sería recomendable realizar selecciones dentro de población en los casos en los que la variación intra-poblacional sea excesiva. En ocasiones, y de forma complementaria, podría contemplarse la introgresión de genes de resistencia a virosis en variedades tradicionales, como medida necesaria en aquellas zonas especialmente afectadas por determinadas enfermedades.

De forma adicional, considerando el creciente interés por los alimentos saludables, la detección de variedades o poblaciones dentro de variedad que destaquen por un elevado valor funcional, puede contribuir a identificar un valor añadido que permita valorizar estas variedades tradicionales. En este contexto, se han encontrado poblaciones con niveles de vitamina C próximos a los mostrados por cultivares “Double Rich”, de licopeno dentro del rango de variación mostrado por cultivares “high pigment” y de β -caroteno comparables a los mejores resultados obtenidos en cultivares “high pigment”. Estos materiales resultan potencialmente útiles como fuentes de variación o pueden ser directamente aprovechables para ser reintroducidos en el mercado con un valor añadido contrastado. Aunque se ha encontrado variación para el contenido en polifenoles totales, éstos han sido intermedios.

Finalmente, a la hora de realizar una adecuada identificación del ideotipo varietal, de depurar una variedad descartando poblaciones, de acelerar programas de introgresión de genes o simplemente para defender los mercados de calidad frente a fraudes que pretendan aprovechar los diferenciales de precio de las variedades tradicionales, es necesario contar con herramientas de caracterización molecular eficientes. En este trabajo se ha seleccionado y comprobado la efectividad de una colección de marcadores SNP para caracterizar variedades tradicionales de tomate y se han obtenido huellas moleculares para las variedades: “Centenares”, “Cuarenteno”, “De la pera”, “De pera”, “Flor de baladre”, “Gordo rojo”, “Moruno”, “Muchamiel”, “Negre”, “Pimiento”, “Valenciano” y “Tomaca gallega”.

La tipificación varietal, la identificación de un valor añadido en las características organolépticas y funcionales de estos materiales, y la detección de perfiles moleculares que permitan autentificarlos, son elementos clave y necesarios para asegurar la protección de estos recursos genéticos. Estas actividades contribuirán a consolidar los mercados de calidad, satisfaciendo las demandas de los consumidores, y ofreciendo una alternativa de cultivo rentable a agricultores en sistemas minifundistas.

ABSTRACT

Traditional varieties of tomato are appreciated by consumers, who are willing to pay higher prices to recover the real taste of tomato. This interest has spurred multiple researches regarding these materials during the last years, but usually they are restricted to few varieties, few populations per variety or specific aspects of its features. This work addresses a characterization of traditional varieties from the East coast of Spain in order to obtain and integrate results of morpho-agronomic, organoleptic, functional and molecular characterization, in an attempt to valorize these important plant genetic resources.

High levels of variation in morpho-agronomic and functional characteristics were observed within populations of the traditional varieties evaluated. Such variation may be due to micro-environmental factors or genotypic differences, since they are population varieties. However, the observed differences in the levels of variation of F₁ hybrids used as a control, suggest that genotypic differences among individuals would not be as important as expected.

The variation detected among populations of the same variety is generally higher on all levels (morpho-agronomic, organoleptic, functional and molecular). Although there seems to be a tendency in the organoleptic, functional and morphological profile for each variety, the fact is that the ranges of variation of these profiles overlap among varieties. The differential selection made by each farmer within varieties may be one of the major causes of the detected high variability. The effects of seed mixing and spontaneous crossing that have been evidenced in the evaluation of these materials (considering both morpho-agronomic segregation as well as the levels of observed heterozygosity in some populations) would also contribute to this variation. Thus, after these events the farmer would apply a high selection pressure to recover the external basic characteristics of the variety, but the variation would be maintained especially in the internal traits.

The high variability among populations of the same variety presents several problems to address the promotion of their cultivation and *in situ* conservation. On the one hand, the existence of so much variation complicates association by the consumers of a defined morphotype with a high quality standard. Furthermore, the lack of a clear and relatively uniform ideotype, complicates the registration of these materials as conservation varieties. On the other hand, not all populations of a variety combine an adequate fruit morphology and structure, representative of the variety, with the best possible taste. Therefore, it is convenient to perform varietal depuration programs to select the populations with the best features. It would also be advisable to make selections within populations in cases where the intra-population variation is excessive. When appropriate, and as supplementary strategy, it could be considered the introgression of resistance to virus genes in traditional varieties, as a necessary measure in those areas particularly affected by certain diseases.

Additionally, considering the growing interest in healthy foods, detection of varieties or populations within a variety that excel for a high functional value, may help to identify an added value contributing to valorize these traditional varieties. In this context, populations with vitamin C levels close to those shown by "*Double Rich*" cultivars,

lycopene contents within the range of variation shown by "*high pigment*" cultivars and β -carotene levels comparable to the best obtained in "*high pigment*" cultivars have been found. These materials are potentially useful as sources of variation or may be directly reinserted into the market with a proven added value. Although variation in the total polyphenol content has been found, the levels observed have been intermediate.

Finally, in order to obtain an adequate identification of the varietal ideotype, to depurate a variety discarding populations, to implement backcrossing programs or simply to protect quality markets against frauds, that try to take advantage of the price premium of traditional varieties, it is necessary to have efficient tools for molecular characterization. In this work, a collection of SNP markers has been selected and its effectiveness tested in the characterization of traditional varieties of tomato and the molecular fingerprints of "*Centenares*", "*Cuarenteno*", "*De la pera*", "*De pera*" "*Flor de baladre*", "*Gordo rojo*", "*Moruno*", "*Muchamiel*", "*Negre*", "*Pimiento*", "*Valenciano*" and "*Tomaca gallega*" have been obtained.

The varietal characterization, the identification of an added value in the organoleptic and functional characteristics of these materials and the identification of molecular profiles that enable their authentication are key elements necessary to ensure the protection of these genetic resources. These activities will help to consolidate quality markets, meeting the demands of consumers, and providing a profitable alternative for farmers in smallholder farming systems.

RESUM

Les varietats tradicionals de tomaca són apreciades pels consumidors, que estan disposats a pagar preus més alts per recuperar el gust de la tomaca. Aquest interès ha propiciat que, durant els últims anys, els estudis referents a aquests materials s'hagen multiplicat, encara que normalment es ceneixen a poques varietats, poques poblacions per varietat, o aspectes molt concrets de les seues característiques. El present treball aborda una caracterització de varietats tradicionals del llevant espanyol que permeta reunir i integrar els resultats de caracterització morfo-agronòmica, organolèptica, funcional i molecular, en un intent de posar en valor aquests importants recursos fitogenètics.

Dins de les poblacions de les varietats tradicionals avaluades s'han observat nivells elevats de variació en característiques morfo-agronòmiques i funcionals. Aquesta variació pot ser deguda a factors micro-ambientals o diferències genotípiques, ja que es tracta de varietats població. No obstant això, les diferències observades en els nivells de variació respecte a híbrids F₁ emprats com a control, suggereix que les diferències genotípiques entre individus no serien tan importants com podria pensar-se.

La variació detectada entre poblacions de la mateixa varietat és molt més notable en tots els nivells (morfo-agronòmic, organolèptic, funcional i molecular). Encara que sembla existir una certa tendència en el perfil organolèptic, funcional i morfològic per a cada varietat, la veritat és que els rangs de variació d'aquests perfils entre diferents varietats es solapen. La selecció diferencial realitzada per cada agricultor dins de varietat podria ser una de les principals causes de l'elevada variabilitat detectada. A aquesta s'afegeix l'efecte de la barreja de llavors i els encreuaments espontanis que s'han evidenciat en l'avaluació dels materials (tant per segregació morfo-agronòmica com pels nivells d'heterozigositat observada en algunes poblacions). Així, després d'aquests successos l'agricultor realitzaria una elevada pressió de selecció per a recuperar les característiques bàsiques externes de la varietat, però la variació es mantindria, especialment, en els caràcters interns.

L'elevada variabilitat entre les poblacions d'una mateixa varietat presenta diversos problemes a l'hora d'abordar la promoció del seu cultiu i la seua conservació *in situ*. D'una banda, l'existència de tanta variació complica que els consumidors associen un morfotipus molt definit amb un elevat estàndard de qualitat. A més, la falta d'un ideotip clar i relativament uniforme, dificulta el registre dels materials com a varietats de conservació. D'altra banda, no totes les poblacions d'una varietat aglutinen una morfologia i estructura del fruit adequada, representativa de la varietat i que, a més, manifeste el millor sabor possible. Per això, és convenient dur a terme programes de depuració varietal en què es realitzen seleccions de les poblacions que reunisquen les millors característiques. D'altra banda, també seria recomanable fer seleccions dins de població en els casos en què la variació intra-poblacional siga excessiva. De vegades, i de forma complementària, podria contemplar-se la introgressió de gens de resistència a virosi en varietats tradicionals com a mesura necessària en aquelles zones especialment afectades per determinades malalties.

De forma addicional, considerant el creixent interès pels aliments saludables, la detecció de varietats o poblacions dins de varietat que destaquen per un elevat valor funcional pot contribuir a identificar un valor afegit que permeta valoritzar aquestes varietats

tradicionals. En aquest context, s'han trobat poblacions amb nivells de vitamina C pròxims als mostrats per cultivars "Double Rich", de licopè dins del rang de variació mostrat per cultivars "high pigment" i de β -carotè comparables als millors resultats obtinguts en cultivars "high pigment". Aquests materials resulten potencialment útils com a fonts de variació o poden ser directament aprofitables per ser reintroduïts al mercat amb un valor afegit contrastat. Encara que s'ha trobat variació per al contingut en polifenoles totals, estos han estat intermedis.

Finalment, a l'hora de realitzar una adequada definició del ideotip varietal, de depurar una varietat descartant poblacions, d'accelerar programes d'introgressió de gens, o simplement de defensar els mercats de qualitat davant frau que pretenguen aprofitar els diferencials de preu de les varietats tradicionals, és necessari comptar amb eines de caracterització molecular eficients. En aquest treball s'ha seleccionat i comprovat l'efectivitat d'una col·lecció de marcadors SNP per caracteritzar varietats tradicionals de tomaca i s'han obtingut empremtes moleculars per a les varietats: "Centenares", "Cuarenteno", "De la pera", "De pera", "Flor de baladre", "Gordo rojo", "Moruno", "Muchamiel", "Negre", "Pimiento", "Valenciano" i "Tomaca gallega".

La tipificació varietal, la identificació d'un valor afegit en les característiques organolèptiques i funcionals d'aquests materials, i la detecció de perfils moleculars que permeten la seua autenticació, són elements clau i necessaris per assegurar la protecció d'estos recursos genètics. Aquestes activitats contribuiran a consolidar mercats de qualitat, satisfent les demandes dels consumidors, i oferint una alternativa de cultiu rendible a agricultors en sistemes minifundistes.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN DEL TOMATE

1.1.1. El origen del tomate

El tomate, *Solanum lycopersicum* L., era una especie conocida y utilizada por los mesoamericanos desde mucho antes de la llegada de los españoles a América. Venía empleándose como cultivo secundario en pequeños huertos con el objetivo de abastecer las necesidades familiares, por lo que su importancia económica en aquella época no podría considerarse del todo significativa (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995).

La palabra *tomate* fue introducida en la lengua española en el año 1532 (Corominas, 1990), derivada de la palabra “*tomatl*” procedente del *nahuatl*. El *nahuatl* es una lengua uto-azteca que se hablaba mayoritariamente en México y América Central cuando los españoles llegaron al Nuevo Mundo. Para los nativos, *tomatl* describía de forma general, un fruto carnoso, más o menos esférico, con presencia de una gran cantidad de semillas y carne jugosa (Williams, 1990; Montes y Aguirre, 1992), de modo que cuando trataban de referirse a un fruto concreto o a una especie en particular, utilizaban prefijos distintos. Para denominar al tomate se añadía el prefijo “xi” formando el vocablo *xitomatl*. Este prefijo podría hacer referencia a las raíces *xiutl* (hierba) o *xipehua* (pelar) y se ha llegado a interpretar como una referencia al cáliz que cubre el fruto del *tomatl* más apreciado, el *Physalis philadelphica* Lam. (**figura 1**), y del que carecería el tomate (Long, 1995). Este sistema de prefijos tan particular ha llegado a generar confusión entre los historiadores, provocando la aparición de discrepancias a la hora de interpretar citas que contienen la palabra *tomatl*. Probablemente, podría haberse considerado que en muchos escritos se estaba haciendo referencia al tomate cuando realmente los nativos estarían refiriéndose a cualquier otra especie del mismo grupo y no concretamente al *S. lycopersicum*. Como consecuencia, se habría sobreestimado la importancia real del tomate en tiempos precolombinos.

Se han elaborado numerosos estudios con el propósito de determinar el ancestro silvestre del tomate y la mayoría de ellos concuerdan en que, muy probablemente, éste tenga su origen en la región andina noroccidental (**figura 2**), en concreto las zonas que actualmente ocupan Perú, el sur de Colombia, Ecuador, Bolivia y el norte de Chile (Rick, 1973; Taylor, 1986). Estas investigaciones coinciden en asignar dicho origen basándose principalmente en la presencia de una gran diversidad de especies silvestres en zonas no antropizadas de esta zona de Sudamérica, que no se encuentran presentes en gran medida en otras zonas del mundo.



Figura 1. Flor y fruto del *Physalis philadelphica*.

Fuente: <https://gobotany.newenglandwild.org>

De entre todas las formas de tomates silvestres, se apunta que el ancestro más probable del tomate cultivado sería la antigua variedad botánica *cerasiforme* (**figura 3**), según la anterior clasificación en el género *Lycopersicon*, que crece actualmente de forma espontánea en las regiones tropicales y subtropicales americanas (Nuez *et al.*, 1996).

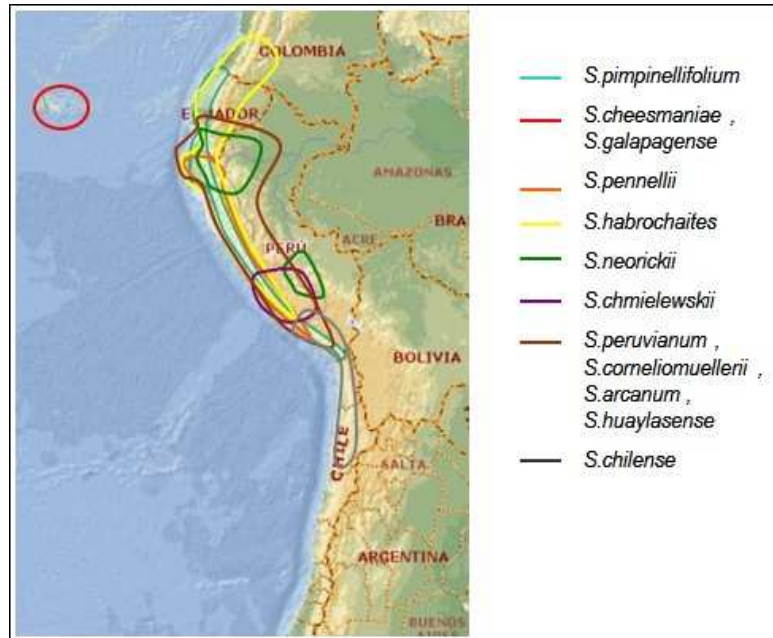


Figura 2. Mapa de distribución de las especies silvestres relacionadas con el tomate.



Figura 3. Fotografías de *Solanum lycopersicum* v. *cerasiforme* (izquierda) y de *Solanum pimpinellifolium* (derecha). Cortesía de J.V. Valcárcel.

Sin embargo, otras investigaciones basadas en secuencias genéticas, establecen como alternativa que la antigua variedad *cerasiforme* podría ser la resultante de continuas hibridaciones entre poblaciones de *S. lycopersicum* y *Solanum pimpinellifolium* Jusl. Es decir, la antigua *var. cerasiforme* surgiría de forma posterior a la domesticación y, por tanto, no constituiría la especie predecesora del tomate cultivado (Nesbitt y Tanksley, 2002), siendo el *S. pimpinellifolium* (**figura 3**) el candidato a ancestro con más

probabilidades en este caso. En este sentido, se han documentado casos de hibridación espontánea entre *S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* y la antigua variedad *cerasiforme* en áreas donde confluyen dichas poblaciones. Estas poblaciones se encuentran muy próximas y son interfértiles (Peralta *et al.*, 2005; Spooner *et al.*, 2005), de modo que pueden establecer flujo génico entre ellas.

1.1.2. La domesticación del tomate

En la actualidad, aún sigue existiendo bastante controversia a la hora de asignar cuál fue el centro de domesticación del tomate. Aunque todo parece indicar que la domesticación ocurrió en territorio mexicano, se han postulado también hipótesis relacionadas con la domesticación andina (De Candolle, 1883). Incluso se han propuesto algunas teorías que sugieren una domesticación independiente y paralela por parte de las culturas precolombinas que habitaban en las zonas que ahora ocupan México y Perú (Peralta y Spooner, 2007).

Sin embargo, la teoría que apoyan la mayor parte de investigadores es que la domesticación tuvo que ocurrir en América central y que, probablemente, fuera México el enclave donde ocurriera tal evento (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995). Se conoce que el tomate era un fruto totalmente integrado en la cultura azteca en el siglo XVI y se dispone de referencias históricas que describen la presencia de los tomates en mercados mexicanos, e incluso se sabe que se utilizaban para la elaboración de platos típicos en algunas localidades. Por otra parte, la hipótesis relacionada con la domesticación en territorio andino parece estar fundamentada en evidencias arqueológicas, como son la presencia de ceramios prehispánicos que muestran ilustraciones de frutos y plantas de tomate hallados en yacimientos arqueológicos situados en la zona del norte de Perú (De Candolle, 1883; Luckwill, 1943). Aun así, los argumentos a favor de la domesticación en territorio mesoamericano son mucho más consistentes. Por tanto, es muy probable que México fuera el centro de domesticación del tomate y Perú se estableciera como centro de diversidad de especies silvestres relacionadas (Larry y Joanne, 2007).

Aceptando que la domesticación ocurrió en territorio mexicano, el tomate silvestre tuvo que difundirse desde su región de origen hacia el norte llegando a América Central, donde de forma ocasional los pueblos mayas y otros pueblos de la región utilizarían los frutos silvestres para su consumo. El tomate silvestre continuaría distribuyéndose hacia el norte hasta llegar a México, donde cesó su ruta. Se puede afirmar que el tomate no consiguió difundirse más al norte de México porque no se dispone de evidencias que confirmen que los indios de América del Norte lo conocieran (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995). No existen referencias concretas acerca de cuándo ocurrió la domesticación del tomate, pero los españoles a su llegada al Nuevo Mundo (Siglo XV) ya se encontraron con un fruto que presentaba signos evidentes de domesticación, lo cual indica que llevaba cultivándose con bastante anterioridad (Jenkins, 1948; Rick, 1995).

Como resultado del proceso de domesticación, las formas cultivadas resultantes muestran importantes cambios morfológicos y fisiológicos con respecto a las especies silvestres de las cuales derivan. Al conjunto de rasgos que diferencian las formas cultivadas de las silvestres, constituyen el conocido como *síndrome de domesticación* (Hammer, 1984), que suele originar variaciones comunes en la mayor parte de las especies domesticadas. Por ejemplo: la tendencia hacia un hábito de crecimiento más compacto que facilite el manejo del cultivo, cambios en la arquitectura de la planta (ya que la selección de un mayor índice de cosecha puede implicar la reducción o desaparición de ramas laterales (Pickersgill, 2007)), pérdida o reducción en los mecanismos de defensa contra enemigos naturales (Rosenthal y Welter, 1995), una mayor precocidad para adelantar y/o ampliar el periodo de producción, sincronización en la maduración de frutos y semillas que

permite cosechas uniformes, tendencia o pérdida en los mecanismos de dispersión de las semillas (bien mediante la aparición de modificaciones en la zona de abscisión de los frutos o en la dehiscencia de los mismos), pérdida de la latencia en las semillas para asegurar una germinación rápida y generalizada, tendencia al gigantismo y a la diversificación morfológica de la parte comestible (Frary *et al.*, 2003), entre otros.

En el caso concreto del tomate, los cambios más destacables sucedidos durante el proceso de domesticación fueron los relacionados con el aumento del tamaño del fruto, la aparición de morfologías distintas, el aumento del tamaño de las semillas y la tendencia a favorecer la autogamia.

1.1.2.1. Tamaño del fruto

Dado que es el órgano utilizado por el hombre, es lógico pensar que el tamaño del fruto fuera para los agricultores una de las características fundamentales a la hora de seleccionar. Por tanto, se esperaría encontrar un máximo de variación para este carácter en cualquiera que fuere su centro de domesticación. En este contexto, la teoría de la domesticación en territorio andino defendida por De Candolle (1883) perdería fuerza frente a la teoría de la domesticación centroamericana, donde la cantidad de formas cultivadas ya era destacable a la llegada de los españoles al Nuevo Mundo (Jenkins, 1948; Rick, 1995).

Probablemente, la evolución del tamaño del fruto durante el proceso de domesticación estuviera esencialmente basada en la selección intuitiva realizada por los agricultores. Debido a que el tamaño del fruto es un atributo sencillo de evaluar, la selección a favor de frutos de mayor tamaño no revestiría mucha dificultad. Y seguramente, las mutaciones espontáneas relacionadas con el aumento del tamaño del fruto se habrían ido acumulando desde que se inició su cultivo. Así, mientras que los tomates silvestres mantienen un tamaño bastante homogéneo, los tomates cultivados presentan una gran diversidad, existiendo frutos con tamaños que varían desde los 15g, a más de 500g (**figura 4**).

El estudio de la modificación del tamaño del fruto durante la domesticación, especialmente de su base genética, ha suscitado un gran interés entre los investigadores. La mayor parte de ellos coincide en que estos cambios morfológicos están regulados por un número reducido de genes, cuyos efectos son destacados en la transición desde los frutos reducidos de accesiones silvestres, a frutos grandes de variedades y cultivares modernos. Así, se ha observado que solo 17 QTLs son capaces de regular aproximadamente el 80% de la diversidad morfológica existente en el germoplasma cultivado (Barrero y Tanksley, 2004; Tanksley, 2004; Brewer *et al.*, 2007).



Figura 4. Diferencia de tamaño observada entre tomate de tipo “gordo rojo” (arriba) y un tomate de tipo “cherry” (abajo).

(Tamaño de cuadrícula, 1cm²)

Uno de los QTL más importante es el denominado *fruit weight 2.2* (*fw2.2*), que en algunos estudios ha demostrado ser responsable de modificar aproximadamente un 30% el tamaño del fruto (Frery *et al.*, 2000; Nesbitt y Tanksley, 2001). Este locus codifica una proteína que suprime la división celular en los tejidos del fruto, de manera que su inactivación provoca un engrosamiento evidente del fruto (Liu *et al.*, 2003). Por este motivo se cree que mutaciones en *fw2.2* pudieron constituir un primer evento clave hacia la obtención de frutos con mayor tamaño (Alpert *et al.*, 1995; Frery *et al.*, 2000; Cong *et al.*, 2008).

A pesar de ello, el mayor tamaño alcanzado por el tomate durante el proceso de domesticación no puede ser explicado solamente por la actuación del locus *fw2.2* u otros genes relacionados con el ciclo celular. Por lo que, aunque se trata de un QTL muy importante, su presencia no es determinante y requiere la presencia de otros QTLs relacionados en el fondo genético (Grandillo *et al.*, 1999a). De este modo, se han detectado regiones con enorme importancia en el desarrollo de frutos con mayor tamaño, conocidas como *locule-number* (*lc*) (cromosoma 2) y *fasciated* (*fas*) (cromosoma 11). Ambas se encuentran relacionadas con el aumento del número de carpelos (y consecuentemente al número de lóculos del fruto) y se estima que fueron seleccionadas y fijadas en las fases finales del proceso de domesticación (Lippman y Tanksley, 2001; Cong *et al.*, 2008). Sin embargo, a *fasciated* se le atribuye un mayor efecto sobre el tamaño, pudiendo llegar a producir un incremento de alrededor de un 50% (Lippman y Tanksley, 2001; Barrero y Tanksley, 2004; Cong *et al.*, 2008), y también sobre la morfología del fruto, dando lugar a frutos más aplanados (Lippman y Tanksley, 2001; Cong *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2011).

En definitiva, pese a que podría esperarse una regulación cuantitativa compleja del tamaño del fruto, realmente son pocas las regiones involucradas en el aumento del tamaño del fruto, pero muestran efectos mayores. De esta forma se explicaría que este cambio genético fuera fijado de forma relativamente sencilla durante la domesticación del cultivo.

1.1.2.2. Morfología del fruto

Mientras que los tomates silvestres se mantienen relativamente invariables en cuanto a su morfología, presentando frutos pequeños y redondeados, las variedades y cultivares disponibles en la actualidad muestran una enorme diversidad morfológica, pudiendo observarse frutos redondeados, ovalados, aplanados, acampanados o apuntados, entre otros (**figura 5**). Este enorme abanico de morfologías se ha consolidado como resultado de la subjetividad con la que los agricultores han ido seleccionando sus poblaciones durante generaciones. Algunos autores apoyan la hipótesis de que probablemente, la selección por frutos de mayor tamaño pudiera haber provocado una selección de alelos con efectos pleiotrópicos que afectaran también a la forma del fruto (Tanksley, 2004). Sin embargo, la gran mayoría coinciden en respaldar que el incremento del tamaño del fruto permitió observar los efectos de genes implicados en la morfología que hasta entonces, habrían permanecido enmascarados por el pequeño tamaño de éstos (Grandillo *et al.*, 1999a; Tanksley, 2004). De hecho, se ha encontrado una elevada correlación entre el tamaño del fruto y la morfología del mismo, tal que frutos de mayor tamaño muestran formas más diversas que sus homólogos de frutos pequeños (Van der Knaap y Tanksley, 2003). Así pues, lo más probable es que los agricultores fueran seleccionando mutaciones asociadas

con frutos de mayor tamaño y con morfologías variables y que, gradualmente, éstas fueran acumulándose y fijándose en las poblaciones (Grandillo *et al.*, 1999a).



Figura 5. Muestra de la diversidad fenotípica existente en tomate. Cortesía de J. V. Valcárcel.

Durante las últimas décadas se han desarrollado estudios, especialmente a partir de cruzamientos entre accesiones silvestres y poblaciones de tomate cultivado, con el objetivo de determinar cuál era la complejidad de herencia para los caracteres relacionados con la morfología del fruto. Aunque se sabe que pueden ser algunos más, los QTLs más involucrados en la alteración de la morfología de los frutos son los *loci ovate*, *sun* y *fruit shape chr 8.1 (fs8.1)* (Grandillo *et al.*, 1999a; Van der Knaap y

Tanksley, 2003; Brewer *et al.*, 2007).

El gen *ovate* causa la aparición de formas ovaladas y aperadas del fruto (Lindstrom, 1928, 1929). Ku *et al.* (1999) demostraron a partir de la construcción de NILs para *ovate*, que este gen individual era capaz de originar ambas morfologías de fruto, lo cual certificaba la hipótesis de Lindstrom (1928, 1929) con respecto a la existencia de dos variantes alélicas para este gen. *Ovate* ya ha sido clonado y se ha observado que se corresponde con una región reguladora de proteínas, cuya expresión sucede desde etapas tempranas del desarrollo floral hasta dos semanas después de la antesis (Liu *et al.*, 2002). La mutación asociada al cambio de fruto redondo a elongado o aperado conlleva la presencia de un codón de parada prematuro en el segundo exón del gen, cuya pérdida putativa de función se asocia con estos cambios de morfología (Liu *et al.*, 2002).

Otro *locus* involucrado en la elongación del fruto es el *sun*, nombrado así por la variedad Sun 1642, en la que se identificó por primera vez (Van der Knaap y Tanksley, 2001). *Sun* provoca una elongación uniforme del fruto, manteniendo la simetría bilateral del mismo, y nunca se encuentra asociado a constricciones del cuello o formas aperadas (Van der Knaap *et al.*, 2002). Además, los cambios en el fruto derivados de la actuación de *sun* empiezan a ocurrir tras la polinización, durante el desarrollo del fruto (Van der Knaap y Tanksley, 2001).

El locus *fs8.1* se encuentra relacionado con la aparición de morfologías cuadrangulares en el fruto. Este tipo de forma se obtuvo como resultado de los proyectos de mejora que se iniciaron en la década de 1960, destinados a conseguir frutos que pudieran ser recolectados mecánicamente (Tanksley, 2004). La presencia del locus *fs8.1* provoca que los carpelos se abomben y presenten una morfología más extendida, otorgándole finalmente al fruto una apariencia más cuadrangular (Grandillo y Tanksley, 1996). La actuación de *fs8.1* se inicia en una etapa temprana del desarrollo floral, de modo que tras la antesis, los carpelos ya han adoptado la morfología abombada y ligeramente alargada que caracterizará al fruto maduro (Ku *et al.*, 2000).

De nuevo, siguiendo el mismo razonamiento que para el incremento del tamaño de los frutos, la aparición de nuevas morfologías no presentaría un control genético tan complejo como cabría esperar.

1.1.2.3. Aumento del tamaño y del peso de las semillas

El peso y el tamaño de las semillas son caracteres que también se han visto modificados durante el proceso de domesticación. Aunque la finalidad de las semillas no sea el consumo directo, las de los tomates cultivados son normalmente más grandes que en los parientes silvestres, pudiendo incluso duplicar su tamaño (**figura 6**). Este cambio en el tamaño y el peso de las semillas, probablemente sea la consecuencia de una fuerte presión de selección hacia una germinación uniforme y un vigor adecuado de las plántulas (Doganlar *et al.*, 2000).

Se han identificado algunos QTLs involucrados en el peso de las semillas, pero parece ser que el *seed weight (sw4.1)* es el que contribuye de forma más significativa a este efecto (Doganlar *et al.*, 2000). Cabe destacar que algunas de estas regiones cromosómicas se encuentran muy próximas a diversos *loci* relacionados con el peso del fruto y con el contenido en sólidos solubles (Doganlar *et al.*, 2000; Tanksley, 2004). Además, se ha observado que existe cierto grado de correlación entre ellos, que suele ser positiva entre el peso de las semillas y el peso de los frutos, y negativa entre el peso de las semillas y el contenido en sólidos solubles (Goldman *et al.*, 1995; Grandillo y Tanksley, 1996). Aún así, queda por aclarar si la correlación positiva existente entre el tamaño del fruto y el peso de la semilla podría deberse a efectos de pleiotropía o de ligamiento (Doganlar *et al.*, 2000).

1.1.2.4. Tendencia a la autogamia

Durante el proceso de domesticación del tomate se produjo una cierta modificación del sistema de reproducción. Esta variación se basa principalmente en la disminución del porcentaje de alogamia parcial, encontrada en los parientes silvestres, en favor de la autogamia. La evolución en el sistema reproductor se debe a un cambio en la morfología estigmática (Rick *et al.*, 1977, 1978, 1979), pasando de estigmas exertos, observables en accesiones silvestres, a estigmas insertos, presentes en la mayoría de los tomates cultivados (**figura 7**).

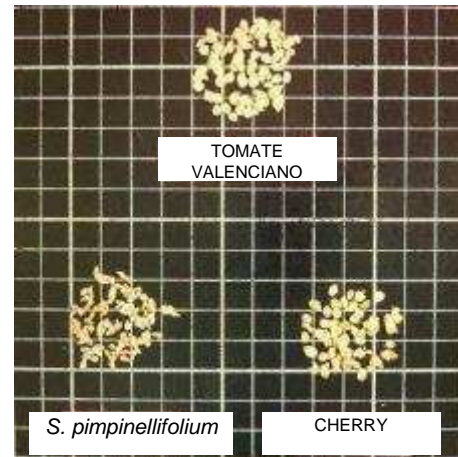


Figura 6. Diferencias de tamaño observadas entre las semillas de *S. pimpinellifolium* y tomate cultivado (cherry y valenciano).



Figura 7. Estigmas exertos presentes en *S. pimpinellifolium* (izquierda). Estigmas insertos observables en tomate cultivado (derecha).

La presencia de estigmas insertos en poblaciones cultivadas favorece la autofecundación y, por tanto, asegura en mayor medida el cuajado de los frutos. Probablemente esta característica se haya seleccionado de forma indirecta, es decir, la selección de plantas con un mejor cuajado de frutos (lo cual se traduce en una mayor producción) implicaría, a su vez, una selección a favor de plantas con mayor porcentaje de autogamia. No obstante, hay que tener en cuenta que la exención o inserción del estigma sigue siendo muy variable en el tomate cultivado y que se ve influenciada por las condiciones ambientales.

1.1.3. La difusión del tomate

Esquinas Alcázar y Nuez (1995) hicieron una excelente revisión sobre la difusión del tomate. Esta especie llegó a Europa procedente del Nuevo Mundo (al igual que otras muchas especies que también fueron introducidas como el algodón, la patata, el pimiento, las judías y los cacahuetes) a principios del siglo XVI, probablemente en uno de los primeros viajes de retorno de las expediciones comandadas por Cristóbal Colón (Hancock, 2004). Sin embargo, la primera referencia escrita data de mediados de siglo. Aparece en la revisión de los trabajos de Dioscorides escrita por Pietro Andrea Matthioli en el año 1544, donde el tomate se cita brevemente en una ficha descriptiva de la mandrágora (*Mandragora sp.*), género perteneciente a la familia de las solanáceas y que comprende especies venenosas próximas al tomate. En ese pequeño párrafo, el tomate queda descrito como un fruto aplanado, segmentado y verde que maduraba en color amarillo dorado (aunque en ediciones posteriores también describió otros frutos de color rojo), y se detallaba el modo de consumirlo, de la misma forma que se hacía con la berenjena (Matthioli, 1544). Por lo tanto, se puede asegurar que el tomate ya estaba establecido en la cocina italiana en esa época.

Siendo evidente que la entrada en España tuvo que ser anterior, el primer registro escrito sobre la utilización del tomate en España data del 1608. Aparece en una lista de compras del Hospital de La Sangre de Sevilla (Hamilton, 1976), lo cual confirma que el consumo del tomate también era habitual por aquel entonces en territorio español. Incluso Tirso de Molina (S. XVII) ya citaba las ensaladas de tomate en su obra “*El amor médico*”

(Dondarini, 2010). Basándose en las primeras referencias escritas comentadas anteriormente, se puede asegurar que en el siglo XVII el tomate ya formaba parte de la dieta de la mayor parte de los países del sur de Europa. Sin embargo, no se dispone de ningún escrito referente al propio cultivo del tomate hasta el siglo XVIII, cuando éste ya se encontraba totalmente extendido por la península (Quer, 1762-1784).

La aceptación del tomate por parte de los países del centro y norte de Europa fue progresiva y más lenta. Muy probablemente, el menor éxito del tomate en estas áreas estuviera limitado por las condiciones climáticas, mucho menos propicias para su cultivo que en las regiones mediterráneas. Por ello, no es de extrañar que en un principio, el tomate se introdujera como una curiosidad botánica y empezara a cultivarse simplemente con fines ornamentales. Debido a que pertenece a la familia de las solanáceas, otros autores proponen que el retraso en la aceptación del tomate podría estar relacionado con la desconfianza que suscitaba. Los agricultores dudaban de su posible valor alimenticio y temían que pudiera tratarse de una planta peligrosa que presentara cualidades venenosas como otras de su familia, como la mandrágora o la belladona (Laterrot y Philouze, 2003).

La difusión del tomate al continente africano fue temprana, especialmente gracias a los comerciantes turcos que tenían establecidas rutas comerciales a lo largo de todo el Mediterráneo, donde también extendieron su cultivo. De hecho, Gregorio de los Ríos (1592) ya citaba al tomate como especie cultivada en Egipto en su libro “Agricultura de Jardines”, y su presencia en Túnez también había sido constatada hacia finales del siglo XVI (Kress, 1977, citado por Le Floc’h *et al.*, 1990). El tomate también llegó a otras zonas del continente africano, como Angola y Mozambique principalmente, pero en este caso por medio de los comerciantes de especias portugueses (Tindall, 1977; Villareal, 1980), que realizaban paradas en dichos puertos durante sus largas travesías hacia el continente asiático en la denominada “ruta de las especias”.

Pese a que diversos puertos del sur de la India constituían importantes enclaves comerciales para los mercaderes portugueses ya a principios del siglo XVI, sorprende que la introducción del tomate no se consolidara hasta el siglo XVIII (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995). Así, el tomate llegó al continente asiático probablemente a cargo de los españoles en el siglo XVII, que lo llevaron a Filipinas aprovechando el flujo de embarcaciones que se destinaban al comercio. Así, en el tratado sobre plantas filipinas realizado por Ignacio de Mercado a finales del siglo XVII, ya se citan los usos medicinales del tomate (García-París, 1991). Debido al imparable comercio marítimo, el tomate no tardó en llegar a países como China y Japón, pero la aceptación del cultivo fue tardía. Buena muestra de ello es que, aunque hay constancia de su presencia en el archipiélago japonés hacia finales del siglo XVII, aún no se cultivaba en el siglo XVIII (De Candolle, 1883). Se cree que China y Japón pudieron contribuir a su posterior difusión por todo el continente asiático, aunque se postula que otra posible ruta alternativa mediante la cual el tomate podría haberse difundido por Asia estaría fundamentada en las relaciones comerciales que existían entre Portugal y ciertos países del continente asiático.

Curiosamente, la difusión del tomate hacia el territorio Norteamericano fue muy escasa en comparación con otras especies hortícolas. Lo más razonable sería pensar que, al igual que el tomate se difundió desde la zona andina hacia México, siguiera distribuyéndose más al norte, pero no se dispone de referencias históricas que confirmen que existiera una

difusión clara desde México a los Estados Unidos (aunque probablemente ocurriera en las zonas más sureñas de Norteamérica). De modo que el tomate llegó a territorio norteamericano por medio de los colonos europeos hacia el 1700 (Robertson y Labate, 2007). Buena muestra de ello es la diferencia temporal existente entre los primeros registros escritos relacionados con el cultivo del tomate encontrados en la costa este y en la costa oeste de los Estados Unidos. Thomas Jefferson, en sus “Notas sobre el estado de Virginia” de 1782, ya hace referencia al cultivo del tomate (Rick, 1978). Mientras que el registro más antiguo conocido sobre el cultivo del tomate en la costa oeste data del 1850, en San Diego, California (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995). Aún así, el tomate no tuvo importancia real en toda Norteamérica hasta finales del siglo XIX y principios del XX (Rick, 1978).

Cabe destacar que, debido a que el tomate ya había alcanzado un elevado grado de domesticación en México, las primeras colectas incluyeron materiales bastante diversos en cuanto a tamaño, forma y color de sus frutos (Rick, 1978). Sin embargo, no hay que olvidar que los procesos de domesticación implican una selección severa de materiales, los cuales generalmente sufren alteraciones importantes, especialmente en el tamaño y diversidad de las partes directamente aprovechables por el hombre (Frery y Doganlar, 2003). Con lo cual, pese a que la variabilidad morfológica de los materiales importados fue destacada, los cuellos de botella genéticos asociados a los procesos de domesticación y selección (Rick y Fobes, 1975; Rick, 1987) restringieron de manera considerable la variabilidad genética de esos materiales. Consecuentemente, es lógico que la base genética del tomate cultivado sea extraordinariamente estrecha, ya que la mayor parte de los materiales cultivados en la actualidad derivan de los relativamente pocos materiales que se trajeron en su día del Nuevo Mundo.

En el proceso de difusión, según el cultivo fue introduciéndose en distintas zonas, comenzó un proceso evolutivo fruto de la acción conjunta de la selección artificial del agricultor y de la selección natural, con la consecuente adaptación a las condiciones agroclimáticas locales. Como resultado se iría generando progresivamente una gran diversidad representada en lo que hoy en día conocemos como variedades tradicionales.

1.2. LAS VARIEDADES TRADICIONALES

1.2.1. Origen y características de las variedades tradicionales

Desde su introducción en Europa, el tomate fue evolucionando en parte como consecuencia de la selección realizada por los agricultores. La estrategia de éstos consistía en obtener una mezcla de semillas procedentes de distintos individuos (basándose esencialmente en caracteres de interés, como el hábito de crecimiento de las plantas, el tamaño de sus frutos, el color, la morfología, la época de maduración o el sabor de éstos, entre otros), con el objetivo de utilizarla en el siguiente ciclo de cultivo. Este proceso de selección primigenia o mejora genética intuitiva que realizaban los agricultores, recuerda

a lo que actualmente se conoce con el nombre de selección masal, y ha resultado un factor clave en el origen de las variedades tradicionales.

Es evidente que a su vez, el tomate ha ido adaptándose a las numerosas regiones en las que se ha llevado a cabo su cultivo. Con lo cual, las poblaciones se han visto sometidas a diferentes condiciones agroclimáticas (incluyendo las características físico-químicas del suelo, las condiciones climáticas, las formas de manejar la variedad por parte del agricultor y los factores bióticos con los que coexisten) que han favorecido una evolución diferencial a través de la adaptación a las condiciones ambientales. De este modo, la selección de los agricultores daría lugar a la fijación de determinados caracteres en las poblaciones de partida, que paulatinamente se irían modificando y diversificando, originando materiales con características diferenciales. Esta característica adaptativa es clave en la definición de las variedades tradicionales. Así, Harlan describió estos materiales como “*aquellos materiales con una cierta integridad genética, reconocibles morfológicamente, y que difieren en su adaptación al tipo de suelo, fecha de siembra y maduración, altura, valor nutritivo, uso y otras propiedades*” (Frankel y Soulé, 1981).

Como resultado de la conjunción entre la selección artificial llevada a cabo por los agricultores y el propio mecanismo de selección natural se impulsó la diversificación del cultivo, originando numerosas variedades tradicionales o locales.

La forma en la que las variedades tradicionales han sido seleccionadas, ha condicionado que se caractericen por mostrar una elevada variabilidad. Dicha heterogeneidad es la responsable de la enorme plasticidad que muestran las variedades tradicionales frente a las condiciones de estrés y se encuentra tanto a nivel interpoblacional, como a nivel intrapoblacional:

- *Variabilidad interpoblacional* - La selección realizada por los agricultores se ha llevado a cabo siempre de forma totalmente intuitiva y subjetiva y, por tanto, diferencial. Así, cada agricultor ha seleccionado la semilla que constituiría la generación siguiente en base a criterios únicos, distintos de los de cualquier otro agricultor y además lo ha hecho en su parcela, con unas condiciones “micro-ambientales” distintas. Paralelamente, los agricultores de la misma zona han tenido que tener en cuenta las exigencias y expectativas del mercado, incluyendo distintas morfologías, tamaños o colores de los frutos, o su adaptación a un uso culinario concreto en función de la aceptación popular. Por todo ello, se podría decir, dentro de cada variedad tradicional existiría una población distinta por cada agricultor.
- *Variabilidad intrapoblacional* - Como ya se ha comentado, los agricultores utilizaban una mezcla de semillas proveniente de una selección de plantas distintas de la población anterior. Teniendo en cuenta que no se ejercía una fuerte presión de selección sobre ningún genotipo concreto, lo que se obtenía eran mezclas de distintos genotipos con características morfológicas similares. Es decir, el agricultor realmente estaba seleccionando a favor de poblaciones genéticamente heterogéneas. Por ello, las variedades tradicionales son en realidad variedades población. La principal virtud de las variedades población es que, como resultado de su estructura genética heterogénea, son capaces de contribuir a la constitución

de un sistema homeostático en presencia de alteraciones del medio (como son las plagas, enfermedades, variaciones climáticas bruscas...). Estos sistemas, típicos de la agricultura tradicional, pueden responder frente a condiciones cambiantes manteniendo un mínimo de producción, ya sea a nivel intrapoblacional, interpoblacional o intervarietal (Ceccarelli *et al.*, 1992; Guzmán-Casado *et al.*, 2000; Cebolla-Cornejo, 2005). Esta situación es opuesta a los sistemas de cultivo intensivos, muy uniformes genéticamente y que dependen de la modificación del ambiente para hacer frente a las situaciones de estrés a las que son susceptibles.

Por otra parte, durante el proceso de selección y diferenciación de las variedades tradicionales, no es de extrañar que se prestara especial atención a aquellas variantes que mejores características organolépticas mostraran (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2006). Aunque no está claro cómo los agricultores incluyeron el sabor entre sus parámetros de selección, lo que sí es cierto es que las variedades tradicionales, además de su adaptación a las condiciones agroclimáticas, suelen destacar también por su elevada calidad organoléptica.

Durante centenares de años de evolución, las poblaciones tradicionales fueron modificándose y diversificándose de manera diferencial originando numerosas variedades tradicionales. Sin embargo, esta gran diversidad generada se ha ido perdiendo progresivamente durante los dos últimos siglos.

1.2.2. Erosión genética

A mediados del siglo XIX empezaron a surgir las primeras empresas productoras de semillas y con ellas, nacieron los programas de mejora genética formales. Su finalidad era tratar de mejorar los procesos de selección intuitiva que realizaban los agricultores para hacerlos de manera más rápida, adecuada y eficiente. Aprovechando la enorme diversidad en poblaciones tradicionales disponible como material de partida, empezaron a generar nuevas variedades mejoradas que superaban, sobre todo en cuanto a producción se refiere, a las cultivadas con anterioridad. El concepto de novedad y el hecho de que se tratara de variedades más productivas animó a algunos agricultores, que viendo que podrían resultarles más rentables, se decidieron a sustituir parcial o totalmente sus selecciones.

La sustitución de las variedades tradicionales que se venían cultivando hasta el momento por materiales mejorados, conllevó una pérdida progresiva de diversidad conocida con el nombre de “erosión genética”, que se precipitó durante el siglo XX. La aceleración del proceso de erosión genética ha ido aparejada a los avances de la mejora genética. De esta forma, cuanto más productivas eran las nuevas variedades comerciales, mayor era la probabilidad de que el agricultor abandonara sus propios materiales. En este sentido, el redescubrimiento de las leyes de Mendel (1900) por parte de tres botánicos ilustres, el holandés Hugo de Vries, el inglés Karl Erich Correns y el austriaco Eric Von Tschermak, supuso un avance tremendo en el campo de la mejora genética vegetal. El hecho de comprender las bases genéticas de la herencia, permitió desarrollar programas de mejora sensiblemente más sofisticados y eficaces que condujeron al desarrollo de variedades

mucho más productivas, incrementándose como consecuencia las sustituciones de variedades tradicionales.

George Harrison Shull, reconocido genetista norteamericano (1874-1954), consiguió desarrollar los primeros híbridos de maíz a partir de líneas puras en la primera década del siglo XX, siendo el pionero en describir el fenómeno de la heterosis en maíz (1908). Pocos años después, H.G. Wallace detectó la posibilidad que ofrecían los híbridos para instaurarse a nivel comercial, ya que las poblaciones híbridas eran totalmente incompatibles con el sistema que seguían los agricultores de guardar las semillas y sembrarlas al año siguiente. De modo que hacia los años 1930, ya se trabajaba intensamente para producir semillas híbridas F1 (Alabouette y Titard, 1933; Ashby, 1937). El éxito de la comercialización de los híbridos de maíz y el aumento espectacular de ingresos que eso supuso para las casas de semillas, hizo que rápidamente el interés por desarrollar variedades híbridas se extendiera a otras especies. Así, solo unos años más tarde, en 1946, salía al mercado el primer híbrido comercial de tomate: el *Single Cross* (Dorst, 1946).

La capacidad de recobrar la inversión en programas de mejora que ofrecieron las variedades híbridas sin duda espoleó el éxito de los programas de mejora y por tanto la tasa de sustitución de los materiales tradicionales. Así, muchos de los agricultores empezaron a abandonar sus cultivos tradicionales en favor de las nuevas variedades híbridas, mucho más vigorosas y productivas. Con lo cual, las selecciones que realizaban sobre sus poblaciones y la posibilidad de que éstas pudieran continuar evolucionando, también desaparecieron junto con ellas.

Así, podría afirmarse que ha sido la propia mejora genética la principal causante de la pérdida de diversidad ocurrida en las variedades tradicionales. A este fenómeno se le conoce con el nombre de “paradoja del mejorador”, y está fundamentado en que, tras la salida al mercado de nuevas variedades comerciales con mejor comportamiento en campo y mayor producción y aceptación por parte de los consumidores, los agricultores abandonan las variedades que habían cultivado hasta el momento y las sustituyen por estos materiales novedosos que les resultan más interesantes y rentables. Las variedades tradicionales, por tanto, van cayendo en desuso y dejan de mantenerse en campo, lo cual provoca la pérdida paulatina de esa fuente de variación indispensable para emprender nuevos programas de mejora (Hawkes *et al.*, 2000).

La aparición de nuevas empresas dedicadas a la producción de semillas hortícolas fue aumentando significativamente, tanto en Estados Unidos como en Europa. Tanto es así que a mitad del siglo XX las casas de semillas controlaban el mercado, y la mayor parte de los agricultores preferían cultivar sus productos a las variedades tradicionales que habían cultivado durante tantos años. Como consecuencia, durante las décadas de los 60 y 70 se produjo una gran revolución en los sistemas de suministro de semillas gracias al éxito de los nuevos materiales mejorados y que se acompañó del inicio de la concentración de los sistemas de producción de semillas dando lugar a grandes empresas (Fernández-Cornejo, 2004). Esta situación contribuyó a la progresiva homogeneización de los materiales cultivados, que en cultivos como el maíz o el café, daría lugar a pérdidas agrícolas muy importantes y a la acuñación del término “vulnerabilidad genética”, que

refiere al riesgo que supone la uniformidad genética sobre la producción agrícola a nivel mundial (NAS, 1972).

En la década de los 80, la globalización de los mercados conllevó también la globalización de plagas y enfermedades de los cultivos. Las variedades comerciales venían evolucionando e incorporando genes de resistencia (procedentes fundamentalmente de especies relacionadas) frente a estos agentes bióticos desde los años 40 (Hajjar y Hodgkin, 2007). Sin embargo, las variedades tradicionales se encontraban adaptadas a los estreses bióticos concretos del área geográfica donde habían sido cultivadas, pero no mostraban tolerancia o resistencia frente a los nuevos patógenos introducidos. Consecuentemente, las variedades tradicionales se mostraban mucho más susceptibles que los nuevos cultivares comerciales. De ahí que gran parte de los agricultores que aún seguían manteniendo sus poblaciones, por el hecho de convertirse en cultivos de riesgo, terminaran sustituyéndolas por variedades más modernas.

Debido al tremendo éxito de los cultivares comerciales, las casas de semillas competían y aún siguen compitiendo por generar productos novedosos que satisfagan las necesidades de los agricultores y, a su vez, sacien la demanda cambiante de los consumidores. De este modo, anualmente saltan al mercado nuevas variedades que superan, mejoran o difieren en las cualidades que presentan las anteriores, lo cual obliga a los agricultores a adquirir estos nuevos materiales para poder seguir siendo competitivos.

En la actualidad, la enorme competencia existente entre las empresas productoras de semillas ha beneficiado el desarrollo de las grandes multinacionales en detrimento de las pequeñas casas de semillas, que se han visto avocadas a la desaparición o, en su defecto, a la absorción de sus negocios por parte de las primeras, que las utilizan como redes de comercialización (Howard, 2009). Esta situación ha traído como consecuencia una monopolización del mercado, que ha comportado una homogeneización extrema de los materiales disponibles para el agricultor. Con lo cual, la base genética de los materiales cultivados se ha visto reducida sustancialmente, aumentando la vulnerabilidad de éstos frente a plagas y enfermedades. Así pues, la sustitución de poblaciones tradicionales (capaces de actuar como un sistema homeostático frente a condiciones ambientales cambiantes) por materiales genéticamente homogéneos (incapaces de tamponar estas variaciones), ha generado cierta preocupación, especialmente para aquellos sistemas agrícolas de baja capacidad de uso de insumos que ayuden a combatir situaciones de estrés biótico o abiótico.

En este contexto, no es extraño que en el primer Informe sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos (FAO, 1996) se estableciera como la principal causa de erosión genética, la sustitución de variedades tradicionales (**figura 8**). En la literatura se pueden encontrar numerosos ejemplos de cómo la sustitución de variedades tradicionales por nuevas variedades mejoradas ha contribuido a la desaparición de las primeras:

- En Grecia, en 1930 el 80% de la producción de trigo estaba basado en variedades tradicionales, descendiendo este porcentaje por debajo del 10% en 1970 (Hawkes *et al.*, 2000).

- En Filipinas, hasta hace relativamente poco tiempo existían miles de variedades de arroz, mientras que hoy en día sólo dos variedades, fruto de la revolución verde, suponen el 98% del área cultivada (Hawkes *et al.*, 2000).

- En China, de las casi 10.000 variedades de trigo en uso en 1949 sólo quedaban en campo cerca de 1.000 en 1970 (FAO, 1996).

- En Estados Unidos, de las variedades descritas a principios de siglo hoy en día se han perdido el 86% de manzano, 95% de col, 91% de maíz, 94% de guisante y 81% de tomate (FAO, 1996).

- En la República de Corea, el 74% de las variedades de 14 cultivos en uso en 1985 habían sido reemplazadas en 1993 (FAO, 1996).

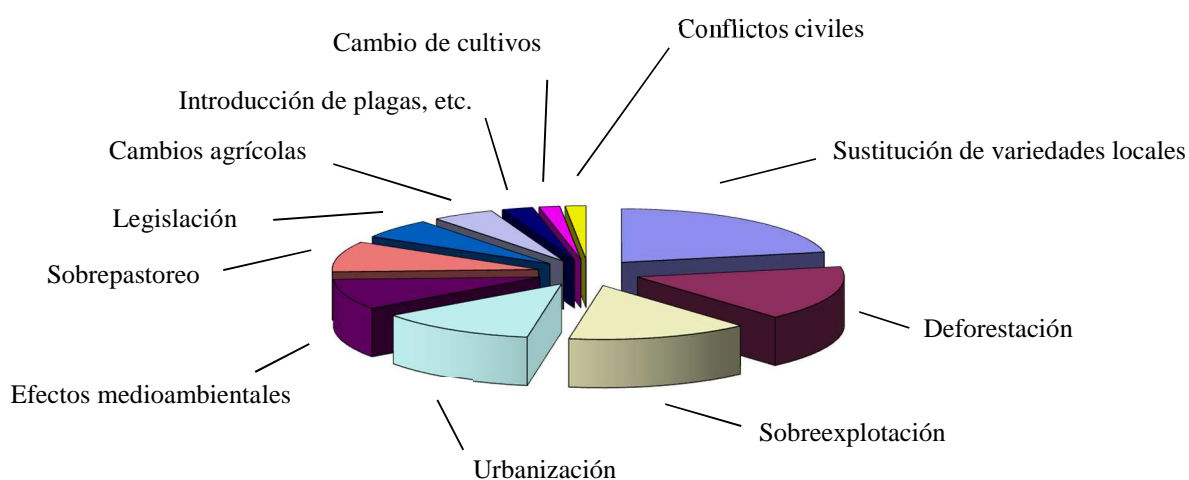


Figura 8. Principales causas de erosión genética citadas en los informes nacionales del primer Informe sobre el Estado de los Recursos fitogenéticos (FAO, 1996).

En el segundo informe sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos (FAO, 2010) se constató que las causas de erosión genética detectadas en el informe de 1996 seguían estando vigentes. Aunque los procesos de erosión genética parecen continuar, afectando por orden de importancia a cereales, hortalizas, frutales, frutos secos y leguminosas, también es cierto que la situación a escala global requiere un análisis complejo, ya que en algunos casos la pérdida de diversidad se ha reducido en los últimos 15 años. No obstante, el informe confirma la vigencia del problema de vulnerabilidad genética que genera la uniformización de los cultivos. El caso más grave parece ser el ataque provocado por la raza Ug99 de la roya de trigo *Puccinia graminis f. sp. tritici*.

En el caso concreto del tomate, las empresas productoras de semillas se han establecido como objetivo generar productos dirigidos hacia dos segmentos distintos de mercado, como son: las variedades de tomate para uso industrial y las variedades de tomate destinadas al consumo en fresco. Cada una de estas líneas de trabajo se corresponde con ideotipos de fruto distinto. Así, en los tomates de industria se pretende aumentar el rendimiento disminuyendo al máximo los costes de producción y adaptar las nuevas

variedades a la mecanización del cultivo y del tratamiento postcosecha. A su vez, mejorar el contenido en sólidos solubles del fruto, la viscosidad y la intensidad del color rojo, también se establecen como objetivos fundamentales (Grandillo *et al.*, 1999b; Duman *et al.*, 2005). Por otra parte, la mejora pretendida para los tomates destinados al consumo en fresco se ha centrado básicamente en el rendimiento, la viabilidad postcosecha, la firmeza del fruto y otros aspectos relacionados con la morfología del fruto (Foolad, 2007). La persecución de ideotipos distintos ha provocado una divergencia a nivel genético entre estos dos grupos de tomate (Rodríguez *et al.*, 2011). Sin embargo, la variabilidad genética existente dentro de cada grupo es reducida, motivo por el cual la sustitución de variedades tradicionales por cultivares comerciales, ha ido convirtiendo al tomate en un cultivo potencialmente vulnerable.

Es cierto que la desaparición de una determinada variedad tradicional no implica la pérdida irremediable de determinados genes, pero cada variedad tradicional constituye una combinación de genes única, fruto de siglos de adaptación y selección. Con lo que una vez perdida, difícilmente se puede recuperar mediante un programa de mejora genética (Cebolla Cornejo, 2005).

Aquellas especies y variedades que se han visto menos afectadas por el proceso de erosión genética, son las que cuentan con una valoración especial por parte de los consumidores. De hecho, su demanda ha permitido mantener una oferta mínima de estos materiales, que suelen encontrarse asociados a mercados locales o mercados de calidad. Sin duda, la supervivencia de estos materiales en el campo está asociada a la continuidad de la estrecha relación establecida entre las variedades tradicionales y los mercados de calidad.

1.2.3. Las variedades tradicionales y el mercado de calidad

Aunque la mayor parte de los agricultores decidieran sustituir sus variedades tradicionales para adaptarse al modelo productivo existente (en el que la productividad juega un rol principal), lo cierto es que desde los años noventa se inició un posicionamiento de grupos de consumidores que se alejaban de los sistemas intensivos de producción en busca de sistemas alternativos que valorasen la calidad de los productos. Así, poco a poco se fueron expandiendo nichos de mercado asociados a productos de calidad generados en sistemas de cultivo tradicionales (Gilg y Battershill, 1998).

Existen algunos factores íntimamente relacionados con este cambio observado sobre la preferencia de compra de los consumidores:

a) En primer lugar, la globalización de los mercados conlleva una enorme competitividad entre productores, los cuales se han visto obligados a disminuir sensiblemente el precio de sus productos hortícolas para continuar siendo competitivos. Tal ha sido la reducción en los márgenes de beneficio y en la rentabilidad de sus parcelas, que la situación ha desembocado en multitud de abandonos de explotaciones agrarias o sustitución de variedades tradicionales por otras más productivas (especialmente en el caso de agricultores con pequeños campos de cultivo). Esta situación finalmente ha derivado en una homogeneización drástica de los cultivos y variedades y consecuentemente, de los productos ofertados a los consumidores.

b) Los cultivares comerciales normalmente se cultivan bajo prácticas agrícolas intensivas. Estos sistemas de manejo incluyen el empleo de productos fitosanitarios y fertilizantes para proteger a los cultivos de posibles plagas y enfermedades, acelerar el crecimiento de las plantas, o incrementar los niveles de producción. Sin embargo, el creciente colectivo ecologista se ha hecho eco de los riesgos relacionados con el medioambiente y la salud que suponen estos tipos de explotaciones agrarias (Horrigan *et al.*, 2002), y cada vez exigen con mayor insistencia una gestión sostenible de los ecosistemas (Matson *et al.*, 1997; Tilman *et al.*, 2002), un respeto por la biodiversidad (Kleijn y Sutherland, 2003; Henle *et al.*, 2008) y su conservación, y una reducción o no utilización de productos químicos (que en última instancia pueden quedar en forma de residuos en los frutos comercializados). Por contrapartida, los productos ecológicos están ganando adeptos. El hecho de que se cultiven en parcelas más reducidas y el manejo del cultivo sea tradicional, hace que los consumidores los consideren más naturales. Además, el cultivo ecológico evita la utilización de fitosanitarios de síntesis, con lo cual los productos obtenidos no arrastran trazas de éstos y, lógicamente, resulta más respetuoso con el medioambiente que las explotaciones intensivas.

c) A todo ello se suma que los productos ofertados derivados de explotaciones agrarias de alta intensidad no terminan de satisfacer las necesidades de los consumidores. Es muy frecuente que las variedades comerciales empleadas sean extremadamente productivas y muestren un aspecto muy homogéneo. Sin embargo, suelen mostrar una calidad interna que no termina de satisfacer la demanda de los consumidores. En este contexto, productos hortícolas destacados por su calidad organoléptica o etiquetados por su reconocido sistema de producción y origen (como las denominaciones de origen o las indicaciones geográficas), están siendo muy valorados por los consumidores. De hecho, estos productos alcanzan un precio más elevado en los mercados destinados a productos de calidad, donde cada vez acuden más consumidores cansados de adquirir frutos insípidos procedentes de explotaciones agrícolas intensivas.



Figura 9. Las variedades tradicionales, apreciadas en mercados de calidad, pueden alcanzar precios elevados de venta en el mercado.

1.2.3.1. El mercado de calidad

En general, la mayor parte de las variedades tradicionales no pueden competir, en cuanto a producción se refiere, con los cultivares modernos de tomate. Los nuevos cultivares han sido pertinentemente seleccionados buscando una mayor productividad (aumentando el índice de cosecha) y además, es muy común que suelen disponer de baterías de genes de resistencia que minimizan los daños que pueden provocar ciertos estreses en la planta. Por tanto, muestran un umbral de producción mayor y una pérdida de producción menor que el de las variedades tradicionales, lo cual se traduce en un mayor margen de beneficio para el agricultor.

Sin embargo, debido al modo en el que se han desarrollado los programas de mejora, los cultivares comerciales de tomate han terminado mostrando una calidad sensorial que no

ha llegado a cumplir las expectativas de los consumidores. Es más, las críticas suelen ser comunes en distintos países, como EEUU (Kader *et al.*, 1977), Australia (Ratanachinakorn *et al.*, 1997), en los Países Bajos (Janse y Schols, 1995) y Francia (Decoene, 1995). De hecho, se ha observado que los consumidores frecuentemente asocian las variedades actuales con variedades que carecen de sabor (Bruhn *et al.*, 1991). Este desacuerdo con respecto a los productos ofertados por los supermercados está obligando a modificar la tendencia previa que solo favorecía al sector comercial, y las empresas están empezando a atender las peticiones de los consumidores.

Aunque la calidad intrínseca de los alimentos sea uno de los caracteres más valorados, las nuevas exigencias de los consumidores también incluyen aspectos como el impacto del sistema de producción empleado sobre el medioambiente (agricultura ecológica y/o integrada frente a la agricultura actual de alta intensidad), y el origen de los productos (apreciando en mayor medida los procedentes de explotaciones locales). Así, adjetivos como “de proximidad”, “fresco”, “ecológico”, “nutritivo”, “tradicional” o “sabor de antes” son etiquetas que aportan un valor añadido a los productos agrícolas, y los consumidores los asocian con una calidad superior (Rozin *et al.*, 2004; Yiridoe *et al.*, 2005). En este contexto, la recuperación de variedades tradicionales, reconocidas por su destacada calidad, se establece como una alternativa a los productos derivados de la agricultura convencional.

Pero realmente, ¿qué se entiende por calidad de un producto agrícola? La calidad realmente es un concepto multidimensional, subjetivo y mutable en el tiempo, que básicamente se relaciona con la capacidad de satisfacer las demandas y las expectativas de los diferentes usuarios y consumidores (Shewfelt, 1999). Esto significa que la calidad de un producto no es universal, y que la valoración que puede hacerse del mismo puede ser completamente diferente. De hecho, los distintos atributos de calidad valorados a lo largo de la cadena agroalimentaria ejemplifican perfectamente cuán subjetiva es la “calidad” en función de cómo se valore un determinado producto. Así, aunque existen atributos generalmente valorados (como el precio, la vida útil del producto y ciertas características relacionadas con la seguridad alimentaria), los agricultores destacan el rendimiento, la facilidad de manejo y resistencia a plagas y enfermedades; los transformadores se basan más en aspectos como la homogeneidad del producto, los requerimientos tecnológicos necesarios y los índices de transformación conseguidos; los agentes de la cadena comercial valoran esencialmente la apariencia visual, la homogeneidad del producto y el comportamiento postcosecha de la variedad; y los consumidores atienden a la apariencia externa del producto, su calidad organoléptica y funcional, el frescor, su origen, el sistema de producción empleado, y otros aspectos como su uso tradicional.

Es evidente que la valoración que hacen los consumidores sobre la calidad de los productos hortícolas es mucho más compleja de evaluar, ya que depende de niveles de satisfacción, difícilmente cuantificables (Shewfelt, 1999). Por ello, algunos autores proponen definir la “calidad” como el conjunto de características medibles y cuantificables de un producto y, denominar “aceptabilidad” a la percepción y respuesta de los consumidores frente a esas características (Abbott, 1999; Shewfelt, 1999). A su vez, esta aceptabilidad está extremadamente ligada a la calidad organoléptica y funcional de los productos.

La calidad organoléptica engloba todas aquellas características del fruto que pueden ser percibidas por los sentidos. Concretamente en tomate, las sensaciones visuales (como el color y la morfología), olfativas (destacando especialmente el típico olor a tomate), gustativas (el nivel de dulzor y acidez) y táctiles (como la firmeza, textura y la estructura), definirían la calidad organoléptica global de sus frutos. Aunque ya se ha comentado que las variedades comerciales destacan por su aspecto externo (especialmente en la uniformidad morfológica y en el color de sus frutos), las variedades tradicionales son materiales reconocidos y apreciados por su elevada calidad interna, generalmente superior en los restantes aspectos a la mostrada por sus competidores comerciales. Por ello, aunque suelen mostrar una calidad visual inferior a los materiales comerciales (mayor variación morfológica, presencia de agrietado u hombros verdes,...), sus peculiares características morfológicas han terminado relacionándose con una elevada calidad organoléptica.

La calidad funcional o valor nutritivo, es un concepto relacionado con los diversos beneficios que pueden aportar al organismo determinados compuestos presentes en los alimentos. La sociedad actual se preocupa cada vez más por su salud y su estado físico, lo que se ha traducido en un creciente interés por los productos alimenticios cuyo consumo resulte saludable, o se encuentre relacionado con la prevención de diversas dolencias o enfermedades (Granato *et al.*, 2010). Esta tendencia no ha pasado desapercibida en la industria alimentaria (Sun-Waterhouse, 2011), que se ha volcado en la obtención de “alimentos funcionales” con objeto de satisfacer las demandas de los consumidores. Así, hoy en día pueden encontrarse en los supermercados productos que incluyen un mayor contenido en ácidos grasos omega 3, esteroides, probióticos o antioxidantes, que suelen alcanzar precios de venta superiores basándose en su destacada calidad funcional. En tomate, el valor nutritivo depende fundamentalmente del contenido en vitaminas, carotenoides y flavonoides, cuya presencia ha despertado el interés de los consumidores. Sin embargo, la pérdida de sabor detectada en la mayor parte de las variedades comercializadas (aún con el aliciente de ser materiales con mayor calidad funcional) no convence a los consumidores, que siguen tratando de reencontrarse con el verdadero sabor tradicional.

En esta realidad en la que confluye calidad organoléptica y funcional, se enmarca la importancia de las variedades tradicionales. Así, es sencillo entender cómo las variedades tradicionales han seguido manteniéndose en cultivo, ocupando un nicho comercial encaminado a satisfacer las necesidades de clientes que prefieren adquirir productos de mayor calidad, aunque por ello tengan que pagar un mayor precio (Grasselly *et al.*, 2000). A este tipo de mercado se le conoce con el nombre de mercado de calidad. Por tanto, si bien las variedades tradicionales no ofrecen un rendimiento como las variedades modernas, compensan su menor producción con un mayor precio del producto.

Actualmente se dispone de muy poca información acerca de la calidad funcional de las variedades tradicionales. Pero es evidente que la selección de materiales dentro de los distintos tipos varietales conocidos que destaquen por presentar elevados contenidos en compuestos funcionales, así como la certificación de un valor añadido en los productos, podría revalorizar y fortalecer aún más su prestigio en los mercados destinados a productos de calidad.

1.3. ATRIBUTOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD

1.3.1. La calidad organoléptica en el tomate

La calidad organoléptica es un atributo que resulta especialmente complejo a la hora de evaluar, debido a que se trata de un carácter determinado por multitud de compuestos volátiles y no volátiles, variable en función del tipo de manejo del cultivo y muy dependiente de la relación existente entre el genotipo y el ambiente (Petro-Turza, 1987). Además, el concepto de calidad es subjetivo, por tanto varía espacial y temporalmente, de forma que para un mismo producto se pueden obtener distintos grados de aceptación en función del tipo de mercado y consumidor. Por otra parte, numerosos compuestos involucrados en la calidad final del fruto se encuentran interconectados.

Debido a que resulta realmente complicado establecer cómo ha de abordarse la evaluación de la calidad en los productos hortícolas, se utilizan dos tipos de aproximaciones que proporcionan información complementaria:

- *Métodos de evaluación directa* – Los análisis sensoriales realizados por paneles de catadores representarían el sistema de análisis y evaluación directa. El análisis sensorial ofrece la información más precisa y fidedigna sobre la percepción del sabor de los materiales que se están valorando. Sin embargo, tiene muchos inconvenientes. Requieren personal entrenado y especializado, además de resultar muy laboriosos y económicamente muy costosos. Se añade que la rápida saturación de los panelistas limita, en gran medida, el número de muestras analizable por sesión. El mayor problema de esta metodología estriba en que suelen obtenerse valoraciones dispares entre los catadores, debido a la subjetividad a la hora de establecer las puntuaciones (Causse *et al.*, 2001).
- *Métodos de evaluación indirecta* – Los métodos de evaluación indirectos se basan en el análisis y cuantificación de aquellos compuestos que se sabe que se encuentran relacionados con la aceptación final de los productos hortícolas por parte de los consumidores. Presentan principalmente dos ventajas con respecto al sistema de evaluación directa: (1) Permiten minimizar la variabilidad que se obtendría en un panel de catadores y (2) aumentar la capacidad de procesar muestras, siendo muy superior en este caso. Sin embargo, empleando estos sistemas de evaluación no puede tenerse en cuenta la percepción global de la calidad que se obtiene mediante las evaluaciones realizadas por un panel de cata.

Hasta hace pocos años, fueron los atributos relacionados con la calidad externa de los frutos de tomate los que más atención recibieron por parte de mejoradores y comercializadores, ya que las estrategias iniciales de venta remarcaban que el consumidor “compra a través de sus ojos”. De ahí que en la mayor parte de los casos, las cualidades externas obtenidas en las distintas variedades comerciales hayan llegado a ser excepcionales. Sin embargo, aunque no deje de ser cierto que la primera adquisición del producto queda determinada por su apariencia, la fidelidad de compra depende de la calidad interna del producto. En este sentido, atributos como la textura y la estructura de

los frutos, el sabor y su aroma, son los que finalmente pueden consolidar su aceptación por parte de los consumidores.

1.3.1.1. Textura y estructura

La textura definiría las propiedades que presenta la superficie externa de un fruto, así como las sensaciones táctiles que causa al sujetarlo y el propio masticado del producto. Las características relacionadas con la firmeza y turgencia (englobadas en el ámbito de la apariencia externa), y la harinosidad, fibrosidad y jugosidad (más involucradas con la calidad interna) formarían parte de la textura del fruto. Es un atributo fundamental en la calidad del fruto, e influye considerablemente en el nivel de aceptabilidad del producto por parte de los consumidores (Verkeke *et al.*, 1998). Sin embargo, es el sabor (y de forma secundaria la textura) el que se estima fundamental en la aceptación de los consumidores (Causse *et al.*, 2003). Por otra parte, la estructura vendría determinada por características como el grosor del pericarpio y del corazón del fruto, así como por el número de lóculos y tamaño de los mismos, que afectan directamente a la consistencia y también al masticado del fruto. Con lo cual, textura y estructura son dos atributos que se encuentran íntimamente relacionados.

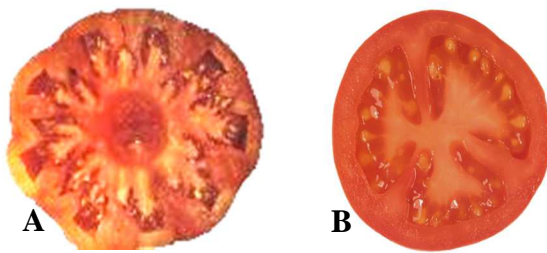


Figura 10. (A) Corte transversal de una variedad tradicional. (B) Corte transversal de una variedad mejorada de tomate de tipo “canario”. Obsérvese la diferencia en la estructura de los frutos.

En este aspecto, las variedades tradicionales suelen mostrar mayor grosor del pericarpio y del corazón del fruto (**figura 10**), lo cual se traduce en unas proporciones placenta / pericarpio y placenta / corazón más bajas que las observadas en las variedades comerciales. Por ello, en las variedades tradicionales se percibe más pulpa en la boca, resultando mucho más agradables de consumir.

La evaluación de los caracteres relacionados con la textura es compleja. Se requiere material de laboratorio sofisticado y económicamente costoso para su estimación, como por ejemplo equipos de ensayos de materiales dotados de células Kramer. Aunque son atributos complicados de relacionar con medidas físicas concretas o de composición del fruto, existen estudios que establecen correlaciones parciales entre la firmeza detectada en catas y resultados de firmeza obtenidos con penetrómetros (Causse *et al.*, 2002); igualmente se ha observado que la harinosidad se encuentra relacionada con ciertos parámetros de textura del pericarpio (Verkeke *et al.*, 1998).

Las variedades tradicionales ya destacan por su estructura, generalmente mucho más carnosa, y es sabido que aspectos texturales como la firmeza son inferiores a las variedades comerciales que integran características de larga vida relacionadas con alteraciones en el proceso de maduración. Por tanto, en este trabajo se ha decidido centrar todos los esfuerzos en la evaluación de otros aspectos de la calidad más importantes para el valor comercial del fruto: el sabor y el valor funcional.

1.3.1.2. Sabor: la percepción a través del gusto

El sabor es una sensación compleja basada en la percepción de gustos y aromas de una gran cantidad de compuestos que forman parte de un determinado alimento (Shewfelt, 1993). En tomate, la parte del sabor determinada por el gusto está principalmente determinada por los niveles de azúcares, ácidos orgánicos y las relaciones existentes entre ellos, de manera que al aumentar los niveles de éstos, aumenta también la intensidad del sabor (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995). Por otra parte los compuestos volátiles, cuya importancia ha sido destacada por numerosos autores (Buttery *et al.*, 1987; Langlois *et al.*, 1996; Baldwin *et al.*, 1998; Brauss *et al.*, 1998; Krumbein y Auerswald, 1998), determinarán la percepción del aroma que también influye en el sabor.

Los azúcares mayoritarios en tomates maduros son la fructosa y la glucosa, que constituyen hasta un 65% del contenido en sólidos solubles (CSS), lo que representa entre un 1% y un 4,5% del peso fresco del fruto (Stevens *et al.*, 1977). El contenido global en azúcares suele estar positivamente correlacionado con el peso en seco y con el CSS del fruto, como consecuencia, un aumento en el CSS suele provocar un aumento en la intensidad del sabor (Jones y Scott, 1984). Aún así, la dulzura parece estar más influenciada por el contenido en fructosa y no tanto por el de glucosa (Stevens *et al.*, 1977), debido a que la fructosa tiene un mayor poder edulcorante que la glucosa. La sacarosa, con una importancia secundaria en la determinación del dulzor en tomate, no suele encontrarse por encima del 0,1% del peso fresco en fruto maduro (Thakur *et al.*, 1996).

Los ácidos orgánicos más relacionados con el sabor son el ácido cítrico y el ácido málico, que representan entre el 0,3 y el 1% del peso fresco del tomate y más del 10% en materia seca (Davies, 1964; De Bruyn *et al.*, 1971; Mahakun *et al.*, 1979). A pesar de que el ácido málico provoca mayor sensación de acidez (Malundo *et al.*, 1995), parece ser que la percepción de la acidez se debe principalmente a la concentración de ácido cítrico, ya que presenta contenidos 10 veces superiores a los de málico en frutos maduros (Stevens *et al.*, 1977). Por otra parte, no solo el contenido individual de estos dos ácidos es importante en la determinación de la acidez del fruto, las relaciones existentes entre ambos también lo son. Así, se ha observado que los consumidores prefieren frutos que muestren ratios citrato/malato elevados, lo cual podría deberse al sabor agrio que adquieren los frutos cuando el ácido málico aparece en grandes concentraciones (Davies, 1964). Por otra parte, la concentración de ácidos puede variar la volatilidad de compuestos relacionados con el aroma, afectando a la percepción del mismo (Fulton *et al.*, 2002).

Cabe destacar que el sabor no solo depende del contenido total de ciertos azúcares o ácidos en el fruto. El balance entre los distintos azúcares y ácidos orgánicos (Malundo *et al.*, 1995; Ke y Boersig, 1996; Bucheli *et al.*, 1999a, 1999b), así como la interacción existente entre éstos y la concentración de ciertos compuestos aromáticos, juegan un papel fundamental en este aspecto (Buttery *et al.*, 1971; Dirinck *et al.*, 1976; Kavanagh y McGlasson, 1983; Buttery *et al.*, 1988; Thakur *et al.*, 1996; Baldwin *et al.*, 1998; Krumbein y Auerswald, 1998). Más allá de los ácidos mencionados, el ácido glutámico podría jugar también un papel importante en el sabor del tomate. Así, Bucheli *et al.* (1999a) observaron que la intensidad del sabor se encontraba correlacionada con el aumento de los niveles de azúcares y la disminución del contenido en ácido glutámico,

aspecto que corroboraron años más tarde Fulton *et al.* (2002) relacionando este ratio con el sabor afrutado final de los frutos. En este contexto, resulta paradójico que el glutamato, que en muchas ocasiones se utiliza como potenciador del sabor de los alimentos, afecte negativamente al sabor del tomate y deba encontrarse en concentraciones reducidas.

Por otra parte, aunque se ha observado que en muchos casos los consumidores destacan los tomates tipo cherry, cuyos frutos presentan contenidos más elevados en azúcares y ácidos que otras variedades (Jones, 1986; Baldwin *et al.*, 1998), como aquellos que muestran mejor sabor (Hobson y Bedford, 1989), las preferencias con respecto al sabor del tomate pueden variar por cuestiones culturales. Con lo cual, si bien a nivel general se considera una buena opción incrementar el contenido en azúcares manteniendo un nivel intermedio de acidez (Tandon *et al.*, 2003), los programas de mejora deben adecuarse a las preferencias de los consumidores para los cuales se desarrolla el producto concreto.

A pesar de tratarse de un carácter cuantitativo de difícil estudio debido a la gran influencia ambiental, el control genético de la acumulación de azúcares y ácidos ha recibido gran atención a lo largo de las últimas décadas. Los estudios más convencionales sobre la herencia de caracteres relacionados con el sabor revisados por Stevens (1986) han ido siendo complementados por estudios basados en el análisis de QTLs encaminados a la identificación de marcadores relacionados con estas características (Levin *et al.*, 2000; Fulton *et al.*, 2002; Yates *et al.*, 2004) que en algún caso han desembocado en la identificación de variaciones de apenas un aminoácido que representan diferencias notables en el sabor del tomate (Fridman *et al.*, 2000). Entre las fuentes de variación estudiadas, una parte importante de la atención la han recibido las especies silvestres relacionadas con el tomate.

En las últimas décadas, la utilización de germoplasma silvestre pareció convertirse en una alternativa muy interesante para mejorar el contenido o modificar las proporciones de ciertos compuestos del fruto. Sin embargo, no todas las líneas obtenidas a partir de cruces con dichos materiales han llegado a comercializarse, debido especialmente a que la calidad organoléptica de las variedades obtenidas suele verse deteriorada por el arrastre de fondo genético silvestre no deseado (Ruiz *et al.*, 2006). En relación a ello, la aparición de aromas indeseables detectada por Tadmor *et al.* (2002) en ILs generadas a partir de híbridos entre tomate cultivado y *S. pennellii* ejemplificaría una de las dificultades a las que se enfrentan los mejoradores durante los proyectos de introgresión de genes desde especies silvestres. No obstante, se han detectado interesantes variantes genéticas en accesiones silvestres involucradas en la variación del contenido de ciertos compuestos o de sus relaciones en el fruto, de las cuales destacan:

- La mutación *sucr* (*Sucrose accumulator*), identificada en *Solanum chmielewskii* ((C.M. Rick, Kesicki, Fobes y M. Holle) D.M. Spooner, G.J. Anderson y R.K. Jansen), provoca la acumulación de sacarosa en frutos en lugar de glucosa y fructosa (Stommel y Haynes, 1993; Chetelat *et al.*, 1995).
- Un alelo de la enzima ADP-glucosa-fosforilasa identificado en *Solanum hirsutum* ((Vahl) Dunal). La enzima codificada por este alelo muestra una actividad más eficiente que la enzima detectada en variedades cultivadas. La

presencia de este alelo silvestre provoca un incremento en el contenido total de azúcares en el fruto (Schaffer *et al.*, 2000).

- El locus *Fgr* (*fructosa glucosa ratio*), que modula el ratio fructosa-glucosa en los frutos maduros de *S. hirsutum*, favoreciendo el acúmulo de fructosa (Schaffer *et al.*, 1999; Levin *et al.*, 2000).
- El gen *Lin5*, que codifica para una invertasa apoplástica encargada de modular la actividad del QTL que regula la compartimentación de los azúcares (hexosas). Este alelo de *Solanum pennellii* (Correll) provoca una mayor concentración de azúcares que su ortólogo en *S. lycopersicum* (Fridman *et al.*, 2000).
- El QTL *Brix2-9-5* fue identificado en *S. pennellii* por Fridman *et al.* (2004) y mapeado dentro del gen *LIN5*, que codifica para una invertasa de la pared celular (Fridman *et al.*, 2000). Estos investigadores observaron que *Brix2-9-5* mejoraba el contenido en grados brix (relacionado básicamente con el contenido de glucosa y fructosa) hasta un 25%, aunque su efecto dependía del fondo genético de la variedad y las condiciones ambientales. Además, este aumento de la concentración de azúcar por unidad de área no afectaba a la producción total, lo cual resulta clave en variedades destinadas a industria.

Resulta curioso que las variedades tradicionales de tomate hayan sido relativamente poco estudiadas a este respecto, teniendo en cuenta la gran aceptación que encuentran en mercados de calidad gracias a sus características organolépticas. En este sentido, la caracterización y obtención de perfiles de calidad para las variedades tradicionales conocidas, proporcionaría una información especialmente útil para los mejoradores, que podrían optimizar el uso de estos materiales actualmente infrutilizados.

1.3.1.3. Sabor: la percepción a través del aroma

Se han identificado más de 400 compuestos volátiles relacionados con el aroma del tomate, pero solo 30 de ellos muestran concentraciones superiores una parte por billón (revisado por Petro-Turza, 1987). Buttery (1993) estudió los límites de detección olfativa de varios de ellos, concluyendo que 16 volátiles se encuentran en concentraciones superiores al límite correspondiente, destacando los compuestos *cis*-3-hexenal, *cis*-3-hexenol, hexanal, 1-penten-3-one, 3-methylbutanal, *trans*-2-hexenal, 6-methyl-5-hepten-2-one, methyl salicylate, 2-isobutylthiazole y β -ionone. El aroma en tomate es por tanto mucho más complicado del que muestran otras frutas y hortalizas, que presentan uno o dos compuestos predominantes que determinan en gran medida su aroma, como sería el caso de la banana (*Musa acuminata* Colla), donde destaca la acumulación de 3-methylbutyl acetate (Berger, 1991).

Los volátiles relacionados con el aroma en tomate derivan del metabolismo de lípidos, aminoácidos, carotenoides y terpenoides. En general, cada uno de estos compuestos suele aumentar su concentración durante el proceso de maduración del fruto, pudiendo estar regulados directamente por el etileno o indirectamente a través del efecto del etileno sobre la acumulación de carotenoides (Baldwin *et al.*, 1991). Así, los mutantes *rin* y *nor* que retrasan la maduración, en algunos casos se han relacionado con una menor acumulación

de volátiles (McGlasson *et al.*, 1987). Su uso puede tener efectos negativos sobre el sabor. De hecho, el mutante *rin*, que ha sido especialmente importante en el desarrollo de variedades larga vida en heterocigosis, da lugar a niveles inferiores de volátiles importante en el estado rojo maduro (Baldwin *et al.*, 2000).

Desde el punto de vista de la mejora del sabor del tomate se ha recomendado realizar selecciones positivas hacia un aumento en la concentración de compuestos relacionados con notas florales, como la 6-metil-5-hepten-2-ona y la β -ionona; frutales, como el cis-3-hexenal y la geranilacetona; y frescas como el 3-metilbutanol y la 1-penten-3-ona. Así como una selección negativa respecto a compuestos relacionados con notas a rancio, como el hexanal, trans-2-hexenal y 3-metilbutanal; pungentes, como el 2-isobutiliazol; y alcohólicas, como el 2-feniletanol (Tandon *et al.*, 2000).

Como ya se ha comentado, además del estímulo del olfato, algunos compuestos volátiles relacionados con el aroma del tomate pueden contribuir a la percepción del dulzor (Baldwin *et al.*, 1998), de ahí que el aroma y el gusto se encuentren tan íntimamente relacionados. Tanto es así, que los cultivares de larga vida, por el hecho de presentar un bajo contenido en compuestos volátiles (Baldwin *et al.*, 1991), suelen ser los peor valorados por resultar menos sabrosos (Jones, 1986).

Con el objetivo de mejorar el perfil aromático de las variedades cultivadas de tomate, también se han desarrollado numerosos estudios de evaluación de germoplasma silvestre. De hecho, ciertos materiales silvestres (como se ha observado en el caso de alguna accesión de *S. peruvianum*) podrían proporcionar aromas concretos que resultaría interesante introducir para mejorar el aroma del tomate cultivado (Kamal *et al.*, 2001). Sin embargo, los materiales silvestres (en especial las accesiones de *S. pennellii*) generalmente producen frutos cuyos aromas no resultan agradables para el ser humano (Tadmor *et al.*, 2002), complicando extraordinariamente los trabajos de mejora en esta dirección. De esta situación deriva el creciente interés por evaluar y caracterizar las variedades tradicionales ya que, al no presentar compuestos aromáticos desagradables, su potencial promete ser muy interesante.

Pese a la importancia de este atributo, el aroma es un carácter muy complejo y costoso de evaluar. Las técnicas analíticas necesarias para detectar y cuantificar los compuestos involucrados en el aroma son lentas y muy variables, lo cual limita la cantidad de muestras que se pueden abordar en un estudio. Por esta razón, los compuestos relacionados con el aroma no van a ser evaluados en este trabajo.

1.3.2. La calidad nutricional y funcional

Aunque no se caracteriza por presentar un valor nutritivo especialmente elevado (ya que se trata de un fruto esencialmente acuoso), el volumen de tomate consumido a nivel mundial, con un promedio de 20,5 kg por persona y año, y 30,6 kg por persona y año en la mayor parte de los países europeos (FAOSTAT, 2009), hace que se establezca como uno de los productos hortícolas que desempeña una función más significativa en la dieta humana (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995). Además, el creciente reconocimiento de las propiedades antioxidantes de las vitaminas y los carotenos ha estimulado el interés en este campo de la mejora, y más aún sabiendo que existe una elevada variabilidad en

tomate con respecto a sus contenidos (Hanson *et al.*, 2004), sugiriendo un más que posible éxito en la obtención de nuevas variedades con mayor calidad nutritiva y funcional.

1.3.2.1. Vitaminas

Las vitaminas son compuestos fundamentales para promover el correcto funcionamiento fisiológico del organismo, y aunque los requerimientos vitamínicos diarios no son muy elevados, deben proporcionarse de forma adecuada mediante la dieta. El aporte vitamínico que ofrece el tomate se basa fundamentalmente en la vitamina C, la pro-vitamina A o β -caroteno y la vitamina E, y aunque sólo contiene niveles intermedios, contribuye de forma importante a la ingesta diaria de estos compuestos (Senti y Rizek, 1975; United States Department of Agricultura, 2002). De hecho, García-Closas *et al.* (2004) observaron que el tomate ocupaba el segundo lugar como fuente de vitamina C (12,0%) y pro-vitamina A (14,6%), y el tercero como fuente de vitamina E (6,0%) en la dieta de los españoles.

1.3.2.1.1. La Vitamina C

El ácido ascórbico (o vitamina C) presenta unos niveles en el fruto muy variables, fluctuando en función del cultivar, de las condiciones ambientales, de los tratamientos postcosecha y de la madurez del fruto (Abushita *et al.*, 2000; Raffo *et al.*, 2002; George *et al.*, 2004), estableciéndose el máximo de concentración justo antes de que el fruto llegue a rojo maduro, y disminuyendo a partir de entonces (Malewski y Markakis, 1971). Aun así, los niveles promedio detectados en tomates destinados al consumo en fresco generalmente oscilan alrededor de los 200 mg kg⁻¹ (Gould, 1992).

Posee un potente poder antioxidante y su función más conocida es la antiescorbútica (Magiorkinis *et al.*, 2011). Además, la vitamina C puede jugar un papel clave en el retraso de ciertas enfermedades degenerativas, como enfermedades cardiovasculares (Marchioli *et al.*, 2001; Libby y Aikawa, 2002), cataratas (Tessier *et al.*, 1998; Van der Pols, 1999; Valero *et al.*, 2002), o incluso ciertos tipos de cáncer (Byers y Guerrero, 1995; Ramaswamy y Krishnamoorthy, 1996; O'Toole y Lombart, 1996; Webb *et al.*, 1997; You *et al.*, 2000; Jamison *et al.*, 2001). La participación en la síntesis de colágeno (Phillips *et al.*, 1997; Libby y Aikawa, 2002) y en la síntesis y degradación de hormonas esteroideas (Harmeyer, 2002) son otras de sus funciones. Esta vitamina también puede aumentar la biodisponibilidad del hierro (Nasolodin *et al.*, 1996), prevenir las mutaciones espontáneas del ADN inducidas por estrés oxidativo (Lutsenko *et al.*, 2002; Collins, 2004) y modular la expresión génica, particularmente durante la diferenciación celular (Duarte y Lunec, 2005).

En este contexto, se entiende el interés que suscita obtener variedades con un elevado contenido en vitamina C, como es el caso del cultivar *double rich* desarrollado a partir de híbridos interespecíficos generados a partir de cruces entre la especie silvestre *S.peruvianum* y *S.lycopersicum*, cuyos frutos duplican el contenido habitual de vitamina C, oscilando entre los 318 mg kg⁻¹ (Watada *et al.*, 1976) y los 500 mg kg⁻¹ (Stevens y Rick, 1986). Lamentablemente, las variedades tipo *double rich* muestran deficiencias a nivel agronómico, principalmente la baja producción debida al menor tamaño de los

frutos, lo que ha limitado su uso comercial (Stevens y Rick, 1986). Por otra parte, se ha comprobado que los cultivares portadores de los genes *high pigment*, que se comentan más adelante, también ofrecen niveles elevados de vitamina C, aunque de nuevo los efectos deletéreos de estas mutaciones merman de forma considerable la producción (Stommel., 2007).

Hay que tener en cuenta que, en el caso de la vitamina C, los contenidos encontrados en tomate suelen ser muy inestables debido a la fuerte dependencia de las condiciones ambientales (Hamner *et al.*, 1945; Hanson *et al.*, 2004) y la respuesta de la planta frente al estrés (Davey *et al.*, 2000; Ioannidi *et al.*, 2009).

1.3.2.1.2. La Vitamina E

Popularmente conocidos como vitaminas E, los tocoferoles son potentes antioxidantes liposolubles sintetizados solamente por organismos fotosintéticos, por lo que su adquisición ha de realizarse mediante la dieta. Este grupo de compuestos desempeñan funciones fundamentales en planta, entre las que destacan, la inhibición de la peroxidación lipídica y la protección del fotosistema II del daño oxidativo (Falk y Munné-Bosch 2010; Takahashi y Badger 2011; Loyola *et al.*, 2012).

Existen cuatro formas naturales de tocoferol (α , β , γ , δ) que difieren en la posición y el número de grupos metilo en el anillo cromanol (Munné-Bosch y Alegre 2002), y aunque todos ellos son potentes antioxidantes *in vitro*, el α - tocoferol es el que presenta la mayor actividad en humanos y animales (Traber y Sies, 1996). En humanos, se ha observado que estos compuestos pueden tener importancia a la hora de reducir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, mejorar el sistema inmunitario, o incluso modular algunos procesos degenerativos asociados con el envejecimiento (Amir *et al.*, 1999). Sin embargo, su contenido en tomate fluctúa desde los 0,4 a 12 mg kg⁻¹ en peso fresco (Davies y Hobson, 1981), niveles inferiores al observado en otras vitaminas más importantes como la vitamina C. Por ello, la vitamina E no ha tenido mucha repercusión en el desarrollo de nuevas variedades en tomate y no se han llevado a cabo programas de mejora, al menos relevantes, destinados a incrementar su contenido.

1.3.2.2. Carotenoides

A pesar de que el tomate presenta una baja concentración de pigmentos, alrededor de 200 mg kg⁻¹ de peso fresco (Davies and Hobson, 1981), éstos le aportan un gran valor nutricional. Uno de los principales grupos de pigmentos, de coloraciones rojas, naranjas y amarillas, que se pueden encontrar en este fruto son los carotenoides. Los carotenoides son pigmentos orgánicos que se encuentran de forma natural en plantas y otros organismos fotosintéticos, donde desempeñan una función vital en los centros de reacción enzimáticos, participando en la transferencia de energía y protegiendo de la auto-oxidación. Para los organismos no fotosintéticos, los carotenoides se han vinculado, al igual que la vitamina C, principalmente a mecanismos antioxidantes.

El contenido total de carotenoides en tomate suele oscilar entre 70 y 190 mg kg⁻¹ en peso fresco (Gross, 1991), aunque varía en función del cultivar y, más especialmente, de las

condiciones de cultivo y recolecta. Así, los frutos producidos en invernadero (ya sea en verano o invierno) muestran un contenido significativamente menor de carotenoides que los frutos producidos al exterior durante los meses de verano. Incluso si la recolección se lleva a cabo en estadios tempranos y los frutos se maduran en cámaras, sus contenidos son mucho menores que los frutos dejados madurar en planta (Gould, 1992). En otros casos el contenido en carotenos puede verse modificado por la presencia de determinados genes en el fondo genético, como por ejemplo el gen *uniform ripening* (*u*). Muchas variedades modernas de tomate incluyen este gen, que da lugar a frutos verde claro en estadio inmaduro que maduran con mayor uniformidad (Kinzer *et al.*, 1990). Las variedades tradicionales no presentan esta mutación y muestran los típicos hombros verdes en sus frutos, caracterizados por contener una mayor cantidad de cloroplastos. La presencia de estos hombros verdes aumenta la tasa fotosintética, lo cual se traduce finalmente en una mayor tendencia a acumular carbohidratos y carotenoides en los frutos maduros. A pesar de que la mutación *u* contribuyó a desarrollar en su momento variedades de aspecto exterior más uniforme, su presencia perjudica finalmente la calidad sensorial de los frutos (Powell *et al.*, 2012).

El 90-95% de los carotenoides presentes en el tomate maduro son carotenos, de los cuales el licopeno es el más abundante en los tomates de color rojo, llegando a representar más del 90% de los carotenoides totales (Gross, 1991). Otros pigmentos como el β -caroteno, el δ -caroteno, el γ -caroteno y el neurosporeno, se encuentran en menores concentraciones. En un tomate rojo típico también se encuentran pequeñas cantidades de precursores no coloreados como el fitoeno y el fitoflueno.

Licopeno y β -caroteno (o pro-vitamina A) son los carotenoides con mayor valor funcional, y desempeñan un papel fundamental en diversos procesos metabólicos (Rao y Rao, 2007). Tanto es así, que han sido numerosos los trabajos publicados en la década de los 90 que han conseguido detectar una relación inversa entre el contenido de carotenoides ingeridos mediante la dieta y la incidencia de algunos cánceres específicos (Van Poppel y Goldbohm, 1995; Ziegler *et al.*, 1996; Beckman y Ames, 1998), o la disminución en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Tavani y La Vecchia, 1999; Patrick, 2000). No obstante, la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos concluyó que las evidencias que apoyaban la relación entre el consumo de tomate y la menor incidencia de cáncer, no eran lo suficientemente concluyentes (Kavanaugh *et al.*, 2007). Es en realidad un reto difícil de conseguir el establecer la relación entre un componente simple de una dieta compleja y el desarrollo de una enfermedad condicionada por multitud de factores. En este sentido, estudios publicados tras el análisis de la FDA vuelven a relacionar a derivados de carotenoides con la prevención de determinados tipos de cáncer y procesos inflamatorios (Mignone, *et al.*, 2009; Sharoni *et al.*, 2012).

El β -caroteno (o pro-vitamina A), es el aporte más importante de pro-vitamina A para el ser humano. La vitamina A es un nutriente esencial por la importante actividad que desarrolla en la retina (Tee, 1992; Omenn *et al.*, 1994). La avitaminosis producida por el déficit de esta vitamina provoca una de las enfermedades nutricionales más serias en niños de países subdesarrollados, la xeroftalmia (Sommer, 1997; World Health Organization, 2005), aunque los casos más severos pueden desembocar en ceguera o muerte prematura (Mayne, 1996). Algunos estudios científicos han mostrado que su consumo tiene

influencia positiva sobre la salud, aumentando la eficiencia del sistema inmunológico y pudiendo reducir las probabilidades de padecer enfermedades de corazón (ya que funciona como un antioxidante liposoluble) y ciertos cánceres (Ziegler, 1989; Doll, 1990; Block *et al.*, 1992; Omenn *et al.*, 1994). Además, el papel que juegan el β -caroteno y la vitamina A en el crecimiento, la reproducción, la mortalidad y la morbilidad de enfermedades infecciosas, también ha sido revisada con anterioridad (Tee, 1992; Ross, 1998).

El β -caroteno constituye de un 2 a un 15% del contenido total de carotenos, y su contenido oscila de 2,8 mg kg⁻¹ (Khachik *et al.*, 1992) a 7 mg kg⁻¹ (Offord, 1998). Su biosíntesis no es tan sensible a los cambios de temperatura como la del licopeno, cuya acumulación se ve inhibida a temperaturas menores de 12°C y mayores de 35°C (Hamauzu *et al.*, 1998), por lo que su potencial genético y estabilidad es más fiable en las cuantificaciones que para el caso del licopeno (Roselló *et al.*, 2011).

El licopeno por su parte, representa un 30% del total de carotenoides presentes en el plasma sanguíneo (Stahl y Sies, 1996). Es el pigmento predominante en el fruto, comprendiendo hasta un 83% del contenido total en función de las condiciones de cultivo, pudiendo sus precursores incoloros (fitoeno y fitoflueno) llegar al 15-30% (Abushita *et al.*, 1997). En el caso concreto del tomate, el contenido habitual de licopeno varía en un rango de 43,6 a 181,2 mg kg⁻¹ en peso fresco, según distintos autores (Tomes, 1963; Thompson *et al.*, 1965; Meredith y Purcell, 1966; Davies y Hobson, 1981; Hart y Scott, 1995), siendo el pericarpio (cuyos niveles de licopeno en esta zona pueden ser hasta 5 veces más elevados que los detectados en tejidos locales) el tejido que mayor concentración de carotenoides muestra (Gross, 1991).

Como se ha comentado anteriormente, el licopeno también representa un interés creciente por su potencial como compuesto antioxidante (Laquatra *et al.*, 2005). De hecho, han sido numerosos los investigadores que han conseguido detectar una relación directa entre el consumo de frutas y hortalizas ricas en licopeno, y la reducción del riesgo de padecer cánceres y ciertas enfermedades vasculares (Clinton, 1998; Dorgan *et al.*, 1998; Bertram y Vine, 2005; Tang *et al.*, 2005; Story *et al.*, 2010). Además, el licopeno no solo tiene funciones antioxidantes, sino que participa en la comunicación intercelular y en la modulación del sistema inmune y hormonal (Kun *et al.*, 2006; Shao y Hathcock, 2006).

Por otra parte, investigaciones realizadas sobre la variación del color en tomate han demostrado que éstas se encuentran íntimamente relacionadas con la aparición de mutantes con distintos contenidos en carotenoides. Aun así, existen otras mutaciones capaces de modificar el color de los frutos sin intervenir en el acúmulo de carotenoides, como *green flesh (gf)* y *Anthocyanin fruit (Aft)*. En los mutantes *gf*, la degradación habitual de la clorofila durante la maduración del fruto se encuentra inhibida (Smith, 1950; Kerr, 1956), por lo que los frutos adquieren una tonalidad marrón debido a la acumulación sincrónica de dichas clorofilas junto a los carotenoides (Paran y Van der Knaap, 2007). Por otra parte, la mutación dominante *Aft* provoca la formación de frutos morados debido a una acumulación elevada de pigmentos antocianínicos (Jones *et al.*, 2003).

Los carotenoides determinan en gran medida la coloración del fruto, y por ello, los proyectos encaminados a encontrar plantas con distintas intensidades y coloraciones del

fruto provocaron de forma colateral la aparición de mutantes para variación en contenidos y proporciones de ciertos pigmentos (entre ellos, los carotenoides). Muchos de estos mutantes han sido caracterizados y cartografiados en el genoma del tomate. Parte de ellos representan mutaciones que afectan a enzimas clave de la ruta de síntesis de los carotenoides mientras que otros afectan a aspectos de la regulación de dicha ruta (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013).

1.3.2.2.1. Mutaciones que alteran el color y modifican la fracción de carotenoides

a) El alelo *Beta* (*B*), que se caracterizó por primera vez en la progenie de un cruce entre *S.lycopersicum* x *S.habrochaites* (Lincoln *et al.*, 1943; Kohler *et al.*, 1947), incrementa el nivel de β -caroteno a expensas del de licopeno. Los análisis moleculares revelan que *B* codifica para una licopeno- β -ciclase que se encarga de convertir el licopeno en β -caroteno (Ronen *et al.*, 2000). La presencia de *B* provoca en los mutantes una coloración anaranjada de los frutos. Este alelo se utilizó para desarrollar variedades de tomate destinadas al consumo en fresco como la Caro-Red (Tomes y Quackenbush, 1958) y Caro-Rich (Tigchelaar y Tomes, 1974), cuyo contenido de β -caroteno era 10 veces superior al de las variedades de tomate rojo.

b) Las mutaciones *og* (*old gold*) y *og^c* (*old gold crimson*), son dos alelos del *Beta* que provocan la acumulación de licopeno a expensas del β -caroteno. Su presencia puede suponer incrementos de hasta el 30% en el contenido de licopeno y una disminución del 40% en la acumulación de β -caroteno (Vogel *et al.*, 2010).

c) El *Beta modifier* (*mo_B*) es otro gen relacionado con el *Beta*, ya que modifica su expresión. En los mutantes con genotipo *BB mo_B mo_B*, el 90% del contenido en carotenoides aparece en forma de β -caroteno y la coloración del fruto es naranja. Mientras que en los mutantes *BB mo_B⁺ mo_B⁺*, el 50% de los carotenoides se presentan como β -caroteno y la acumulación de licopeno ocurre hasta algo menos del 50%, apareciendo frutos rojo-anaranjados (Zhang y Stommel, 2000).

d) El alelo *delta* (*Del*) se detectó en accesiones silvestres de *S.pennellii* y provoca un aumento en la acumulación de δ -caroteno a expensas del licopeno (Ronen *et al.*, 1999). En este caso, al igual que con el alelo *Beta*, los frutos adquieren una coloración anaranjada.

f) Los tomates portadores de la mutación *tangerine* (*t*), contienen bajos contenidos de β -caroteno y licopeno, y elevados valores de ζ -carotenos y polienos (Zechmeister *et al.*, 1941). Sus frutos presentan un sorprendente color naranja y han tenido bastante aceptación en el mercado, siendo el cultivar “Golden Jubilee” uno de los más comercializados (Peirce *et al.*, 1992; Gardner, 1993; Isaacson *et al.*, 2002).

1.3.2.2.2. Mutaciones que alteran el contenido global de carotenoides

a) La presencia de los genes *hp1* y *hp2* (*high pigment*), monogénicos recesivos y no alélicos, supone un aumento total del contenido en carotenoides del fruto sin que esto provoque alteraciones significativas en el porcentaje de los demás constituyentes (Cookson *et al.*, 2003). Estos mutantes son fotosensibles y se detectan porque las

plántulas muestran hipocotilos cortos y una acumulación elevada de antocianos, así como una pigmentación mayor en frutos y hojas (Mochizuki y Kamimura, 1984). En este grupo de genes se incluye también el *hp3*, que provoca una mayor biosíntesis y acumulación de carotenoides debido a que incrementa la división de los plástidos (Galpaz *et al.*, 2008).

b) *Intense pigment (Ip)* es un gen dominante que se originó en una población segregante de *S. chmielewskii*, y fue retrocruzado para introducirse en *S. lycopersicum* (Rick, 1974). Provoca unos resultados similares a los que se observan para los genes *hp*, generando un aumento en el contenido total de carotenoides en el fruto, pero esta mutación no afecta al mismo tipo de fitocromo (Mochizuki y Kamimura, 1985). En algunos estudios, se ha detectado un aumento de hasta el 60% en el contenido de carotenoides en accesiones portadoras del gen *Ip* (Lavi *et al.*, 2009).

c) Otro mutante que muestra fotosensibilidad es el *dark green (dg)*, aparecido en una población comercial del cultivar “Munatant” (Konsler, 1973), que estudios recientes lo muestran como alelo del gen *hp2* (Levin *et al.*, 2003). La incorporación de estos dos alelos aumenta el contenido total de carotenoides entre un 30-50%. El contenido de β -caroteno detectado en mutantes *dg* es aproximadamente un 50% mayor que el encontrado en los genotipos *hp* y un 250% mayor que el contenido encontrado en una variedad de tomate no mutante. Además, la presencia de ambos genes (*dg* y *hp*) aumenta la firmeza y los niveles de ácido ascórbico del fruto (Jarret *et al.*, 1984).

d) La coloración amarilla del tomate viene determinada por la presencia del locus *yellow flesh (R)*. Los genotipos recesivos (*r*) portan una mutación en el gen de la fitoeno sintasa 1 (PSY1) que provoca la formación de una proteína trunca incapaz de transformar el geranilgeranil difosfato en fitoeno (Fray y Grierson, 1993).

e) Las células epidérmicas del fruto contienen principalmente flavonoides amarillentos (Laguna *et al.*, 1999). Los frutos de tomate rosados se originan en ausencia de estos pigmentos en el tejido, provocada por la presencia del locus *yellow*, y (Ballester *et al.*, 2010). Cuando la mutación y se combina con la *r*, se originan tomates de color amarillo pálido o blanquecinos con carne amarilla (Rick y Butler, 1956).

f) El gen *Cnr (colorless non ripening)* apareció de manera espontánea en una variedad comercial (Thompson *et al.*, 1999). Su presencia provoca una baja tasa biosintética de carotenoides y, los frutos en estado maduro, presentan un pericarpio blanquecino y una consistencia anormal (Thompson *et al.*, 1999).

1.3.2.2.3. Mutaciones más utilizadas a nivel comercial

De entre los genes descritos anteriormente, han sido *hp1* y *hp2*, *Ip*, *og^c*, *B* y *mo_B* los que han dado lugar a resultados más esperanzadores en los programas de mejora encaminados a incrementar el contenido global en carotenoides o a modificar la fracción de los mismos.

Por encima de todos ellos destacan los genes *hp*, capaces de duplicar o triplicar el contenido total de carotenoides (Rick, 1976; Palmieri *et al.*, 1978) sin que esto afecte significativamente a su fracción habitual. Además, el efecto sinérgico producido por la acción de los genes *hp* y *og^c*, produce frutos con contenidos de licopeno 3 o 4 veces más altos que los detectados en variedades estándar (Stommel, 2007). Sin embargo, se ha

observado que la presencia conjunta de estos genes en el fondo genético provoca efectos pleiotrópicos indeseables como problemas en la germinación y desarrollo de las plántulas, tallos quebradizos, defoliación prematura y baja producción, que lógicamente han limitado su éxito comercial. En relación a esto, los mutantes *Ip*, cuyos efectos sobre la acumulación de carotenoides es similar a la producida por los genes *hp*, muestran efectos deletéreos menores en la germinación y el vigor de las plantas, por lo que sigue siendo compleja su inclusión en el circuito comercial. Estos efectos indeseables podrían reducirse, o incluso llegar a eliminarse, mediante la utilización de promotores específicos de tejido que activaran dichos genes únicamente en el fruto, pero se prevé que la introducción en el mercado y posterior aceptación de las variedades transgénicas resultantes sería tremendamente complicada.

Cabe destacar que a partir de mutantes *og^c* ya se han conseguido desarrollar multitud de cultivares comerciales que presentan incrementos de hasta el 30% en el contenido de licopeno (Vogel *et al.*, 2010), los cuales sí que han disfrutado de una gran aceptación en el mercado (pese a su bajo contenido en β -caroteno) especialmente por la intensa pigmentación roja que adquieren sus frutos.

La introgresión conjunta de los genes *B* y *mo_B* también ha originado buenos resultados. De hecho han dado lugar a dos de los cultivares comerciales de tomate para consumo en fresco más importantes, Caro-Red y Caro-Rich, caracterizados por presentar frutos de coloración naranja con contenidos en β -caroteno superiores a 50 mg kg⁻¹ (Tomes y Quackenbush, 1958; Tigchelaar y Tomes, 1974). Sin embargo, el hecho de presentar frutos anaranjados ha supuesto un lastre para su comercialización, ya que los consumidores prefieren variedades de tomate rojo.

Aunque se conocen muchas de las mutaciones relacionadas con la acumulación y alteración de la fracción de carotenoides en los frutos, realmente se dispone de poca información relacionada con el contenido de estos compuestos en las variedades tradicionales. Su cuantificación podría permitir la detección de materiales muy interesantes, tanto para ser aprovechados directamente *per se* identificando su valor añadido, como para emplearlos en el desarrollo de nuevos cultivares mejorados. Además, el establecimiento objetivo de los perfiles funcionales de ciertos materiales tradicionales, podría catapultar la consolidación de éstos en el mercado destinado a productos de calidad.

1.3.2.3. Compuestos fenólicos

Los fenoles son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares existe al menos un grupo fenol y un anillo aromático unido a, como mínimo, un grupo funcional hidroxilo. Muchos se clasifican como metabolitos secundarios y desempeñan funciones biológicas en las plantas muy diversas (defensa ante herbívoros y patógenos, soporte mecánico, atracción de polinizadores o de dispersores del fruto, protección frente a radiaciones UV, agentes alelopáticos,...).

En tomate se han identificado más de 4000 compuestos fenólicos (King y Young, 1999), de los cuales los flavonoides, los ácidos fenólicos, los tocoferoles y los polifenoles son los principales en la dieta. Existen estudios que han demostrado que los compuestos

fenólicos también presentan cualidades antioxidantes, incluso superiores a las desarrolladas por las vitaminas A y C (Vinson *et al.*, 1998). Por ello, el consumo de alimentos ricos en fenoles también se cree que contribuye a reducir patologías graves como carcinogénesis y esclerosis (Ames, *et al.*, 1993; Sawa *et al.*, 1999). En este grupo de sustancias destacan los flavonoides y los ácidos fenólicos.

1.3.2.3.1. Flavonoides

Los flavonoides son el mayor grupo de fenoles presentes en las plantas. Su presencia y composición se ha estudiado considerablemente, ya que aportan pigmentación a multitud de productos hortícolas. Comprenden un extenso grupo de metabolitos secundarios que incluyen antocianidinas, flavonoles, flavanoles, flavonas, isoflavonas, catequinas y flavononas (Harborne, 1994; Harborne y Williams, 2000).

Aproximadamente un 98% de los flavonoides detectados en el fruto del tomate se encuentran en la piel (Stewart *et al.*, 2000) y su contenido varía entre 1.3 y 203 μ g/g en peso fresco. Se ha observado que la concentración de flavonoides en variedades con frutos de mayor tamaño suele ser menor que la obtenida en variedades con frutos de menor calibre, siendo la obtenida en tomates cherry la mayor detectada (Crozier *et al.*, 1997; Stewart *et al.*, 2000). Entre los compuestos que suelen destacar en tomate se encuentran la naringenin chalcona, responsable de la coloración amarilla de la piel de tomate, cuya acumulación se encuentra regulada por el gen *Yellow* (Moco *et al.*, 2006). Otros flavonoides destacados en tomate se engloban entre las formas conjugadas de quercetina y Kaempferol (Moco *et al.*, 2006).

Como constituyentes alimenticios, se estima que son saludables tanto por su capacidad antioxidante, como por su actividad secuestradora de radicales libres (Shahidi y Wanasundara, 1992; Pietta, 2000). Esta actividad antioxidante se ha relacionado con la reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, cáncer y demencia (Commenges *et al.*, 2000; Hooper y Cassidy, 2006; Lotito y Frei, 2006; Tapas *et al.*, 2008). De entre todos los efectos beneficiosos destacaría la reducción del riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares, ya que el resto de efectos beneficiosos, salvo el referente a la prevención de cáncer de pulmón, no acaba de definirse de forma clara (Arts y Hollman, 2005). El efecto hipocolesterolémico de flavanonas podría estar detrás de la prevención de enfermedades cardiovasculares (Chong *et al.*, 2010). Además, algunos estudios realizados *in vitro* muestran que los flavonoides actúan como inductores de algunos sistemas enzimáticos protectores (Nijveldt *et al.*, 2001), reduciendo la viscosidad de la sangre y disminuyendo consecuentemente la probabilidad de padecer trombos (Rice-Evans *et al.*, 1997). Su presencia también reduce las inflamaciones provocadas como respuesta a reacciones alérgicas (Cook y Samman, 1996; Jachak, 2001), antivirales, antituberculosas y antimaláricas (Harborne y Williams, 2000).

Respecto a los avances de la mejora genética en el desarrollo de variedades con alto contenido en flavonoides, el mayor éxito se ha basado en el uso de *Solanum pennellii* para recuperar la ruta metabólica de flavonoides en la carne de tomate a través de la selección de germoplasma que exprese la chalcona isomerasa en este tejido, lo que ha dado lugar a plantas con mayores contenidos de quercetina diglucósido (Willits *et al.*, 2005).

1.3.2.3.2. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos que destacan por su importancia son los ácidos hidroxibenzoicos, que incluyen a los metabolitos secundarios conocidos como fenilpropanoides, e hidroxicinámicos, que en los tejidos del fruto suelen esterificarse para formar ácido quínico, ácido tartárico y glucosa.

En algunas especies de solanáceas, como el tomate y la berenjena, predominan los ésteres del ácido cafeico, destacando entre ellos el ácido clorogénico o ácido 5-O-cafeoilquínico (Molgaard y Ravn, 1988). Este compuesto, junto a otros ésteres del ácido cafeico, se encuentra entre los compuestos más potentes relacionados con el secuestro de radicales libres (Sawa *et al.*, 1999; Nakatani *et al.*, 2000). En el caso del tomate, los ácidos fenólicos más importantes en función de su concentración encontrados en condiciones de cultivo españolas han sido el ácido clorogénico y el cafeico, seguidos a distancia por el ácido p-cumárico y el ferúlico (Martínez-Valverde *et al.*, 2002). En este estudio se observó que la mayor correlación con la capacidad antioxidante entre los ácidos fenólicos se encontraba respecto a los ácidos ferúlico y cafeico.

1.4. LAS VARIEDADES TRADICIONALES EN EL CONTEXTO DE LA AGRICULTURA ACTUAL

En un mercado altamente competitivo y de elevado valor económico como el del tomate, las variedades tradicionales han podido conservarse *in situ* gracias a su posicionamiento en mercados de calidad. Esta situación deriva principalmente de la pérdida de calidad observada en el mercado generalista, en parte debida a las características de las variedades mejoradas actuales, pero también a otros aspectos productivos. Es importante revisar este contexto para establecer cuál es la posición de las variedades tradicionales con respecto a los materiales mejorados y la calidad organoléptica.

Por otra parte, dado que la subsistencia en mercados de calidad de estos materiales se basa en la asociación de calidad organoléptica y el aspecto externo de las variedades tradicionales, resultará necesario saber si realmente todas las poblaciones de una variedad tradicional serán capaces de satisfacer las expectativas de los consumidores. Y además, también será necesario combatir de alguna manera el fraude que cometen algunos productores, que tratan de aprovechar el diferencial de precio de los mercados de calidad “falsificando” variedades tradicionales.

A continuación se revisan estos aspectos con el objetivo de comprender cuál es el papel que juegan las variedades tradicionales en el contexto agronómico y cultural actual.

1.4.1. La pérdida de calidad de las variedades comerciales

El empobrecimiento de la calidad organoléptica en el mercado generalista es un fenómeno complejo que se encuentra relacionado con factores genotípicos y ambientales, además de verse influenciado por las prácticas agrícolas. En tomate, los principales factores

involucrados en la pérdida de calidad sensorial de los materiales modernos son los siguientes: el aumento de la producción en las nuevas variedades, el cultivo fuera de estación, el cultivo intensivo, la recolección prematura de frutos, el desarrollo de características de “larga vida” y la introgresión de fondo genético silvestre.

1.4.1.1. El aumento de la producción en las nuevas variedades

La mayor parte de los programas de mejora desarrollados durante el siglo XX se establecieron con el objetivo de aumentar la producción. Sin embargo, en muy pocos casos se atendía paralelamente a la calidad interna de las nuevas variedades obtenidas, muy probablemente debido a la complejidad y dificultad que supone evaluar estos caracteres. Como consecuencia, durante los procesos de selección se iban perdiendo características favorables de las variedades de partida, que se evidenciaba en una peor calidad interna (a nivel general) en los materiales resultantes.

Adicionalmente, se ha demostrado que el propio aumento de producción acarrea cierta pérdida de calidad interna en los frutos, por el mero hecho de incrementar el número de frutos que actúan como sumideros (Bertin *et al.*, 2000; Beckles, 2012). Esto es debido al denominado “efecto dilución” (Davis, 2009). Así, se ha observado que un mayor rendimiento se encuentra negativamente relacionado con el contenido en sólidos solubles (Balibrea *et al.*, 2006) y finalmente con el peso en fresco y seco del fruto (Gautier *et al.*, 2001; Bertin, 2005; Baldet *et al.*, 2006), afectando a la calidad organoléptica final de los frutos (Tandon *et al.*, 2003; Lecomte *et al.*, 2004). Frente a este problema, el aclareo de flores se ha propuesto como un sistema para incrementar la concentración final de fotoasimilados en los frutos (Gautier *et al.*, 2001). No obstante, en este contexto sigue siendo más lógico el uso de variedades con menor potencial productivo pero con mejores características organolépticas, como las variedades tradicionales.

1.4.1.2. El cultivo fuera de estación

Al igual que ocurre en numerosos cultivos hortícolas, el cultivo del tomate fuera de temporada provoca que se generen disfunciones en la planta que merman la calidad de sus frutos (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995), ya que las condiciones ambientales no son las idóneas para su desarrollo. Aunque se ha tratado de adaptar algunas variedades a diversas condiciones de cultivo, las bajas temperaturas, la iluminación insuficiente y el cambio en el fotoperiodo provocan que las plantas presenten una menor tasa fotosintética. En última instancia, esto se traduce en una menor cantidad de sólidos solubles acumulados en el fruto y, por tanto, una peor calidad organoléptica. Las variedades tradicionales se siguen cultivando preferentemente al aire libre (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007), por lo que no suelen presentar este tipo de problemas asociados al cultivo forzado.

1.4.1.3. El cultivo intensivo

El cultivo intensivo, con uso abundante de insumos como abonos y agua, juega un papel determinante en la calidad final de los frutos para la mayor parte de los cultivos hortícolas. La aceleración del crecimiento normal de las plantas provoca un crecimiento precipitado

de los frutos, los cuales pasan a disponer de un menor tiempo para acumular sólidos solubles. Además, numerosos estudios realizados sobre diferentes especies cultivadas han mostrado que el exceso de riego puede conllevar una reducción en la hidrólisis de carbohidratos y en la translocación de compuestos orgánicos de las hojas hacia el fruto, resultando en una acumulación de almidón y azúcares solubles en las hojas (Kameli y Lösel, 1996; Foyler *et al.*, 1998; Thomas y James, 1999). Finalmente, esto provoca una menor acumulación de sólidos solubles en el fruto (Tüzel *et al.*, 1993). Por otra parte, el exceso de abonos nitrogenados provoca que el calibre final de los frutos se alcance simplemente por acúmulo de agua, quedando los sólidos solubles mucho más diluidos (Locascio *et al.*, 1984). Las variedades tradicionales, seleccionadas en sistemas de cultivo tradicionales, están adaptadas a un bajo uso de insumos (especialmente de abonado), por lo que en general se evita este problema.

1.4.1.4. Recolección prematura de los frutos

Una de las principales actuaciones que deriva en una pérdida acusada de sabor del fruto, es la cosecha excesivamente temprana de los mismos. Se ha demostrado que la calidad del fruto aumenta con el tiempo que éste se encuentre asociado a la mata (Kader *et al.*, 1977), ya que durante las últimas etapas de la maduración es cuando ocurre el mayor acúmulo de sólidos solubles en el fruto. Debido a que en muchos campos de cultivo se recolectan los frutos verdes para tratar de aumentar al máximo la viabilidad postcosecha, éstos no consiguen acumular todos los compuestos que deberían. Por este motivo, los frutos llegan al consumidor mucho más insípidos que si se hubieran mantenido el tiempo necesario en planta. Contrariamente, si los frutos se cosecharan en estado óptimo de madurez, no tendrían suficiente vida comercial como para permitir su manipulación, embalaje y transporte hasta los grandes almacenes (generalmente distantes de las áreas de producción). Con lo cual, debe llegarse a un compromiso entre ambas situaciones. Las variedades tradicionales también sufren este problema, ya que al contar con una vida postcosecha relativamente corta suelen cosecharse en estado verde maduro o en rotura de color.

1.4.1.5. El desarrollo de características de “larga vida”

De la problemática de encontrar un punto de recolección óptimo para obtener una buena calidad interna en los frutos sin que afecte a su comportamiento postcosecha, surgió la necesidad de crear nuevas variedades de tomate que presentaran una mejor adaptación a la cadena comercial. Muchas casas de semillas establecieron como su principal objetivo la generación de variedades con una viabilidad postcosecha adecuada. Fue de este modo como se obtuvieron las denominadas “variedades larga vida”, que incluirían a los cultivares comerciales que presentan genes que afectan a la maduración del fruto, ralentizando, minimizando, o evitándola. Los genes más importantes responsables de este carácter se encuentran relacionados con la síntesis y recepción del etileno. Por ejemplo: *rin* “ripening inhibitor”, *nor* “non ripening” y *alc* “alcobaça”. La expresión “larga vida” también puede aludir a distintos cultivares comerciales caracterizados por una mayor dureza en sus frutos (mucho más resistentes al mercado), aunque no transporten ninguno de los genes anteriores (Esquinas-Alcázar y Nuez, 1995).

El sabor de los frutos que muestran características de larga vida suelen resultar mucho menos agradables para los consumidores, que recalcan su insipidez (Hobson, 1980; Jones, 1986; Causse *et al.*, 2003). Esto se debe principalmente al comportamiento anormal respecto a la degradación de la clorofila, la síntesis de carotenos y demás procesos asociados durante el proceso de maduración de los frutos (Sink Jr. *et al.*, 1974). Los frutos de larga vida presentan una menor concentración en azúcares (Hobson, 1980; Causse *et al.*, 2003), β -caroteno (Hobson, 1980; Kuzyomenskii, 2007), licopeno (Causse *et al.*, 2003) y numerosos compuestos volátiles importantes en el perfil aromático del tomate (Kopeliovitch *et al.*, 1982; McGlasson *et al.*, 1987; Causse *et al.*, 2003; Kovacs *et al.*, 2009), por lo que finalmente se caracterizan por mostrar un aroma y un sabor más pobres (Garg *et al.*, 2008).

1.4.1.6. La introgresión de fondo genético silvestre

A partir de los años 30 empezaron a utilizarse distintas especies silvestres en los programas de mejora (Rick, 1986), especialmente con el objetivo de introgresar determinados genes de resistencia en variedades cultivadas. Su importancia es tal, que el tomate es la especie cultivada que ha sufrido más introgresiones de genes de resistencia procedentes de otras especies emparentadas (Hajjar y Hodgkin, 2007). De entre ellos cabe destacar los siguientes, presentes en la mayor parte de los cultivares comerciales actuales: Tm-1 y Tm-2 (resistencia a TMV), Sw-5 (resistencia a TSWV), Frl (resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*) y Mi y Mi-3 (resistencia a diferentes especies de *Meloidogyne*), procedentes de *S. peruvianum*; I e I-2 (resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 0 y 1), Ve (resistencia a *Verticillium dahliae*), Cf-2, Cf-5, Cf-6 y Cf-9 (resistencia a diferentes razas de *Cladosporium fulvum*), Sm (resistencia a *Stemphyllium* sp.) y Pto (resistencia a *Pseudomonas syringiae* pv. *tomato*), procedentes de *S. pimpinellifolium*; I-3 (resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 2) procedente de *S. pennellii*; Ty-1 y Ty-3 (resistencia a TYLCV) procedente de *S. chilense*; y Ty-2 (resistencia a TYLCV) procedente de *S. habrochaites* (Robertson y Labate, 2007).

En muchas ocasiones, las deficiencias de calidad observadas tras un programa de mejora basado en la introgresión de material silvestre, se deben a restricciones de tipo financiero y temporal. La necesidad de lanzar al mercado las nuevas variedades obtenidas, limita el número de ciclos de retrocruzamiento realizados, impidiendo consecuentemente la recuperación del genotipo parental. Esto significa que parte del material silvestre introgresado no se elimina convenientemente del fondo genético y puede terminar interfiriendo en la calidad sensorial de las variedades resultantes.

Otras veces son los propios genes introgresados los que condicionan la calidad final de los frutos, como en el caso del gen *Uniform ripening* (*u*). Este gen determina la intensidad y el patrón de distribución de la clorofila en frutos inmaduros (Kemp y Nonnecke, 1960; Tanksley y Hewitt, 1988; Kinzer *et al.*, 1990). El alelo dominante *U* provoca la aparición de hombros verdes, mientras que *u/u* origina frutos de color verde uniforme (Powell *et al.*, 2012). Desde hace 70 años, los mejoradores han tratado de seleccionar variedades de tomate con frutos inmaduros de coloración verde intenso uniforme, característica que favorece la maduración incluso en la zona del pedicelo (Butler, 1952). Sin embargo, pese

a que *u* favorece los procesos de recolecta y posterior maduración de los frutos, provoca un evidente efecto negativo en la calidad final de los mismos (Tanksley y Hewitt, 1988; Kinzer *et al.*, 1990), debido a que los frutos maduros presentan un desarrollo subóptimo de cloroplastos que consecuentemente afecta a los niveles de azúcares (y también licopeno), comprometiendo su calidad sensorial (Powell *et al.*, 2012).

1.4.2. La problemática asociada a los mercados de calidad

1.4.2.1. La calidad generalizada en las variedades tradicionales

Simplemente por el hecho de tratarse de variedades tradicionales, a estos materiales se les presupone una calidad organoléptica y funcional intrínseca. Sin embargo, esto no tiene por qué ser siempre así. En primer lugar, estas variedades han sido cultivadas y seleccionadas de manera totalmente subjetiva por parte de los agricultores, obteniéndose poblaciones con estructuras y características diversas. Además, pueden haber ocurrido mezclas de semillas y/o hibridaciones espontáneas con otros tipos de materiales, incluso comerciales, y el agricultor no ser consciente de ello. O pudiera ser que hubieran sido cultivadas en ambientes inadecuados que impidieran que llegaran a mostrar su verdadero valor genético.

Esta realidad demuestra que puede existir una enorme diversidad en cuanto a las características de calidad interna de los materiales tradicionales. Con lo cual, parece evidente que resultaría interesante detectar qué poblaciones destacan realmente por su calidad interna y cuáles muestran una homogeneidad y estabilidad en la misma. Así, podría otorgárseles un valor añadido tangible con respecto a los materiales comerciales. En el caso del tomate, la mayor parte de estudios de caracterización realizados en variedades tradicionales se han centrado en características morfoagronómicas o de diversidad genética (Mazzucato *et al.*, 2010; Terzopoulos y Bebeli, 2010), mientras que pocos estudios se han centrado en la evaluación de la diversidad existente dentro de variedad y dentro de población respecto a la calidad organoléptica. Estos estudios son fundamentales, puesto que permitirían conocer la estructura de las variedades tradicionales en esta dimensión, una información que ayudaría a consolidar el valor de estos materiales en mercados de calidad.

Por otra parte, la mayor parte de las evaluaciones de la calidad nutritiva y funcional en tomate cultivado se han desarrollado sobre materiales comerciales mejorados (Grandillo *et al.*, 1999b; Duman *et al.*, 2005) o especies silvestres relacionadas (Stevens y Rick, 1986; Labate *et al.*, 2007; Grandillo *et al.*, 2008). No obstante, poco se conoce sobre el comportamiento de las variedades tradicionales respecto a la acumulación de compuestos tan importantes desde este punto de vista como la vitamina C o los carotenoides licopeno y beta caroteno. La evaluación de estas características y la identificación de entradas con contenidos elevados en estos compuestos, permitiría dotar a las variedades tradicionales de tomate de un valor añadido que consolidara de nuevo su posición en mercados de calidad, ya que estas características empiezan a ser valoradas seriamente en la comercialización del tomate.

1.4.2.2. La identificación varietal y los marcadores moleculares

Como ya se ha comentado, los consumidores identifican las variedades tradicionales a partir de sus rasgos morfológicos, asociando dichos morfotipos a una elevada calidad interna y aceptando pagar un mayor precio por ellas (Casals *et al.*, 2012). Sin embargo, la aparición de nuevos cultivares comerciales con características externas similares, está alterando significativamente la relación existente entre “morfotipos tradicionales” y “elevada calidad” interna. Un claro ejemplo de ello se observa para el tomate tipo RAF, variedad que deriva de los primeros materiales con resistencia a *Fusarium* (*F. oxysporum lycopersici*) lanzados al mercado. El tomate RAF se trata de una variedad obsoleta y no de una verdadera variedad tradicional, aún así, el cultivo continuado y las selecciones que ha sufrido por parte de los agricultores, la han convertido en una variedad con características muy similares a las de una tradicional. Su morfología es muy especial y característica, ya que se trata de un tomate de forma irregular, ovalado y achatado por sus extremos, con un profundo asurcado que termina en el centro del fruto. Su reconocido aspecto externo se asocia con una magnífica calidad organoléptica, por lo que esta variedad ha alcanzado muchísima popularidad. Sin embargo, también ha sido el motivo principal de la aparición de numerosas imitaciones comerciales. Así pues, las casas comerciales han tratado de introducir nuevas variedades en el mercado con morfologías similares a los tomates de tipo RAF aprovechando el prestigio que éstos han adquirido entre los consumidores. Teniendo en cuenta que los nuevos cultivares suelen presentar una peor calidad interna, la presencia de frutos de menor calidad que puedan confundirse con los tomates de tipo RAF podría provocar su desvalorización.

No obstante, la situación del tomate de tipo RAF no es aislada, ya que se trata de un evento bastante recurrente. En los últimos años, debido a los reducidos márgenes de beneficio asociados con los productos agrícolas, hay productores que introducen materiales comerciales (morfológicamente similares a diversas variedades tradicionales, pero sensiblemente más productivos) a modo de variedades tradicionales, con el objetivo de aprovechar los precios que éstas últimas alcanzan en los mercados de calidad. Esta situación conlleva un serio problema, ya que los mercados de calidad se sustentan de la relación existente entre los productos tradicionales y su mayor calidad interna. Si los cultivares comerciales vendidos fraudulentamente como tradicionales no presentan la calidad organoléptica esperada, los consumidores quedan insatisfechos y valoran negativamente los productos, perjudicando el nombre de las variedades tradicionales y dificultando la consolidación de los mercados de calidad.

En este contexto, la necesidad de encontrar herramientas que permitan la identificación fiable de las variedades tradicionales frente a otro tipo de materiales para así proteger su reputación y su nicho de mercado, parece evidente. La utilización de marcadores moleculares podría establecerse como la solución a los problemas de fraudes en los mercados de calidad observados en la actualidad. Es cierto que la definición de variedad propuesta en las actas de la UPV y recogida en las leyes de comercialización y protección de las obtenciones varietales (Ley 30/2006 y Ley 3/2000, respectivamente) no incluye el uso del genotipado molecular como sistema de identificación varietal. Sin embargo, el uso de este tipo de herramientas permitiría identificar inicialmente los casos de fraude para, a partir de ahí, sustentar las reclamaciones en otros aspectos fenotípicos. Esto es necesario dada la facilidad con la que se puede simular el aspecto externo de una variedad

tradicional. Por ejemplo, en el caso de la variedad tradicional “Valenciano” el uso de auxinas puede provocar el apuntamiento de una variedad comercial simulando el aspecto externo de la variedad tradicional.

Han sido muchos y diferentes los tipos de marcadores moleculares que se han desarrollado y utilizado en tomate para realizar análisis de diversidad y de identificación varietal. Entre ellos destacan los RFLPs (restriction fragment length polymorphisms) (Miller y Tanksley, 1990), los RAPDs (random amplified polymorphic DNAs) (Williams y St. Clair, 1993; Villand *et al.*, 1998; Archak *et al.*, 2002; Carelli *et al.*, 2006) y los AFLPs (amplified fragment length polymorphisms) (Park *et al.*, 2004), que conformaron la primera generación de marcadores moleculares. Posteriormente, y debido a ciertas limitaciones como la complejidad de sus técnicas, los bajos niveles de polimorfismo detectados (Miller y Tanksley, 1990; Williams y St. Clair, 1993; Frary *et al.*, 2005), en algunos casos su naturaleza dominante y su falta de representación en todos los lugares del genoma, fueron sustituyéndose por marcadores como los SSRs (simple sequence repeats), ISSRs (inter-simple sequence repeats) y SNPs (single nucleotide polymorphisms), que son los más utilizados hoy en día para este tipo de evaluaciones.

Aunque los marcadores de tipo SSRs e ISSRs son utilizados con bastante frecuencia en ensayos de variabilidad genética e identificación varietal en tomate (García-Martínez *et al.*, 2006; Terzopoulos y Bebeli, 2008; Yi *et al.*, 2008; Mazzucato *et al.*, 2008, 2010), el hecho de trabajar con variedades tradicionales y, concretamente, con variedades tradicionales ligadas a un área geográfica específica, reduce de manera considerable la variabilidad genética esperada entre las accesiones a evaluar. Por ello, la utilización de marcadores de tipo SNPs, muy polimórficos y ampliamente distribuidos por todo el genoma, parece ser la opción más adecuada para evaluar materiales genéticamente tan relacionados.

En última instancia, el establecimiento de perfiles moleculares, o la detección de marcadores específicos de tipo varietal, permitirían la realización de evaluaciones fiables sobre los materiales comercializados, detectando la utilización fraudulenta de variedades comerciales en los mercados de calidad.

1.4.3. Mejora genética

Por otra parte, las variedades tradicionales constituyen un germoplasma con un potencial que dista de haber sido completamente aprovechado hasta el momento. De hecho, se cree que pueden llegar a convertirse en un recurso imprescindible para establecer nuevos programas de mejora encaminados a cubrir las necesidades de la agricultura actual, especialmente la recuperación de la calidad interna en los cultivares actuales de tomate. Además, las variedades tradicionales conforman la fuente de variación más importante disponible dentro de la propia especie cultivada. De ahí el interés creciente que existe en la actualidad por caracterizar estos materiales y establecer sus perfiles de calidad.

Aunque ya se han empleado especies silvestres en programas destinados a mejorar la calidad organoléptica del tomate, cabe destacar que se ha prestado poca atención al posible uso de las variedades tradicionales en este contexto. Sin embargo, la utilización de las variedades tradicionales resulta mucho más sencilla, especialmente por su mayor

proximidad genética con los cultivares modernos. Los híbridos se obtienen con gran facilidad y la viabilidad de los mismos es mucho mayor que en el caso de los cruces con materiales silvestres. Además, con la utilización de poblaciones tradicionales se evita el arrastre de fondo genético indeseable (cuyas consecuencias en los híbridos obtenidos son impredecibles), lo cual es totalmente irremediable cuando se trabaja con accesiones silvestres.

Más allá de su posible utilización como fuentes de variación, los perfiles de calidad de las variedades tradicionales también pueden ser empleados como referenciales en programas de mejora, lo cual permite definir de manera más objetiva cuáles son los objetivos a alcanzar.

Referencias

- Abushita, A.A., Hebshi, E.A., Daood, H.G., Biacs, P.A.** 1997. Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chemistry*. 60: 207-212.
- Abushita, A.A., Daood, H.G., Biacs, P.A.** 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2075-2081.
- Abbott, J.A.** 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 15: 207-225.
- Alabouette, L., Titard, A.** 1933. Sur la possibilité d'utiliser dans la culture de la tomate des hybrides de première génération. *Sél. Fr.* 2: 11-14.
- Alpert, K.B., Grandillo, S., Tanksley, S.D.** 1995. *fw2.2*: a major QTL controlling fruit weight is common to both red- and green-fruited tomato species. *Theoretical and Applied Genetics*. 91: 994-1000.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen, T.M.** 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Science USA*. 90: 7915-7922.
- Amir, H., Karas, M., Giat, J., Danilenko, M., Levy, R., Yermiahu, T., Levy, J., Sharoni, Y.** 1999. Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. *Nutrition and Cancer*. 33: 105-112.
- Archak, S., Karihaloo, J.L., Jain, A.** 2002. RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars. *Current Science*. 82 (9): 1139-1143.
- Arts, I. C., Hollman, P. C.** 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 81: 317S-325S.
- Ashby, E.** 1937. Studies in the inheritance of physiological characters III. Hybrid vigour in the tomato Part 1. Manifestations of hybrid vigour from germination to the onset of flowering. *Annals of Botany*. 1: 11-41.
- Baldet, P., Hernould, M., Laporte, F., Mounet, F., Just, D., Mouras, A., Chevalier, C., Rothan, C.** 2006. The expression of cell proliferation-related genes in early developing flowers is affected by a fruit load reduction in tomato plants. *Journal of Experimental Botany*. 57: 961-970.
- Baldwin, E.A., Nisperos Carriedo, M.O., Moshonas, M.G.** 1991. Quantitative analysis of flavor and other volatiles and for certain constituents of two tomato cultivars during ripening. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 116: 265-269.
- Baldwin, E.A., Scott, J.W., Einstein, M.A., Malundo, T.M.M., Carr, B.T., Shewfelt, R.L., Tandon, K.S.** 1998. Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 123: 906-915.

Baldwin, E.A., Scott, J.W., Shewmaker, C.K., Schuch, W. 2000. Flavor trivia and tomato aroma: biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components. *HortScience*. 35: 1013-1021.

Balibrea, M.E., Martinez-Andujar, C., Cuartero, J., Bolarin, M.C., Perez-Alfocea, F. 2006. The high fruit soluble sugar content in wild *Lycopersicon* species and their hybrids with cultivars depends on sucrose import during ripening rather than on sucrose metabolism. *Functional Plant Biology*. 33: 279-288.

Ballester, A.R., Molthoff, J., de Vos, R., Hekkert, B.T.L., Orzaez, D., Fernandez-Moreno, J.P., Tripodi, P., Grandillo, S., Martin, C., Heldens, J., Ykema, M., Granell, A., Bovy, A. 2010. Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SlMYB12 leads to pink tomato fruit color. *Plant Physiology*. 152: 71-84.

Barrero, L.S., Tanksley, S.D. 2004. Evaluating the genetic basis of multiple-locule fruit in a broad cross section of tomato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. 109: 669–679.

Beckles, D.M. 2012. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 63: 129-140.

Beckman, K. B., Ames, B.N. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physical Review*. 78: 547-581.

Berger, R.G. 1991. Fruits I, p. 283–304. In: H. Maarse (ed.). *Volatile compounds in foods and beverages*, Marcel Dekker, New York.

Bertin, N. 2005. Analysis of the tomato fruit growth response to temperature and plant fruit load in relation to cell division, cell expansion and DNA endoreduplication. *Annals of Botany*. 95: 439–447.

Bertin, N., Guichard, S., Leonardi, C., Longuenesse, J.J., Langlois, D., Navez, B. 2000. Seasonal evolution of the quality of fresh glasshouse tomatoes under Mediterranean conditions, as affected by air vapour pressure deficit and plant fruit load. *Annals of Botany*. 85: 741-750.

Bertram, J.S., Vine, A.L. 2005. Cancer prevention by retinoids and carotenoids: Independent action on a common target. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1740: 170-178.

Block, G., Patterson, B., Subar, A. 1992. Fruits, vegetable, and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*. 18: 1-29.

Brauss, M.S., Linforth, R.S., Taylor, A.J. 1998. Effect of variety, time of eating and fruit-to-fruit variation on volatile release during eating of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 2287–2292.

Brewer, M.T., Moyseenko, J.B., Monforte, A.J., van der Knaap, E. 2007. Morphological variation in tomato: a comprehensive study of quantitative trait loci controlling fruit shape and development. *Journal of Experimental Botany*. 58: 1339-1349.

Bruhn, C.M., Feldman, N., Garlitz, C., Harwood, J., Ivans, E., Marshall, M., Riley, A., Thurber, D., Williamson, E. 1991. Consumer perceptions of quality: apricots,

cantaloupes, peaches, pears, strawberries, and tomatoes. *Journal of Food Quality*. 14: 187–195.

Bucheli, P., Voirol, E., de la Torre, R., Lopez, J., Rytz, A., Tanksley, S.D., Petiard, V. 1999a. Definition of nonvolatile markers for flavor of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) as tools in selection and breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 659-664.

Bucheli, P., Lopez, J., Voirol, E., Petiard, V., Tanksley, S.D. 1999b. Definition of biochemical and molecular markers (quality trait loci) for tomato flavour as tools in breeding. *Acta Horticulturae*. 487: 301-306.

Butler, L. 1952. The linkage map of the tomato. *Journal of Heredity*. 43 (1): 25-36.

Buttery, R.G. 1993. Quantitative and sensory aspects of flavor of tomato and other vegetables and fruits, p. 259–286. In: T.E. Acree and R.Teranishi (eds.). *Flavor science: Sensible principles and techniques*. Amer. Chem. Soc., Washington, D.C.

Buttery, R.G., Ling, L.C. 1993. Volatile components of tomato fruit and plant parts: relationship and biogenesis. In: Teranishi, R., Buttery, R.G., Sugisawa, H. (Eds.), *Bioactive Volatile Compounds From Plants: ACS Symposium Series No. 525*. American Chemical Society Washington, DC. pp. 23-24.

Buttery, R.G., Seifert, R.M., Guardagni, D.G., Ling, L.C. 1971. Characterization of additional volatile components of tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 19: 524-529.

Buttery, R.G., Teranishi, R., Ling, L.C. 1987. Fresh tomato aroma volatiles: A quantitative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 35: 540–544.

Buttery, R.G., Teranishi, R., Ling, L.C., Flath, R.A., Stern, D.J. 1988. Quantitative studies on origins of fresh tomato volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 36: 1247-1250.

Byers, T., Guerrero, N. 1995. Epidemiologic evidence for vitamin C and vitamin E in cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*. 62: 1385S-1392S.

Carbonell-Barrachina, A.A., Agusti, A., Ruiz, J.J. 2006. Analysis of flavor volatile compounds by dynamic headspace in traditional and hybrid cultivars of Spanish tomatoes. *European Food Research and Technology*. 222: 536-542.

Carelli, B.P., Gerald, L.T.S., Grazziotin, F.G., Echeverrigaray, S. 2006. Genetic diversity among Brazilian cultivars and landraces of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53: 395-400.

Casals, J., Pascual, L., Cañizares, J., Cebolla, J., Casañas, F., Nuez, F. 2012. Genetic basis of long shelf life and variability into Penjar tomato. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 59: 219-229.

Causse, M., Saliba Colombani, V., Lesschaeve, I., Buret, M. 2001. Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato. 2. Mapping QTLs for sensory attributes. *Theoretical and Applied Genetics*. 102: 273-283.

- Causse, M., Saliba Colombani, V., Lecomte, L., Duffé, P., Rousselle, P., Buret, M.** 2002. Genetic analysis of fruit quality attributes in fresh market tomato. *Journal of Experimental Botany*. 53: 2090-2098.
- Causse, M., Buret, M., Robini, K., Verschave, P.** 2003. Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *Journal of Food Science*. 68: 2342-2350.
- Cebolla Cornejo, J.** 2005. Recuperación de variedades tradicionales de tomate y pimiento. Caracterización y Mejora genética. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia.
- Cebolla-Cornejo, J., 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: 113-128.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F.** 2013. Selection of tomato rich in nutritional terpenes. In: "Ramawat, K.G., Mérillon, J.M. (eds.). *Natural products*, 2853-2881." Springer, Heidelberg. DOI 10.1007/978-3-642-22144-6_127.
- Ceccarelli, S., Valkoun, W., Erskine, S., Weigand, R., Miller, R., Van Leer, A.G.** 1992. Plant genetic resources and plant improvement as tools to develop sustainable agriculture. En: *Expl. Agric.* Vol. 28: 89-98.
- Chetelat, R.T., De Verna, J.W., Bennett, A.B.** 1995. Introgression into tomato (*Lycopersicon esculentum*) of the *L.chmielewskii* sucrose accumulator gene (*sucr*) controlling fruit sugar composition. *Theoretical Applied Genetics*. 91: 327-333.
- Chong, M. F., Macdonald, R., Lovegrove, J. A.** 2010. Fruit polyphenols and CVD risk: A review of human intervention studies. *British Journal of Nutrition*. 104: S28-S39.
- Clinton, S.K.** 1998. Lycopene: Chemistry, biology and implications for human health and disease. *Nutrition Reviews*. 1: 35-51.
- Collins, A.R.** 2004. Oxidative DNA damage: The link with fruit and vegetables. *Agro Food Industry Hi-Tech*. 15: 23.
- Commenges, D., Scotet, V., Renaud, S., Jacqmin-Gadda, H., Barberger-Gateau, P., Dartigues, J.F.** 2000. Intake of flavonoids and risk of dementia. *European Journal Epidemiology*. 16: 357-363.
- Cong, B., Barrero, L.S., Tanksley, S.D.** 2008. Regulatory change in YABBY-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size during tomato domestication. *Nature Genetics*. Vol.40, No 6, 800-804.
- Cook, N.C., Samman, S.** 1996. Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutrition and Biochemistry*. 7: 66-76.
- Cookson, P.J., Kiano, J.W., Shipton, C.A., Fraser, P.D., Romer, S., Schuch, W., Bramley, P.M., Pyke, K.A.** 2003. Increases in cell elongation, plastid compartment size and phytoene synthase activity underlie the phenotype of the high pigment-1 mutant of tomato. *Planta*. 217: 896–903.

- Corominas, J.** 1990. Breve Diccionario Etimológico de la Lengua Castellana. Ed. Gredos, Madrid.
- Crozier, A., Lean, M.E.J., McDonald, M.S., Black, C.** 1997. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 590-595.
- Davey, M.W., Montagu, M.V., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I.J.J., Strain, J.J., Favell, D., Fletcher, J.** 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agric.* 80: 825-860.
- Davies, J.N.** 1964. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers on the non-volatile organic acids of tomato fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 10: 665-673.
- Davies, J.N., Hobson, G.E.** 1981. The constituents of tomato fruit – the influence of environment, nutrition, and genotype. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 15 (3): 205-280.
- Davis, D.R.** 2009. Declining fruit and vegetable nutrient composition: What is the evidence?. *Hortscience*. 44: 15-19.
- De Bruyn, J.W., Garretsen, F., Kooistra, E.** 1971. Variation in taste and chemical composition of the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Euphytica*. 20: 214-227.
- De Candolle, A.** 1883. Origine des plants cultivées. 10^a Ed. Bailliére, Paris. France.
- Decoene, C.** 1995. Tomates, qu'en pensent les consommateurs?. *Infos-Ctifl*. 112: 8–11.
- Dirinck, P., Schreyen, L., van Wasswnhove, F., Schamp, N.** 1976. Flavour quality of tomatoes. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 27: 499-508.
- Doganlar, S., Frary, A., Tanksley, S.D.** 2000. The genetic basis of seedweight variation: tomato as a model system. *Theoretical and Applied Genetics*. 100: 1267–1273.
- Doll, R.** 1990. Symposium on diet and cancer. An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer. *Proceedings of Nutrition Society*. 49: 119-131.
- Dondarini, R.** 2010. Storia e arte: aspetti storici. A: Angelini R ed. *Il pomodoro*. Bologna: Art Servizi Editoriali.
- Dorgan, J.F., Sowell, A., Swanson, C.A., Potischman, N., Miller, R., Schussler, N., Stephenson, H.E.Jr.** 1998. Relationship of serum carotenoids, retinol, a-tocopherol and selenium with breast cancer risk: results from a prospective study in Columbia, Missouri. *Cancer Causes Control*. 9: 89-97.
- Dorst, J.C.E.A.** 1946. Een en twintigste beschrijvende rassenlijst voor landbouwgewassen. Wageningen: Rijkscommissie voor de samenstelling van de rassenlijst voor landbouwgewassen.
- Duarte, T.L., Lunec, J.** 2005. When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radical Research*. 39: 671-686.
- Duman, I., Duzyaman, E., Esiyok, D., Vural, H., Erkan, S.** 2005. Improving productivity of open-pollinated processing tomato cultivars. *Hortscience*. 40: 1682-1685.

- Esquinas-Alcázar, J., and Nuez, F.** 1995. Capítulo 1. Situación taxonómica, domesticación y difusión. In: "Nuez, F. (Ed.). El cultivo del tomate." Ediciones Mundi Prensa, Madrid: 13-43.
- Falk, J., Munné-Bosch, S.** 2010. Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond. *Journal of Experimental Botany*. 61: 1549-1566.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations.** 1996. The State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, Roma, Italia. 511 pp.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations.** 2010. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. Second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture.
- FAOSTAT. 2009.** Food and Agriculture Organization of the United Nations Database. http://faostat3.fao.org/home/index_es.html
- Fernandez-Cornejo, J.** 2004. The seed industry in U.S. agriculture: An exploration of data and information on crop seed markets, regulation, industry structure, and research and development. Agriculture Information Bulletin Number 786. UDA, Washington.
- Foolad, M.R.** 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*. 1: 1-52.
- Frankel, O.H., Soulé, M.E.** 1981. Conservation and evolution. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido. 366 pp.
- Frary, A., Doganlar, S.** 2003. Comparative genetics of crop plant domestication and evolution. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 27: 59-69.
- Frary, A., Nesbitt, T.C., Grandillo, S., Van der Knaap, E., Cong, B., Liu, J.P.** 2000. *fw2.2*: a quantitative trait locus key to evolution of tomato fruit size. *Science*. 305: 1786-1789.
- Frary, A., Doganlar, S., Daunay, M., Tanksley, S.** 2003. QTL analysis of morphological traits in eggplant and implications for conservation of gene function during evolution of solanaceous species. *Theoretical and Applied Genetics*. 107 (2): 359-370.
- Frary, A., Xu, Y., Liu, J., Mitchell, S., Tedeschi, E., Tanksley, S.D.** 2005. Development of a set of PCR-based anchor markers encompassing the tomato genome and evaluation of their usefulness for genetics and breeding experiments. *Theoretical and Applied Genetics*. 111: 291-312.
- Fray, R.G., Grierson, D.** 1993. Identification and genetic analysis of normal and mutant phytoene synthase genes of tomato by sequencing, complementation and co-suppression. *Plant Molecular Biology*. 22: 589-602.
- Fridman, E., Pleban, T., Zamir, D.** 2000. A recombination hotspot delimits a wild-species quantitative trait locus for tomato sugar content to 484 bp within an invertase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. 97(9): 4718-23.

- Fridman, E., Carrari, F., Liu, Y.S., Fernie, A.R., Zamir, D.** 2004. Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interspecific introgressions. *Science*. 305: 1786-1789.
- Foyler, C., Valadier, M.H., Migge, A., Becker, T.W.** 1998. Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. *Plant Physiology*. 117: 283-292.
- Fulton, T.M., Buchelli, P., Voirol, E., López, J., Pétiard, V., Tanksley, S.D.** 2002. Quantitative trait loci (QTL) affecting sugars, organic acids and other biochemical properties possibly contributing to flavor, identified in four advanced backcross populations of tomato. *Euphytica*. 127: 163-177.
- Galpaz, N., Wang, Q., Menda, N., Zamir, D., Hirschberg, J.** 2008. Abscisic acid deficiency in the tomato mutant high-pigment 3 leading to increased plastid number and higher fruit lycopene content. *The Plant Journal*. 53: 717-730.
- García-Closas, R., Berenguer, A., Tormo, M.J., Sánchez, M.J., Quirós, J.R., Navarro, C., Arnaud, R., Dorronsoro, M., Dolores-Chirlaque, M., Barricarte, A., Ardanaz, E., Amiano, P., Martínez, C., Agudo, A., González, C.A.** 2004. Dietary sources of vitamin C, vitamin E and specific carotenoids in Spain. *British Journal of Nutrition*. 91: 1005-1011.
- García-Martínez, S., Andreani, L., García-Gusano, M., Geuna, F., Ruiz, J.J.** 2006. Evaluation of amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm fingerprinting: utility for grouping closely related traditional cultivars. *Genome*. 49: 648-656.
- García-París, J.** 1991. Intercambio y difusión de plantas de consumo entre el nuevo y viejo mundo. M.A.P.A. Madrid.
- Gardner, R.G.** 1993. 'Mountain Gold' tomato. *HortScience*, 28: 348-349.
- Garg, N., Cheema, D.S., Dharminder, P.** 2008. Heterosis breeding in tomato involving rin, nor and alc alleles: a review of literature. *Advances in Horticultural Science*. 22: 54-62.
- Gautier, H., Guichard, S., Tchamitchian, M.** 2001. Modulation of competition between fruits and leaves by flower pruning and water fogging, and consequences on tomato leaf and fruit growth. *Annals of Botany*. 88: 645-652.
- George, B., Kaur, C., Khurdiya, D.S., Kapoor, H.C.** 2004. Antioxidants in tomato (*Lycopersicon esculentum*) as a function of genotype. *Food Chemistry*. 84: 45-51.
- Gilg, A.W., Battershill, M.** 1998. Quality farm food in Europe: a possible alternative to the industrialised food market and to current agri-environmental policies: lessons from France. *Food Policy*. 23.1: 25-40.
- Goldman, I.L., Paran, I., Zamir, D.** 1995. Quantitative trait locus analysis of a recombinant inbred line population derived from a *Lycopersicon esculentum* *L. cheesmanii* cross. *Theoretical and Applied Genetics*. 90: 925-932.
- Gould, W.A.** 1992. *Tomato Production, Processing and Technology*. CTI Publications, Baltimore, USA.

- Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G., Faria, J.A.F.** 2010. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9: 292-302.
- Grandillo, S., Tanksley, S.D.** 1996. Analysis of horticultural traits differentiating the cultivated tomato from the closely related species *Lycopersicon pimpinellifolium*. *Theoretical and Applied Genetics*. 92: 935-951.
- Grandillo, S., Ku, H.M., Tanksley, S.D.** 1999a. Identifying loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato. *Theoretical and Applied Genetics*. 99: 978-987.
- Grandillo, S., Zamir, D., Tanksley, S.D.** 1999b. Genetic improvement of processing tomatoes: A 20 years perspective. *Euphytica*. 110: 85-97.
- Grandillo, S., Tanksley, S.D., Zamir, D.** 2008. Exploitation of natural biodiversity through genomics. In: Varshney RK, Tuberosa R (eds) *Genomics assisted crop improvement*, vol 1, *Genomics approaches and platforms*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp 121-150.
- Grasselly, D., Navez, B., Letard, M.** 2000. *Tomate: Pour un produit de qualité*. Ed. CTIL. pp. 222.
- Gross, J.** 1991. *Pigments in Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids*. Van Nostrand Reinhold. New York. NY.
- Guzmán Casado, G.I., Soriano Niebla, J.J., García Jiménez, F.S., Díaz del Cañizo M.A.** 2000. La recuperación de variedades locales hortícolas en Andalucía (España) como base de la producción agroecológica. En: Guzmán Casado, G., M. González de Molina, E. Sevilla Guzmán (eds.). *Introducción a la agroecología como desarrollo rural sostenible*. Mundi-Prensa. Madrid. 339-362.
- Hajjar, R., Hodgkin, T.** 2007. The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. *Euphytica*. 156: 1-13.
- Hamauzu, Y., Chachin, K., Ueda, Y.** 1998. Effect of postharvest temperature on the conversion of ¹⁴C-mevalonic acid to carotenes in tomato fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 67: 549-555.
- Hamilton, E.E.** 1976. What the New World economy gave the Old. En: *First images of America: the impact of the New World on The Old*, vol 2. Chiappelli, F. (Ed.). University of California Press, Los Angeles, EE.UU. pp. 853-884.
- Hammer, K.** 1984. Das domestikationssyndrom. *Kulturpflanze*. 32: 11-34.
- Hamner, K.C., Bernstein, L., Maynard, L.A.** 1945. Effects of Light Intensity, Day Length, Temperature, and other Environmental Factor son the Ascorbic Acid Content of Tomatoes. *The Journal of Nutrition*. 85-97.
- Hancock, J.F.** 2004. *Plant evolution and the origin of crop species*. Cambridge: CABI Publishing.

- Hanson, P.M., Yang, R.Y., Wu, J., Chen, J.T., Ledesma, D., Tsou, S.C.S., Lee, T.C.** 2004. Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 129: 704-711.
- Harborne, J.B.** 1994. *The flavonoids. Advances in research since 1986*. 1st ed., London: Chapman Hall.
- Harborne, J.B., Williams, C.A.** 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55: 481-504.
- Harmeyer, J.** 2002. The physiological role of L-carnitine. *Lohmann Information*. 27: 15-22.
- Hart, D.J., Scott, K.J.** 1995. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the U.K. *Food Chemistry*. 54: 101-111.
- Hawkes, J.G., Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V.** 2000. *The ex situ conservation of plant genetic resources*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda. 250 pp.
- Henle, K., Alard, D., Clitherow, J., Cobb, P., Firbank, L., Kull, T., McCracken, D., Moritz, R.F.A., Niemela, J., Rebane, M., Wascher, D., Watt, A., Young, J.** 2008. Identifying and managing the conflicts between agriculture and biodiversity conservation in Europe - A review. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 124: 60-71.
- Hobson, G.E.** 1980. Effect of the introduction of non-ripening mutant-genes on the composition and enzyme content of tomato fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 31: 578-584.
- Hobson, G., Bedford, L.** 1989. The composition of cherry tomatoes and its relation to consumer acceptability. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 64: 321-329.
- Hooper, L., Cassidy, A.** 2006. A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 1805-1813.
- Horrigan, L., Lawrence, R.S., Walker, P.** 2002. How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture. *Environmental Health Perspectives*. 110: 445-456.
- Howard, P.H.** 2009. Visualizing consolidation in the global seed industry: 1996–2008. *Sustainability* 1.4: 1266-1287.
- Ioannidi, E., Kalamaki, M.S., Engineer, C., Pateraki, I., Alexandrou, D., Mellidou, I., Giovannonni, J., Kanellis, A.K.** 2009. Expression profiling of ascorbic acid-related genes during tomato fruit development and ripening and in response to stress conditions. *Journal of Experimental Botany*. 60 (2): 663–678.
- Isaacson, T., Ronena, G., Zamir, D., Hirschberg J.** 2002. Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of beta-carotene and xanthophylls in plants. *Plant Cell*. 14: 333-342.
- Jachak, S.M.** 2001. Natural products: Potential source of COX inhibitors. *CRIPS*. 2(1): 12-15.

- Jamison, J.M., Gilloteaux, J., Taper, H.S., Summers, J.L.** 2001. Evaluation of the in vitro and in vivo antitumor activities of vitamin C and K-3 combinations against human prostate cancer. The role of nutrition in preventing and treating breast and prostate cancer. *The Journal of Nutrition*. 131: 158S-160S.
- Janse, J., Schols, M.** 1995. Une préférence pour un goût sucré et non farineux. *Groenten + Fruit*. 26: 16-17.
- Jarret, R.L., Sayama, H., Tigchelaar, E.C.** 1984. Pleiotropic effects associated with the chlorophyll intensifier mutations high pigment and dark green in tomato. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 109: 873-878.
- Jenkins, J.A.** 1948. The origin of cultivated tomato. *Economic Botany*. 2: 379-392.
- Jones, C.M., Mes, P., Myers, J.R.** 2003. Characterization and inheritance of the Anthocyanin fruit (Aft) tomato. *Journal of Heredity*. 94: 449-456.
- Jones, R.A.** 1986. Breeding for improved post-harvest tomato quality: genetical aspects. *Acta Horticulturae*. 190: 77-87.
- Jones, R.A., Scott, S.J.** 1984. Genetic potential to improve tomato flavor in commercial F1 hybrids. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 109 (3): 318-321.
- Kader, A.; Stevens, M.A.; Albright-Holton, M.; Morris, L.; Algazi, M.** 1977. Effect of fruit ripeness when picked on flavour and composition in fresh market tomatoes. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 102: 724-731.
- Kamal, A.H.M., Takashina, T., Egashira, H., Satoh, H., Imanishi, S.** 2001. Introduction of aromatic fragrance into cultivated tomato from the “*peruvianum* complex”. *Plant Breeding*. 120: 179-181.
- Kameli, A., Lösel, D.M.** 1996. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. *New Phytologist*. 132: 57-62.
- Kavanagh, E.E., McGlasson, W.B.** 1983. Determination of sensory quality in fresh market tomatoes. *CSIRO Food Research*. A 43: 81-89.
- Kavanaugh, C.J., Trumbo, P.R., Ellwood, K.C.** 2007. The U.S. Food and Drug Administration’s Evidence-Based Review for Qualified Health Claims: Tomatoes, Lycopene, and Cancer. *Journal of National Cancer Institute*. 99: 1074-1085.
- Ke, D., Boersig, M.** 1996. Sensory and chemical analyses of tomato flavor. *HortScience*. 31: 599.
- Kemp, G.A., Nonnecke, I.L.** 1960. Differences in intensity of unripe fruit colour in the tomato. *Canadian Journal of Plant Science*. 40 (2): 306-309.
- Kerr, E.A.** 1956. Green flesh. *Tomato Genetics Cooperative Report*. 6: 17.
- Khachik, F., Goli, M.B., Beecher, G.R., Holden, J., Lusky, W.R., Tenerio, M.D., Barrera, M.R.** 1992. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoids constituents of tomatoes and several green vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 390-398.
- King, A., Young, G.** 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of American Dietetic Association*. 99: 213-218.

- Kinzer, S.M., Schwager, S.J., Mutschler, M.A. 1990.** Mapping of ripening-related or ripening-specific cDNA clones of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Theoretical and Applied Genetics. 79: 489-496.
- Kleijn, D., Sutherland, W.J. 2003.** How effective are European agri-environment schemes in conserving and promoting biodiversity? Journal of Applied Ecology. 40: 947-969.
- Kohler, G.W., Lincoln, R.E., Porter, J.W., Zscheile, F.P., Caldwell, R.M., Harper, R.H., Silver, W. 1947.** Selection and breeding for high beta-carotene content (provitamin A) in tomato. Bot. Gaz. 109: 219-225.
- Konsler, T.R. 1973.** Three mutants appearing in "Manapal" tomato. HortScience. 8: 331-333.
- Kopeliovitch, E., Mizrahi, Y., Rabinowitch, H.D., Kedar, N. 1982.** Effect of the fruit-ripening mutant-genes *rin* and *nor* on the flavor of tomato fruit. Journal of the American Society for Horticultural Science. 107: 361-364.
- Kovacs, K., Fray, R.G., Tikunov, Y., Graham, N., Bradley, G., Seymour, G.B., Bovy, A.G., Grierson, D. 2009.** Effect of tomato pleiotropic ripening mutations on flavour volatile biosynthesis. Phytochemistry. 70: 1003-1008.
- Krumbein, A., Auerswald, H. 1998.** Characterization of aroma volatiles in tomatoes by sensory analyses. Nahrung. 42: 395-399.
- Ku, H.M., Doganlar, S., Chen, K.Y., Tanksley, S.D. 1999.** The genetic basis of pear-shaped tomato fruit. Theoretical and Applied Genetics. 9: 844-850.
- Ku, H.M., Doganlar, S., Tanksley, S.D. 2000.** *fs8.1*, a major QTL, sets the pattern of tomato carpel shape well before anthesis. Theoretical and Applied Genetics. 101: 873-878.
- Kun, Y., Lule, U.S., Xiao-Lin, D. 2006.** Lycopene: Its properties and relationship to human health. Food Reviews International. 22: 309-333.
- Kuzyomenskii, A.V. 2007.** Effect of cumulative polymery of tomato keeping life genes. Cytology and Genetics. 41: 268-275.
- Labate, J.A., Grandillo, S., Fulton, T., Muños, S., Caicedo, A.L., Peralta, I., Ji, Y., Chetelat, R.T., Scott, J.W., Gonzalo, M.J., Francis, D., Yang, W., van der Knaap, E., Baldo, A.M., Smith-White, B., Mueller, L.A., Prince, J.P., Blanchard, N.E., Storey, D.B., Stevens, M.R., Robbins, M.D., Wang, J.F., Liedl, B.E., O'Connell, M.A., Stommel, J.R., Aoki, K., Iijima, Y., Slade, A.J., Hurst, S.R., Loeffler, D., Steine, M.N., Vafeados, D., McGuire, C., Freeman, C., Amen, A., Goodstal, J., Facciotti, D., Van Eck, J., Causse, M. 2007.** Tomato. In: Kole C (ed) Genome mapping and molecular breeding in plants, vol 5, Vegetables. Springer, Berlin, Germany, pp 1-96.
- Laguna, L., Casado, C.G., Heredia, A. 1999.** Flavonoid biosynthesis in tomato fruit cuticles after in vivo incorporation of 3Hphenylalanine precursor. Physiologia Plantarum. 105: 491-498.

- Langlois, D., Etievant, P.X., Pierron, P., Jorrot, A.** 1996. Sensory and instrumental characterisation of commercial tomato varieties. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 203: 534-540.
- Laquatra, I., Yeung, D.L., Storey, M., Forshee, R.** 2005. Health benefits of lycopene in tomatoes – conference summary. *Nutrition Today*. 40: 29-36.
- Larry, R., Joanne, L.** 2007. Genetic resources of tomato. In: Razdan MK, Mattoo AK, eds. Genetic improvement of solanaceous crops. Vol. 2. Tomato. Enfield, NH: Science Publishers.
- Laterrot, H., Philouze, J.** 2003. Tomates. A: Pitrat M i Foury C eds. *Histoires de légumes, des origines à l'orée du XXIe siècle*. Paris: INRA.
- Lavi, N., Tadmor, Y., Meir, A., Bechar, A., Oren-Shamir, M., Ovadia, R., Reuveni, M., Nahon, S., Shlomo, H., Chen, L., Levin, I.** 2009. Characterization of the Intense Pigment tomato genotype emphasizing targeted fruit metabolites and chloroplast biogenesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 4818-4826.
- Lecomte, L., Duffe, P., Buret, M., Servin, B., Hospital, F., Cause, M.** 2004. Marker-assisted introgression of five QTLs controlling fruit quality traits into three tomato lines revealed interactions between QTLs and genetic backgrounds. *Theoretical and Applied Genetics*. 109: 658-668.
- Le floc'h, E., Le Houerou, H.N., Mathez, J.** 1990. History and patterns of plant invasion in Northern Africa. (In: Di Castri, F., Hansen, A.J., Debussche, M. (Eds.). *Biological invasions in Europe and the Mediterranean Basin*. Kluwer Academic Pub., Dordrecht). 105-133.
- Levin, I., Gilboa, N., Yeselson, E., Shen, S., Schaffer, A.A.** 2000. Fgr, a major locus that modulates the fructose to glucose ratio in mature tomato fruits. *Theoretical Applied Genetics* 100: 2, 256-262.
- Levin, I., Frankel, P., Gilboa, N., Tanny, S., Lalazar, A.** 2003. The tomato *dark green* mutation is a novel allele of the tomato homolog of the *DEETIOLATED1* gene. *Theoretical Applied Genetics* 106: 454-460.
- Libby, P., Aikawa, M.** 2002. Vitamin C, collagen, and cracks in the plaque. *Circulation*. 105: 1396-1398.
- Lincoln, R.E., Zscheile, F.P., Porter, J.W., Kohler, G.W., Caldwell, R.M.** 1943. Provitamin A and vitamin C in the genus *Lycopersicon*. *Bot. Gaz.* 105: 113-115.
- Lindstrom, E.W.** 1928. Linkage of size, shape and color genes in *Lycopersicum*. *Verh. 5th Int. Kong. Vererb. Ber.* 2: 1031-1057.
- Lindstrom, E.W.** 1929. Fruit-size and shape genes on the first chromosome of the tomato. *Iowa Academy of Science*. 36: 189-190.
- Lippman, Z., Tanksley, S.D.** 2001. Dissecting the genetic pathway to extreme fruit size in tomato using a cross between the small-fruited wild species *Lycopersicon pimpinellifolium* and *L. esculentum* var. Giant Heirloom. *Genetics*. 158: 413-422.

- Liu, J.P., Van Eck, J., Cong, B., Tanksley, S.D.** 2002. A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 99: 13302–13306.
- Liu, J.P., Cong, B., Tanksley, S.D.** 2003. Generation and analysis of an artificial gene dosage series in tomato to study the mechanisms by which the cloned quantitative trait locus fw2.2 controls fruit size. *Plant Physiology*. 132: 292-299.
- Locascio, S.J., Wiltbank, W.J., Gull, D.D., Maynard, D.N.** 1984. Fruit and vegetable quality as affected by nitrogen nutrition. p. 617-626. In: *Nitrogen in crop production*. ASA-CSSA-SSSA, Madison. WI.
- Long, J.** 1995. **De tomates y jitomates en el siglo XVI. En: Estudios de Cultura Náhuatl. 25: 239-252.**
- Lotito, S.B., Frei, B.** 2006. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology and Medicine*. 41: 1727-1746.
- Loyola, J., Verdugo, I., González, E., Casaretto, J.A., Ruiz-Lara, S.** 2012. Plastidic isoprenoid biosynthesis in tomato: physiological and molecular analysis in genotypes resistant and sensitive to drought stress. *Plant Biology*. 14: 149-156.
- Luckwill, L.C.** 1943. The genus *Lycopersicon*: An historical, biological, and taxonomical survey of the wild and cultivated tomatoes. *Aberdeen Univ. Stud.* 120: 1-44.
- Lutsenko, E.A., Carcamo, J.M., Golde, D.W.** 2002. Vitamin C prevents DNA mutation induced by oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*. 277: 16895-16899.
- Magiorkinis, E., Beloukas, A., Diamantis, A.** 2011. Scurvy: Past, present and future. *European Journal of Internal Medicine*. 22:147-152.
- Mahakun, N., Leeper, P.W., Burns, E.E.** 1979. Acidic constituents of various tomato fruit types. *Journal of Food Science*. 44: 1241-1244.
- Malewski, W., Markakis, P.** 1971. Ascorbic acid content of the developing tomato. *Journal of Food Science*. 36: 537.
- Malundo, T.M.M., Shewfelt, R.L., Scott, J.W.** 1995. Flavor quality of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by sugars and acid levels. *Postharvest Biology and technology*. 6: 103-110.
- Marchioli, R., Schweiger, C., Levantesi, G., Tavazzi, L., Valagussa, F.** 2001. Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: Epidemiological and clinical trial data. *Lipids*. 36: S53-S63.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., Provan, G., Chesson, A.** 2002. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon Esculentum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82: 323-330.
- Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G., Swift, M.J.** 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*. 277: 504-509.

- Matthiolus, P.A.** 1544. Di Pedacio Dioscoride Anazrbeo libri cinque della historia, et materia medicinale tordote in lingua volgare Italiana. Venecia. Italy.
- Mayne, S.T.** 1996. Beta-carotene, carotenoids and disease prevention in humans. *FASEB Journal*. 10: 690-701.
- Mazzucato, A., Papa, R., Bitocchi, E., Mosconi, P., Nanni, L., Negri, V., Picarella, M.E., 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: 657-669.
- Mazzucato, A., Ficcadenti, N., Caioni, M., Mosconi, P., Piccinini, E., Sanampudi, V.R.R., Sestili, S., Ferrari, V.** 2010. Genetic diversity and distinctiveness in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces: the Italian case study of ‘A pera Abruzzese’. *Scientia Horticulturae*. 125: 55-62.
- McGlasson, W.B., Last, J.H., Shaw, K.J., Meldrum, S.K.** 1987. Influence of the non-ripening mutants *rin* and *nor* on the aroma of tomato fruit. *HortScience*. 2-2(4):632-634.
- Meredith, F.I., Purcell, A.E.** 1966. Changes in the concentration of carotenes of ripening homestead tomatoes. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*. 89: 544.
- Mignone, L.I., Giovannucci, E., Newcomb, P.A., Titus-Ernstoff, L., Trentham-Dietz, A., Hampton, J.M., Willett, W.C., Egan, K.M.** 2009. Dietary carotenoids and the risk of invasive breast cancer. *Int. J. Cancer*. 124: 2929–2937.
- Miller, J.C., Tanksley, S.D.** 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*. 80: 437-448.
- Mochizuki, T., Kaminura, S.** 1984. Inheritance of vitamin C content and its relation to other characters in crosses between *hp* and *og* varieties of tomatoes. *Eucarpia Tomato Working Group, Synopsis IX. Meeting 22-24 May. Wageningen. The Netherlands*. pp. 8-13.
- Mochizuki, T., Kamimura, S.** 1985. Photosensitive method for selection of *hp* at the seedling stage. *Tomato Genetics Cooperative Reports*. 35: 12-13.
- Moco, S., Bino, R. J., Vorst, O., Verhoeven, H. A., de Groot, J., van Beek, T. A., Vervoort, J., De Vos, C. R.** 2006. A Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Metabolome Database for Tomato. *Plant Physiology*. 141: 1205-1218.
- Molgaard, P., Ravn, H.** 1988. Evolutionary aspects of caffeoyl ester distribution in dicotyledons. *Phytochemistry*. 27: 2411-2421.
- Montes, S., Aguirre, J.R.** 1992. Tomate de cascara (*Physalis philadelphica*). In: “Hernández, J.E.; León, J. (Eds.). *Cultivos marginados. Otra perspectiva de 1492*. FAO. Roma”: 115-120.
- Munné-Bosch, S., Alegre, L.** 2002. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 21: 31-57.

- Nakatani, N., Kayano, S., Kikuzaki, H., Sumino, K., Katagiri, K., Mitani, T.** 2000. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48: 5512-5516.
- NAS. National Academy of Sciences.** 1972. Genetic vulnerability of major crops. Washington, DC, EE.UU. 307 pp.
- Nasolodin, V.V., Rusin, V.Y., Dvorkin, V.A., Shipov, N.A., Gulevskaya, G.V.** 1996. Interrelationship between vitamin C and trace elements and their role in the prevention of iron-deficiency conditions - a review. *Gigiena i Sanitariya*. 6: 26-29.
- Nesbitt, T.C., Tanksley, S.D.** 2001. *fw2.2* directly affects the size of developing tomato fruit, with secondary effects on fruit number and photosynthate distribution. *Plant Physiology*. 127: 575-583.
- Nesbitt, T.C., Tanksley, S.D.** 2002. Comparative sequencing in the genus *Lycopersicon*: implication for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes. *Genetics*. 162: 365-379.
- Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., van Norren, K., van Leeuwen, P.A.M.** 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*. 74: 418-425.
- Nuez, F., Diez, M. J., Pico, B., Fernández de Córdoba, P.** 1996. Catálogo de semillas de tomate. Inia, Madrid.
- O' Toole, P. Lombard, M.** 1996. Vitamin C and gastric cancer: supplements for some or fruit for all? *Gut*. 39: 345-347.
- Offord, E.A.** 1998. Nutritional and health benefits of tomato products. Proc. Tomato and Health Seminar. Pamplona. Spain. 25-28 May. p. 5-10.
- Omenn, G.S., Goodman, G., Thornquist, M., Grizzle, J., Rosenstock, L., Barnhart, S., Balmes, J., Cherniack, M.G., Cullen, M.R., Glass, A., Keogh, J., Meyskens, F., Valanis, B., Williams, J.** 1994. The β -carotene and retinol efficacy trail (CARET) for chemoprevention of lung cancer in high risk populations: smokers and asbestos-exposed workers. *Cancer Research (suppl)*. 54: 2038s-2043s.
- Palmieri, S., Martiniello, P., Soressi, G.** 1978. Chlorophyll and carotene content in high pigment and green flesh fruits. Report of the Tomato Genetics Cooperative. 28: 10.
- Paran, I., Van der Knaap, E.** 2007. Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal of Experimental Botany*. Vol.58, No. 14, pp. 3841-3852.
- Park, Y.H., West, M.A.L., St Clair, D.A.** 2004. Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome*. 47: 510-518.
- Patrick L.** 2000. Beta-Carotene: The Controversy Continues. *Alternative Medicine Review*. 5: 530-545.

- Peirce, L.C., Crispi, M.L., Miller, H.G.** 1992. 'Superb Hybrid', 'New Ida', and 'Gold Dust' tomatoes. *HortScience*. 27: 935-937.
- Peralta, I.E., Spooner, D.M.** 2007. History, origin and early cultivation of tomato (*Solanaceae*). pp 1-27. In: Genetic Improvement of Solanaceous Crops, Vol. 2: Tomato. M.K. Razdan and A.K. Mattoo (eds.), Science Publishers, Enfield, USA. Pimiento. Caracterización y Mejora genética. Tesis doctoral. Universidad Politécnica.
- Peralta, I.E., Knapp, S., Spooner, D.M.** 2005. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. *Systematic Botany*. 30 (2): 424-434.
- Petro-Turza, M.** 1987. Flavor of tomato and tomato products. *Food Review International*. 2 (3): 309-351.
- Phillips CL, Yeowell HN.** 1997. Vitamin C, collagen biosynthesis, and aging. Pp 205-230. En: Vitamin C in health and disease (eds. Packer L, Fuchs J.). Marcel Dekker Inc, New York, USA.
- Pickersgill, B.** 2007. Domestication of Plants in the Americas: Insights from Mendelian and Molecular Genetics. *Annals of Botany*. 100 (5): 925-940.
- Pietta, P.G.** 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63: 1035-1042.
- Powell, A.L.T., Nguyen, C.V., Hill, T., Cheng, K.L., Figueroa-Balderas, R., Aktas, H., Ashrafi, H., Pons, C., Fernández-Muñoz, R., Vicente, A., Lopez-Baltazar, J., Barry, C.S., Liu, Y., Chetelat, R., Granell, A., Van Deynze, A., Giovannoni J.J., Bennett, A.B.** 2012. *Uniform ripening* encodes a *Golden 2-like* transcription factor regulating tomato fruit chloroplast development. *Science*. 336:1711-1715.
- Quer, J.** 1762-1784. Flora española o Historia de las plantas que se crían en España. VI Vols. Ibarra, Madrid, España.
- Raffo, A., Leopardi, C., Fogliano, V., Ambrosino, P., Salucci, M., Gennaro, L., Bugianesi, R., Giufridda, F., Quaglia, G.** 2002. Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6550-6556.
- Ramaswamy, G., Krishnamoorthy, L.** 1996. Serum carotene, vitamin A, and vitamin C levels in breast cancer and cancer of the uterine cervix. *Nutrition and Cancer*. 25: 173-177.
- Rao, A.V., Rao, L.G.** 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*. 55: 207-216.
- Ratanachinakorn, B., Klieber, A., Simons, D.H.** 1997. Effect of shortterm controlled atmospheres and maturity on ripening and eating quality of tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*. 11: 149-154.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paaganga, G.** 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Science*. 2: 152-159.

- Rick, C.M.** 1973. Potential genetic resources in tomato species: Clues from observations in native habitats. In: A.M. Srb (Editor), *Genes, Enzymes and Populations*. Plenum, New York. pp. 255-269.
- Rick, C.M.** 1974. High soluble-solids content in large-fruited tomato lines derived from a wild greenfruited species. *Hilgardia*. 42: 493-510.
- Rick, C.M.** 1976. New combinations: *Im-Wom* and *hp-Ip*. Report of the Tomato Genetics Cooperative. 26: 15.
- Rick, C.M.** 1978. El tomate. *Investigación y Ciencia*. N°25: 45-55. (The tomato. *Scientific American*. 239(2): 76-87).
- Rick, C.M.** 1986. Germplasm resources in the wild tomato species. *Acta Horticulturae*. ISHS. 190: 39-48.
- Rick, C.M.** 1987. Seedling traits of primary trisomics. Report of the Tomato Genetics Cooperative. 37: 60-61.
- Rick, C.M.** 1995. Tomato – *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). In: *Evolution of Crop Plants*, J. Smartt and N.W. Simmonds, Eds (London: Longman Scientific & Technical), pp. 452-457.
- Rick, C.M., Butler, L.** 1956. Cytogenetics of the tomato. In: Demerec M, ed. *Advances in genetics*. Vol. 8. New York: Academic Press Inc. 267–382.
- Rick, C.M., Fobes, J.F.** 1975. Allozyme variation in the cultivated tomato and closely related species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 102: 376-384.
- Rick, C.M., Fobes, J.F., Holle, M.** 1977. Genetic variation in *Lycopersicon pimpinellifolium*: evidence of evolutionary change in mating systems. *Plant Systematics and Evolution*. 127: 139-170.
- Rick, C.M., Holle, M., Thorp, R.W.** 1978. Rates of cross-pollination in *Lycopersicon pimpinellifolium*: impact of genetic variation in floral characters. *Plant Systematics and Evolution*. 129: 31-44.
- Rick, C.M., Fobes, J.F., Tanksley, S.D.** 1979. Evolution of mating systems in *Lycopersicon hirsutum* as deduced from genetic variation in electrophoretic and morphological characters. *Plant Systematics and Evolution*. 132: 279-298.
- Robertson, L.D., Labate, J.A.** 2007. Genetic resources of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and wild relatives. A: Razdan MK i Mattoo AK eds. *Genetic Improvement of Solanaceous Crops. Volume 2: Tomato*. New Hampshire: Science Publishers.
- Rodriguez, G.R., Munos, S., Anderson, C., Sim, S.C., Michel, A., Causse, M., Gardener, B.B.M., Francis, D., van der Knaap, E.** 2011. Distribution of SUN, OVATE, LC, and FAS in the tomato germplasm and the relationship to fruit shape diversity. *Plant Physiology*. 156: 275-285.
- Ronen, G., Cohen, M., Zamir, D., Hirschberg, J.** 1999. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for lycopene

epsilon-cyclase is downregulated during ripening and is elevated in the mutant Delta. *The Plant Journal*. 17: 341–351.

Ronen, G., Carmel-Goren, L., Zamir, D., Hirschberg, J. 2000. An alternative pathway to beta-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of beta and old-gold color mutations in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 97: 11102-11107.

Roselló, S., Adalid, A.M., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F. 2011. Evaluation of the genotype, environment and their interaction on carotenoid and ascorbic acid accumulation in tomato germplasm. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91: 1014-1021.

Rosenthal, J.P., Welter, S.C. 1995. Tolerance to herbivory by a stem-boring caterpillar in architecturally distinct maize and wild relatives. *Oecologia*. 102: 146-155.

Ross, D.A. 1998. Vitamin A and public health, Challenges for the next decade. *Proceedings of the Nutrition Society*. 57: 159-165.

Rozin, P., Spranca, M., Krieger, Z., Neuhaus, R., Surillo, D., Swerdlin, A., Wood, K. 2004. Preference for natural: instrumental and ideational/moral motivations, and the contrast between foods and medicines. *Appetite*. 43: 147-154.

Ruiz, J.J., Valero, M., Garcia-Martinez, S., Serrano, M., Moral, R. 2006. Effect of recent genetic improvement on some analytical parameters of tomato fruit quality. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 37: 2647-2658.

Sawa, T., Nakao, M., Akaike, T., Ono, K., Maeda, H. 1999. Alkylperoxyl radical scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: Implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 397-402.

Schaffer, A.A., Petreikov, M., Miron, D., Fogelman, M., Spiegelman, M., Bnei-Moshe, Z., Shen, S., Granot, D., Hadas, R., Dai, N., Levin, I., Bar, M., Friedman, M., Pilowsky, M., Gilboa, N., Chen, L. 1999. Modification of carbohydrate content in developing tomato fruit. *HortScience*. 34: 1024-1027.

Schaffer, A.A., Levin, I., Oguz, I., Petreikov, M., Cincarevsky, F., Yeselson, Y., Shen, S., Gilboa, N., Bar, M. 2000. ADPglucose pyrophosphorylase activity and starch accumulation in immature tomato fruit: the effect of a *Lycopersicon hirsutum*-derived introgression encoding for the large subunit. *Plant Science*. 152: 135-144.

Senti, F.R., Rizek, R.L. 1975. Nutrient levels in horticultural crops. *HortScience*. 10: 243-246.

Shahidi, F., Wanasundara, P.K. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 32: 67-103.

Shao, A., Hathcock, J.N. 2006. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 45: 289-298.

Sharoni, Y., Linnewiel-Hermoni, K., Khanin, M., Salman, H., Veprik, A., Danilenko, M., Levy, J. 2012. Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*. 56:259-269.

- Shewfelt, R.L.** 1993. Measuring quality and maturity. P. 99-124. In: Shewfelt, R.L. and Prussia, E. (eds). Postharvest handling: A systems approach. Academic Press. San Diego, CA.
- Shewfelt, R.L.** 1999. What is quality? Postharvest Biology and Technology. 15: 197-200.
- Sink, Jr.K.C., Herner, R.C., Knowlton, L.L.** 1974. Chlorophyll and carotenoids of the rin tomato mutant. Canadian Journal of Botany. 52: 1657-1660.
- Smith, P.G.** 1950. Inheritance of brown and green mature color in peppers. Journal of Heredity. 41: 138-140.
- Sommer, A.** 1997. Vitamin A deficiency, child health, and survival. Nutrition. 13: 484-485.
- Spooner, D.M., Peralta, I.E., Knapp, S.** 2005. Comparison of AFLPs to other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.] Taxonomy. 54: 43-61.
- Stahl, W., Sies, H.** 1996. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? Archives of Biochemistry and Biophysics. 336: 1-9.
- Stevens, M.A.** 1986. Inheritance of tomato fruit quality components. Plant Breeding Reviews. 4: 273-311.
- Stevens, M.A., Rick, C.M.** 1986. Genetics and breeding. In: J.G. Atherton and J.Rudich [eds.], The tomato crop. Chapman and Hall, London. pp. 35-109.
- Stevens, M.A., Kader, A.A., Albright Holton, M., Algazi, M.** 1977. Genotypic variation for flavor and composition in fresh market tomatoes. Journal of American Society of Science. 102: 680-689.
- Steward, A.J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G.I., Lean, M.E., Crozier, A.** 2000. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48: 2663-2669.
- Stommel, J.R.** 2007. Genetic enhancement of tomato fruit nutritive value. In: Razdan, M.K., Matoo, A.K. (Eds.), Genetic Improvement of Solanaceous Crops 2. Science Publishers, Enfield, pp. 193-238.
- Stommel, J.R., Hayness, K.G.** 1993. Genetic control of fruit sugar accumulation in a *Lycopersicon esculentum* x *L.hirsutum* cross. Journal of American Society of Horticultural Science. 118: 859-863.
- Story, E.N., Kopec, R.E., Schwartz, S.J., Harris, G.K.** 2010. An Update on the Health Effects of Tomato Lycopene. Annual Review of Food Science and Technology. 1: 187-210.
- Sun-Waterhouse, D.** 2011. The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review. International Journal of Food Science & Technology. 46: 899-920.
- Tadmor, Y., Fridman, E., Gur, A., Larkov, E., Lastochkin, E., Ravid, U., Zamir, D., Lewinsohn, E.** 2002. Identification of malodorous, a wild species allele affecting tomato

aroma that was selected against during domestication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(7): 2005-2009.

Takahashi, S., Badger, M.R. 2011. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science*. 16: 53-60.

Tandon, K. S., Baldwin, E. A., Shewfelt, R. L. 2000. Aroma perception of individual volatile compounds in fresh tomatoes (*Lycopersicon esculentum*, Mill.) as affected by the medium of evaluation. *Postharvest biology and technology*. 20(3): 261-268.

Tandon, K.S., Baldwin, E.A., Scott, J.W., Shewfelt, R.L. 2003. Linking sensory descriptors to volatile and nonvolatile components of fresh tomato flavor. *Journal of Food Science* 68: 2366-2371.

Tang, L.L., Jin, T.Y., Zeng, X.B., Wang, J.S. 2005. Lycopene inhibits the growth of human androgenindependent prostate cancer cells in vitro and in BALB/c nude mice. *The Journal of Nutrition*. 135: 287-290.

Tanksley, S.D. 2004. The genetic, developmental and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *The Plant Cell Journal*. 16: 181-189.

Tanksley, S.D., Hewitt, J. 1988. Use of molecular markers in breeding for soluble solids content in tomato. *Theoretical and Applied Genetics*. 75 (5): 811-823.

Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B. 2008. Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 7: 1089-1099.

Tavani, A., La Vecchia, C. 1999. Beta-carotene and risk of coronary heart disease. A review of observational and intervention studies. *Biomed Pharmacother*. 53: 409-416.

Taylor, I.B. 1986. Biosystematics of the tomato. In: J.G.Atherton & J.Rudich (Editors). *The Tomato Crop: A Scientific Basis for Improvement*. Chapman and Hall. London.

Tee, E.S. 1992. Carotenoids and retinoids in human nutrition. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 31: 103-163.

Terzopoulos, P.J., Bebeli, P.J. 2008. DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae*. 116: 354-361.

Terzopoulos, P.J., Bebeli, P.J. 2010. Phenotypic diversity in Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae*. 126: 138-144.

Tessier, F., Moreaux, V., Birlouez-Aragon, I., Junes, P., Mondon, H. 1998. Decrease in vitamin C concentration in human lenses during cataract progression. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 68: 309-315.

Thakur, B.R., Singh, R.K., Nelson, P.E. 1996. Quality attributes of processed tomato products: a review. *Food Reviews International*. 12: 375-401.

Thomas, H., James, A.R. 1999. Partitioning of sugars in *Lolium perenne* (perennial ryegrass) during drought and on rewatering. *New Phytologist*. 142: 295-305.

Thompson, A.E., Tomes, M.L., Wann, E.V., McCollum, J.O.P., Stoner, A.K. 1965. Characterization of crimson tomato fruit color. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science*. 86: 610-616.

- Thompson, A.J., Tor, M., Barry, C.S., Vrebalov, J., Orfila, C., Jarvis, M.C., Giovannoni, J.J., Grierson, D., Seymour, G.B.** 1999. Molecular and genetic characterization of a novel pleiotropic tomatorepining mutant. *Plant Physiology*. 120: 383-389.
- Tigchelaar, E.C., Tomes, M.L.** 1974. "Caro-Rich" tomato. *Hort Science*. 9: 82.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S.** 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*. 418: 671-677.
- Tindall, H.D.** 1977. Vegetable Crops. (In: Leaky, C.L.A., Wills, J.B. (Eds.). *Food crops of the lowland tropics*. AVRDC, Tainan). 22-27.
- Tomes, M.L.** 1963. Temperature inhibition of carothene synthesis in tomato. *Bot. Gaz.* 124: 180-185.
- Tomes, M.L., Quackenbush, F.W.** 1958. Caro-Red, a new provitamin A rich tomato. *Advances in Economic Botany*. 12: 256-260.
- Traber, M.G., Sies, H.** 1996. Vitamin E in humans: demand and delivery. *Annual Review of Nutrition*. 16: 321-347.
- Tüzel, Y., Ul, M.A., Tüzel, I.H., Cockshull, K.E., Gul, A.** 1993. Effects of different irrigation intervals and rates on spring season glasshouse tomato production: II. Fruit quality. 2nd Symposium on Protected Cultivation of Solanacea in mild winter climates. Adana, Turkey. 366: 389-396.
- United Status Department of Agricultura.** 2002. Nutritive value of foods. *Home and Garden Bulletin*. 72.
- Valero, M.P., Fletcher, A.E., De Stavola, B.L., Vioque, J., Chaqués-Alepuz, V.** 2002. Vitamin C is associated with reduced risk of cataract in a Mediterranean population. *The Journal of Nutrition*. 132: 1299-1306.
- Van der Knaap, E., Tanksley, S.D.** 2001. Identification and characterization of a novel locus controlling early fruit development in tomato. *Theoretical and Applied Genetics*. 103: 353-358.
- Van der Knaap, E., Tanksley, S.D.** 2003. The making of a bell pepper-shaped tomato fruit: identification of loci controlling fruit morphology in Yellow Stuffer tomato. *Theoretical and Applied Genetics*. 107: 139-147.
- Van der Knaap, E., Lippman, Z.B., Tanksley, S.D.** 2002. Extremely elongated tomato fruit controlled by four quantitative trait loci with epistatic interactions. *Theoretical and Applied Genetics*. 104: 241-247.
- Van der Pols, J.C.** 1999. A possible role for vitamin C in age-related cataract. *Proceedings of the Nutrition Society*. 58: 295-301.
- Van Poppel, G., Goldbohm, R.A.** 1995. Epidemiological evidence for beta-carotene and cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition*. 62: 1393S-1402S.
- Verkeke, W., Janse, J., Kersten, M.** 1998. Instrumental measurement and modelling of tomato fruit taste. *Acta Horticulturae*. 456: 199-205.

- Villand, J., Skroch, P.W., Lai, T., Hanson, P., Kuo, C.G., Nienhuis, J.** 1998. Genetic variation among tomato accessions from primary and secondary centers of diversity. *Crop Science*. 38: 1339-1347.
- Villareal, R.L.** 1980. *Tomato in the Tropics*. Westview Press, Inc. Colorado.
- Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X., Zubik, L.** 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 46: 3630-3634.
- Vogel, J.T., Tieman, D.M., Sims, C.A., Odabasi, A.Z., Clark, D.G., Klee, H.J.** 2010. Carotenoid content impacts flavour acceptability in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of the Science and Food Agriculture*. 90: 2233-2240.
- Watada, A.E., Aulenbach, B.B., Worthington, J.T.** 1976. Vitamins A and C in ripe tomatoes as affected by stage of ripeness at harvest and by supplementary ethylene. *Journal of Food Science*. 41: 856-858.
- Webb, P.M., Bates, C.J., Palli, D., Forman, D.** 1997. Gastric cancer, gastritis and plasma vitamin C: Results from an international correlation and cross-sectional study. *International Journal of Cancer*. 73: 684-689.
- Williams, C.E., St. Clair, D.A.** 1993. Phenetic relationships and levels of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon esculentum*. *Genome*. 36: 619-630.
- Williams, D.E.** 1990. A review of resources for the study of nahuatl plant classification. *Advances in Economic Botany*. 8: 249-270.
- Willits, M.G., Kramer, C.M., Prata, R.T., De Luca, V., Potter, B.G., Steffens, J.C., Graser, G.** 2005. Utilization of the genetic resources of wild species to create a nontransgenic high flavonoid tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1231-1236.
- World Health Organization.** 2005. Vitamin A. 6 May, 2005. <http://www.who.int/vaccines/en/vitaminamain.shtml>
- Yates, H.E., Frary, A., Doganlar, S., Frampton, A., Eannetta, N.T., Uhlig, J., Tanksley, S.D.** 2004. Comparative fine mapping of fruit quality QTLs on chromosome 4 introgressions derived from two wild tomato species. *Euphytica*. 135: 283-296.
- Yi, S.S., Jatoi, S.A., Fujimura, T., Yamanaka, S., Watanabe, J., Watanabe, K.N.** 2008. Potential loss of unique genetic diversity in tomato landraces by genetic colonization of modern cultivars at a non-center of origin. *Plant Breeding*. 127: 189-196.
- Yiridoe, E.K., Bonti-Ankomah, S., Martin, R.C.** 2005. Comparison of consumer perceptions and preference toward organic versus conventionally produced foods: A review and update of the literature. *Renewable Agriculture and Food Systems*. 20: 193-205.
- You, W.C., Zhang, L., Gail, M.H., Chang, Y.S., Liu, W.D., Ma, J.L., Li, J.Y., Jin, M.L., Hu, Y.R., Yang C.S., Blaser, M.J., Correa, P., Blot, W.J., Fraumeni, J.F. Xu,**

G.W. 2000. Gastric dysplasia and gastric cancer: *Helicobacter pylori*, serum vitamin C, and other risk factors. *Journal of the National Cancer Institute*. 92: 1607-1612.

Zechmeister, L., LeRosen, A.L., Went, F.W., Pauling, L. 1941. Prolycopene, a naturally occurring stereoisomer of lycopene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 27: 468-474.

Zhang, Y., Stommel, J.R. 2000. RAPD and AFLP tagging and mapping of Beta (*B*) and Beta modifier (*MoB*), two genes which influence beta-carotene accumulation in fruit of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Theoretical Applied Genetics*. 100: 368-375.

Ziegler, R.G. 1989. A review of epidemiological evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. *Journal Nutrition*. 119: 116-122.

Ziegler, R.G., Mayne, S.T., Swanson, C.A. 1996. Nutrition and lung cancer. *Cancer Causes Control*. 7: 157-177.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Durante las últimas décadas diversos factores han condicionado que el consumidor perciba una pérdida de sabor en el tomate. Esta situación ha potenciado la comercialización de variedades tradicionales en mercados de calidad, en los que el consumidor está dispuesto a pagar un mayor precio que compense la menor producción de estos materiales, a cambio de recuperar el verdadero sabor del tomate.

En este contexto, y siguiendo el interés del consumidor y los intentos por potenciar la conservación de estos materiales se han sucedido estudios en toda Europa que evalúan las características de las variedades tradicionales ya sea a nivel morfo-agronómico, de calidad o molecular. Sin embargo muchas veces los estudios se centran en la evaluación de alguna característica aislada en pocas variedades o con pocas poblaciones por variedad

También siguiendo el éxito de las variedades tradicionales, se dan casos de fraude, en los que algunos agricultores tratan de aprovechar el mayor precio de venta vendiendo variedades comerciales mejoradas como si fueran tradicionales.

Con el objetivo de promover la conservación *in situ* en campo de las variedades tradicionales del levante español, es necesario conocer las características de estos materiales, evaluando las diferencias entre variedades y entre poblaciones dentro de variedad. Por otra parte, es necesario identificar un valor añadido que permita valorizar estos materiales, consolidando su presencia en los mercados de calidad. Para ello es necesario conocer tanto su calidad organoléptica como funcional, para identificar las poblaciones que destaquen por estos atributos. Finalmente será necesario disponer de herramientas que permitan discriminar entre materiales tradicionales y comerciales, y que en última instancia eviten fraudes en el mercado. Con esta meta en mente, los objetivos planteados en esta tesis han sido los siguientes:

- Caracterización morfo-agronómica de variedades tradicionales del levante español.
- Evaluación de la calidad organoléptica de variedades tradicionales del levante español, a través de la cuantificación de compuestos relacionados con el sabor.
- Evaluación de la calidad funcional de variedades tradicionales del levante español, considerando los contenidos en vitamina C, carotenoides y polifenoles.
- Caracterización molecular mediante marcadores SNP de variedades tradicionales del levante español.

Como resultado se han elaborado tres artículos destinados a publicaciones internacionales:

- *Characterization of eastern Spanish traditional varieties of tomato.*
- *The role of traditional varieties of tomato as sources of functional compounds.*

- *SNP markers applied to the characterization of Spanish tomato (*Solanum lycopersicum*) landraces.*

De los cuales el segundo ya ha sido publicado. Finalmente se incluyen en esta tesis los resultados preliminares de la evaluación de la calidad organoléptica a través de las actas correspondientes a dos congresos, uno nacional y otro internacional:

- *Análisis de la calidad organoléptica en variedades tradicionales y obsoletas de tomate*
- *Identification organoleptic and functional quality profiles in Spanish traditional varieties of tomato*

El segundo de los congresos se incluye con el objetivo de poder extrapolar los resultados observados en las variedades del levante español a una colección de variedades de distinta procedencia nacional.

Se ha optado por presentar los resultados a modo de capítulos, correspondientes a los textos de cada una de las publicaciones. Con el objetivo de integrar todos los resultados realizando un análisis integral de las características y potencial de las variedades tradicionales, se incluye una discusión general. Es difícil evitar redundancias siguiendo este esquema, pero una revisión final integradora permite aglutinar toda la información generada en el desarrollo de la tesis, ofreciendo un enfoque holístico del que carecen cada una de las partes.

3. DIVERSIDAD MORFO-AGRONÓMICA

Cortés-Olmos, C., Valcárcel, J.V., Roselló, J., Díez, M.J., Cebolla-Cornejo, J. 2014. Characterization of Eastern Spanish traditional varieties of tomato. (Enviado).

Characterization of Eastern Spanish traditional varieties of tomato

C. Cortés-Olmos¹⁺, J.V. Valcárcel¹⁺, J. Roselló¹, M.J. Díez¹, J. Cebolla-Cornejo^{1*}

¹ Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV).
Universitat Politècnica de València. Cno. de Vera, s.n. 46022. València. Spain.

² Estación Experimental Agraria de Carcaixent. Instituto Valenciano de Investigaciones Agriarias, IVIA.
C/ Partida Barranquet, s.n. 46740, Carcaixent, Spain.

⁺Equal contribution

*Corresponding author: +34-963879423; +34-963879422; jaicecor@btc.upv.es

Abstract

The variation present in traditional varieties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is not only interesting as a resource for the development of new breeding programs, but also as alternative materials targeted to high-price quality markets that value their exceptional organoleptic quality. Nevertheless, little is known regarding the structure of these materials. In this study, a collection of 166 populations of traditional varieties of tomato from the East coast of Spain has been thoroughly characterized, 137 of them during two years. The characterization revealed a considerable variation, partially due to possible seed mixing and spontaneous cross-pollination. It seems that after such events farmers would have applied strong selection on a small number of traits, but still a high level of intra varietal variability would have been maintained. This situation raises several problems in the use of tomato traditional varieties. First of all, their maintenance in quality markets requires a clear recognition by the consumer, which is incompatible with the level of morphological variation detected. Secondly, the registry of these materials as conservation varieties is also incompatible with the actual levels of variation. Therefore, a varietal depuration is required in order to promote *in situ* conservation of these resources. Finally, the high levels of variation in the intra-varietal scale may justify the collection and maintenance of more populations of the same variety as the risk of conserving duplicates would not be so high.

Additional keywords:

Genetic resources, breeding, genebank, *Solanum lycopersicum*

Resumen

Caracterización de variedades tradicionales de tomate del levante español

La variación presente en las variedades tradicionales de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) no solo es interesante como un recurso para el desarrollo de programas de mejora, sino también como un recurso alternativo destinado a mercados de calidad con precios de

venta elevados en los que se valora su excelente calidad organoléptica. A pesar de ello, se sigue sabiendo poco acerca de la estructura de estos materiales. En este estudio se ha caracterizado una colección de 166 poblaciones de variedades tradicionales de tomate de la costa este española, 137 de ellas durante dos años. La caracterización ha puesto de manifiesto una considerable variación posiblemente debida, en parte, a la mezcla de semillas y cruces espontáneos. Parece que tras estos eventos, los agricultores habrían efectuado una fuerte presión de selección en un número reducido de caracteres, pero aun así, cierto grado de variación intra-varietal se habría mantenido. Esta situación conlleva varios problemas en el uso de las variedades tradicionales de tomate. El primero es que su mantenimiento en mercados de calidad requiere un claro reconocimiento por parte del consumidor, que resulta incompatible con tanta variación morfológica. En segundo lugar, el registro de estos materiales como variedades de conservación es también incompatible con los niveles actuales de variación. Por tanto, es necesario llevar a cabo una depuración varietal con el objetivo de promover la conservación *in situ* de estos recursos. Finalmente el elevado grado de variación en el nivel intra-varietal podría justificar la colecta y conservación de más poblaciones de la misma variedad, ya que el riesgo de conservar duplicados no sería tan elevado.

Palabras clave adicionales:

Recursos genéticos, mejora genética, banco de genes, *Solanum lycopersicum*

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) was domesticated in Meso-America, probably in the area of Puebla and Veracruz in Mexico (Jenkins, 1948). It was taken by Spaniards to Europe, probably during the first half of 16th century, though unlike other crops such as pepper, there is no written proof of this migration. Mediterranean countries, such as Spain or Italy, were the first to accept the cultivation of this crop, probably because it offered ideal conditions for its cultivation, while it took considerably more time to be accepted in the rest of Europe.

The first written description of tomato in Europe appeared in the mid 16th century, when the Italian physician Matthioli reported the consumption of tomato in Italy; “fried with salt and pepper” (1544-1554). Certainly, the crop should have previously arrived to Spain, but the first report of the crop in this country appeared years later, in 1608, in a shopping list for the “Hospital de la Sangre” in Seville (Hamilton, 1976). Thus, it would probably had become a common vegetable by then. As a confirmation, Tirso de Molina (1635) made a reference to tomato salads in his play titled “El amor medico”.

It seems obvious then, that a considerable tomato diversity might have been generated in Spain, being this country the first step out of the centre of domestication and one of the first to accept it in the diet. In fact, Spain is considered as a secondary centre of diversity for tomato. Among the different traditional agricultural areas in Spain, the East coast and particularly Comunidad Valenciana has played a central role in the production of vegetables, including tomato. Few ancient reports of tomato cultivation are registered in

this area, though it is known that in the 18th century, the tomato was considered a basic ingredient in the diet and it was grown all the year round in Valencia (Gómez de Ortega, 1784).

During centuries of cultivation a great diversity was generated driven by the natural selection, aided with the artificial selection performed by farmers. As a consequence, numerous ecotypes were generated for different varieties representing a wide diversity of colors, shapes and sizes. This diversity is distributed in different levels. In the basic one, the selection performed by traditional farmers is similar to a mass selection process and tends to conform varieties as populations made up by mixtures of different genotypes with common external features. On a second scale, each farmer performed a different selection and thus, in each variety (defined by certain morphological attributes) there might be as many different populations as farmers cultivating them. Finally, different varieties were generated after all these years of cultivation.

But all this diversity rapidly declined during the 20th century linked to the industrialization of agriculture and the advance of plant breeding programs. During the 30s, the related wild species started to be used in order to introgress disease resistance genes (Rick and Chetelat, 1995) and in the 40s the first tomato hybrids were commercialized (Dorst, 1946) and a higher return to breeders boosted investments and consequently the success of modern varieties. Consequently, the process of varietal substitution gained speed during the second half of the century.

Thanks to the efforts made during the last decades some of this diversity has been collected and conserved in germplasm banks. The Spanish National Inventory contains 2.634 accessions of tomato conserved in different Spanish institutions, and among them 14.5% were collected in Comunidad Valenciana (source: <http://www.inia.es>).

Although several efforts have been made to characterize and organize these materials, very little is still known on the origin of these varieties or how these traditional varieties are structured. Regarding the first question, very little information is available. Older agronomical books do not describe the cultivated varieties but make reference to the name or to some shape variants. Even at the beginning of the 20th century, the national statistical reports refers only the types “red”, “big and early” (shipping), “common”, “ribbed”, “small” and “pear shaped” (Junta Consultiva Agronómica, 1914). Furthermore, several local names make only reference to the area of collection (e.g. the name of the town or county) or to its use (e.g. salad tomato). It is therefore very difficult to determine if the accessions, or populations, collected belong to a traditional variety or an obsolete variety or if all the accessions with the same local name belong effectively to the same variety.

In this context, the main objective of the present work was to characterize a considerable large set of populations belonging to traditional varieties typical of the East coast of Spain in order to further study how they are structured. This information would be of great value in the promotion of the on-farm conservation of this diversity as well as to provide new information for the management of germplasm banks.

Materials and methods

Plant material

A total of 166 populations of traditional varieties of tomato (*Solanum lycopersicon* L.) were characterized during the year 2009 (**table 1**). Most of them, 152, were provided by the germplasm bank of the Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV) and 14 were provided by the Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Four populations of representative traditional varieties were purchased in local nurseries as controls. As commercial references, four F1 hybrids kindly provided by Rijk Zwaan Iberica S.A. were included in the study representing different fruit sizes. “Razymo RZ” (figure code R) has round, red, medium-sized fruits, “Gransol RZ” (figure code G) slightly flattened, large-sized fruits”, “Piccota RZ” (figure code P) round, small-sized fruits and “Mariscal RZ” (figure code M) flattened, medium to large-sized fruits.

Several of the populations showed intense segregation and were not further characterized. Considering these results, a set of 137 populations, 4 populations obtained from local nurseries as controls and the 4 reference hybrids were finally characterized in a second assay during the year 2010 (**table 1**).

Table 1. Origin of the populations characterized and description of the traditional varieties evaluated (numbers within the parentheses indicate the code used for the representation in the figures: variety.accession; W.A.: Without previous clear adscription in passport data; segregants in the 2009 campaign are marked with *; populations re-adscribed from a different variety are indicated as ex-former variety code; VC: Valencia; AL: Alicante; CS: Castelló; LN: Local nursery)

Variety	Fruit description/populations (code, town, province)
Amarillo (1)	Description: Large sized flattened and ribbed yellow tomatoes with a high locule number (even more than 20). These tomatoes are typical of inland areas. Populations: CDP01733* (Casas Altas,VC) (1.1), CDP06618 (Casas Altas,VC) (1.2).
Centenares (2)	Description: Very small sized round fruits with intense red coloration. Populations: CDP08734 (Rincón de Ademuz,VC) (2.1).
Cuarenteno (3)	Description: Intermediate sized flattened ribbed fruits with green persistent shoulders. Early production. Populations: CDP07243 (Chelva,VC) (3.1), CDP07457 (Aldaya,VC) (3.2), CDP09667 (Torrente,VC) (3.3), CDP04955 (Rojales,AL) (3.4), CDP07499 (Sueca,VC) (3.5), CDP08237 (Massamagrell,VC) (3.6), CDP07843 (VC) (3.7), CDP01864 (ex W.A.) (Anna,VC) (3.8).
De colgar (4)	Description: Small sized round or oblong fruits with two or three locules. Transparent or yellow skin and thick pericarp. With delayed ripening (<i>alg</i>), they are harvested and conserved hanging in fresh and aerated places. Populations: CDP05385 (Torrebaja,VC) (4.1), CDP08528 (Sarratella,CS) (4.2), CDP05079 (Liria,VC) (4.3), CDP06914* (Náquera,VC) (4.4), CDP01507 (Benicarló,CS) (4.5), CDP01040 (ex W.A.) (Camporrobles,VC) (4.6), CDP04259* (ex W.A.) (Xàtiva,VC) (4.7), CDP03190 (La PLana,CS) (4.8), CDP02554* (Montroi,VC) (4.9), CDP01972 (Xàbia,AL) (4.10), CDP01025 (Viveros Cucala,LN) (4.11).
De la pera (5)	Description: Mid-sized pear shaped fruits with two or three locules. Thick pericarp and hollowness are common. Populations: CDP02614 (Chelva,VC) (5.1), CDP00210* (ex 6) (Novelda,AL) (5.2), CDP00906 (La Aparecida,AL) (5.3), CDP07874 (Orihuela,AL) (5.4).
De pera (6)	Description: Small sized round or oblong fruits. Usually used for cooking. Populations: CDP04299 (Hostalet de Benasal,CS) (6.1), CDP01280 (Ademuz,VC) (6.2), CDP00929 (ex W.A.) (Poble Nou,VC) (6.3), CDP06418 (ex W.A.) (Valencia,VC) (6.4).

Table 1 (Cont.). Origin of the populations characterized and description of the traditional varieties evaluated (numbers within the parentheses indicate the code used for the representation in the figures: variety.accession; W.A.: Without previous clear adscription in passport data; segregants in the 2009 campaign are marked with *; populations re-adscribed from a different variety are indicated as ex-former variety code; VC: Valencia; AL: Alicante; CS: Castelló; LN: Local nursery)

Variety	Fruit description/populations (code, town, province)
Elchero (7)	Description: Mid-sized red tomatoes with round shape and angular section. Usually slightly ribbed, with 2 or 3 locules. Populations: CDP07339 (Muchamiel,AL) (7.1).
Flor de baladre (8)	Description: Large sized slightly flattened ribbed fruits with pink colour. Populations: CDP04235* (Elche,AL) (8.1), CDP07166* (Valencia,VC) (8.2).
Gordo rojo (9)	Description: Very large sized flattened and ribbed fruits. Typical of inland areas. Populations: CDP05229 (ex "Marmande") (Viver,CS) (9.1), CDP02826* (ex W.A.) (Millares,VC) (9.2), CDP08786 (ex 17) (Arañuel,CS) (9.3), CDP06270 (ex W.A.) (Carcaixent,VC) (9.4), CDP06009 (ex W.A.) (Valencia,VC) (9.5).
Muchamiel (10)	Description: Large sized flattened and strongly ribbed fruits. With numerous locules, big peduncular scar and corky area and thick pericarp. Persistent green shoulders, orange-red ripe colour. It is a late variety. Populations: CDP05658 (Novelda,AL) (10.1), CDP04133 (La Aparecida,AL) (10.2), CDP00155* (Elche,AL) (10.3), CDP07582 (San Juan,AL) (10.4), CDP08091 (Campello,AL) (10.5), CDP01469 (San Juan,AL) (10.6), CDP08014 (San Juan,AL) (10.7), CDP01988 (Muchamiel,AL) (10.8), CDP09344 (Muchamiel,AL) (10.9), CDP02195 (Muchamiel,AL) (10.10), CDP08780 (Muchamiel,AL) (10.11), CDP08427 (Muchamiel,AL) (10.12), CDP07052 (Muchamiel,AL) (10.13), CDP08797 (Muchamiel,AL) (10.14), CDP04512 (Muchamiel,AL) (10.15), CDP05422 (Muchamiel,AL) (10.16), CDP00604 (Muchamiel,AL) (10.17), CDP03096 (Orihuela,AL) (10.18), CDP08048* (San Juan,AL) (10.19), CDP01971 (San Juan,AL) (10.20), CDP05938 (Alboraya,VC) (10.21), CDP01138 (San Juan,AL) (10.22), CDP01746 (Orihuela,AL) (10.23), CDP08999 (San Juan,AL) (10.24), CDP08761 (Catarroja,VC) (10.25), CDP09432 (Llíria,VC) (10.26).
Negro (11)	Description: Large sized flattened fruits with dark purple coloration. Populations: CDP02095* (ex W.A.) (Torrent,VC) (11.1).
Pimiento (12)	Description: Mid-sized elongated fruits (similar to "Italian" peppers) with intense red colour and green persistent shoulders, two to four locules and moderate radial cracking. Used for cooking. Populations: CDP06083* (Venta del Moro,VC) (12.1), CDP04079 (Jérica,CS) (12.2), CDP06446 (Fontaneres,VC) (12.3), CDP05734 (Villahermosa del Río,CS) (12.4), CDP01712 (Alborache,VC) (12.5), CDP09096 (Yátova,VC) (12.6), CDP04056 (Catarroja,VC) (12.7), CDP07194 (Moncada,VC) (12.8), CDP08320 (ex 3) (Massamagrell,VC) (12.9).
Raf (13)	Description: Derived from one of the first varieties with <i>Fusarium oxysporum lycopersici</i> resistance. Is an obsolete variety, not a real traditional variety. Intensely ribbed flat fruits with marked green shoulders. Populations: CDP00068 (Alicante, AL) (13.1).
Redondo rojo (14)	Description: Mid to large sized round red fruits. Populations: CDP07064* (ex 3) (Sueca,VC) (14.1), CDP04562 (ex W.A.) (Carcaixent,VC) (14.2).
Rosa (15)	Description: Very large sized flat fruits with variable levels of ribbing. Transparent skin and pink colour. Typical of inland areas. Populations: CDP02968* (Albocácer,CS) (15.1), CDP08690 (Fontaneres,VC) (15.2), CDP05702* (Castillo de Villamalefa,CS) (15.3), CDP04903 (Onda,CS) (15.4), CDP00764* (Aras del Alpente,VC) (15.5), CDP01302* (Rincón de Ademuz,VC) (15.6), CDP09459* (Yátova,VC) (15.7), CDP04904 (Alboraya,VC) (15.8), CDP05992* (Requena,VC) (15.9), CDP05438* (ex W.A.) (Cofrentes,VC) (15.10), CDP07166 (ex 8) (VC) (15.11), CDP07661 (Tudela,CS) (15.12), CDP03526 (Sellent,VC) (15.13), CDP04303 (ex W.A.) (Valencia,VC) (15.14), CDP04008 (ex W.A.) (Valencia,VC) (15.15).
Tres cantos (16)	Description: Large sized round red fruits with angular section. Populations: CDP06491 (ex W.A.) (Carcaixent,VC) (16.1)

Table 1 (Cont.). Origin of the populations characterized and description of the traditional varieties evaluated (numbers within the parentheses indicate the code used for the representation in the figures: variety.accession; W.A.: Without previous clear adscription in passport data; segregants in the 2009 campaign are marked with *; populations re-adscribed from a different variety are indicated as ex-former variety code; VC: Valencia; AL: Alicante; CS: Castelló; LN: Local nursery)

Variety	Fruit description/populations (code, town, province)
Valenciano (17)	<p>Description: Mid to large sized heart shaped fruits. Two subtypes can be found: "Mascler" (conventional "Valenciano" type) with smaller size and pronounced pointed shape and "Blanca" with a larger size and more flattened shape and paler colour in immature fruits. Both with green shoulders, variable green vertical stripes, orange-red ripe colour and numerous locules.</p> <p>Populations: CDP07303 (Valencia,VC) (17.1), CDP01509 (Sieta Aguas,VC) (17.2), CDP04333* (Picassent,VC) (17.3), CDP01090 (Segorbe,CS) (17.4), CDP00616 (Liria,VC) (17.5), CDP02722* (Segorbe,CS) (17.6), CDP07845* (Casas Altas,VC) (17.7), CDP05254 (Alboraya,VC) (17.8), CDP06161 (Villena,AL) (17.9), CDP05260 (Turis,VC) (17.10), CDP07291 (Valencia,VC) (17.11), CDP08276* (Sueca,VC) (17.12), CDP01343 (Foios,VC) (17.13), CDP00927 (Cullera,VC) (17.14), CDP04640 (Vinalesa,VC) (17.15), CDP00623 (Moncada,VC) (17.16), CDP04486 (L'Alcudia de Crespins,VC) (17.17), CDP06747 (Paterna,VC) (17.18), CDP04829 (Pobla de Vallbona,VC) (17.19), CDP09978 (VC) (17.20), CDP08151 (VC) (17.21), CDP02310 (ex W.A.) (Morella,CS) (17.22), CDP00450 (ex W.A.) (Poble Nou,VC) (17.23), CDP01313 (Sueca,VC) (17.24), CDP07489 (Segorbe,CS) (17.25), CDP00960 (Villargordo del Cabriel,VC) (17.26), CDP04423 (Museros,VC) (17.27), CDP04372* (Sieta Aguas,VC) (17.28), CDP07223 (Macastre,VC) (17.29), CDP02109 (VC) (17.30), CDP05333 (Almenara,CS) (17.31), CDP05691 (Vinaroz,CS) (17.32), CDP00142 (Valencia,VC) (17.33), CDP05729 (El Pereió,VC) (17.34), CDP01649 (Picassent,VC) (17.35), CDP01949 (Valencia,VC) (17.36), CDP08595* (ex W.A.) (Meliana,VC) (17.37), CDP02589* (ex W.A.) (Muro d'Alcoi,AL) (17.38), CDP04915 (ex W.A.) (Carcaixent,VC) (17.39), CDP02182 (Viveros Taxes,LN) (17.40), CDP04052 (Viveros Cucala,LN) (17.41), CDP06753 (Viveros Peris,LN) (17.42), CDP01197 (ex W.A.) (Valencia,VC) (17.43), CDP01646 (ex W.A.) (Valencia,VC) (17.44), CDP05266 (ex W.A.) (Valencia,VC) (17.45), CDP03596 (ex W.A.) (Valencia,VC) (17.46), CDP07231 (ex W.A.) (Valencia,VC) (17.47).</p>
Valenciano rosa (18)	<p>Description: Mid-sized heart shaped tomatoes similar to "Valenciano" but with pinkish colour.</p> <p>Populations: CDP04138* (ex 17) (Valencia,VC) (18.1).</p>

Crop Conduction and Experimental Design

The seedbeds were sown in April and were transplanted in May in 2009 and 2010. The crop was cultivated in a 5800 m² field located in Carcaixent (+39° 6' 37.13", -0° 26' 45.05", Valencia, Spain), surrounded by orange trees. There were no other vegetable crops grown in the proximities. The field was previously cleaned and fertilized with 36000 kg of sheep manure and 200 kg of potassium sulphate.

A randomized complete block design was used with two blocks, and 20 plants per population and block. A spacing of 1.2 m x 0.4 m (2.1 plants m⁻²) was applied. The crop was managed using the traditional practices for tomato cultivation in the area, including staking, pruning, and drip fertirrigation. To control *Tuta absoluta* population, traps were used and pesticide treatments were performed weekly depending on insect counts.

Morphoagronomic characterization

A group of 41 tomato descriptors (marked I-) from International Plant Genetic Resources Institute's guidelines (IPGRI, 1997) complemented with added descriptors selected considering previous experience with the crop (marked A-) were used to study the morpho-agronomical variation. The set of descriptors included one quantitative agronomical descriptor, five qualitative agronomical descriptors, 11 quantitative morphological descriptors and 24 qualitative morphological descriptors.

Qualitative descriptors were classified in scales from 1 to 7, generally 1 corresponding to extremely low intensity and 7 to extremely high intensity. The only quantitative agronomical descriptor was I-fruit weight (g). Qualitative agronomical descriptors included were: A-fruit conservation (conventional/long), I-plant growth type, A-plant vigour (1-7), I-radial cracking and I-concentric cracking. Quantitative morphological descriptors and their units of evaluation were: A- external ripe fruit color (Hunter a/b ratio), I- number of locules, I-fruit width (mm) and I-fruit height (mm), A-fruit width/fruit height ratio, A-core width (mm), A-core height (mm), A-core width/fruit width ratio, I-pericarp thickness (mm), A-pericarp thickness/fruit width ratio and A-approximate density (g mm^{-3}). Although the external color of ripe fruits was evaluated qualitatively, a quantitative estimation using Hunter coordinates (a/b rate) with a Minolta CR-300 colorimeter was also obtained (average of ten representative fruits and three determinations for each fruit).

Qualitative morphological descriptors used were: I-fruit cross-sectional shape, I-external ripe fruit color, I-skin color of ripe fruit, I-intensity of fruit ribbing, I-fruit shape, I-leaf type, I-stem pubescence, I-leaves attitude, I-foliage density, I-inflorescence type, A-presence of vegetative shoots in the inflorescence, A-flower fasciation, I-style position, I-external color of immature fruits, presence of green shoulders in A-mature and I-immature fruits, I-intensity of greenback, I-fruit shoulder shape, A-presence of green stripes in immature fruits, A-presence of green stripes in mature fruits, I-presence/absence of jointless pedicel, I-fruit blossom end shape, I-width of pedicel scar and I-shape of pistil scar.

Plant, flower and inflorescence characters were evaluated in each plant. Fruit characterization was performed using a pool of at least 20 fruits representing fruit variability of each block. The fruits were harvested at the mature-red stage, from the second to the third truss.

Statistical Analysis

A subset of 145 populations evaluated during both years were selected to study the structure and variability among varieties. This variation was analysed statistically using principal component analysis (PCA), which was performed with the software S-PLUS v. 8.01 for windows (Insightful Corp., 2002). The number of principal components to be included in the analysis of the results was determined following the criterion described by Krzanowski (2000). A first PCA was performed including all the variables. From this starting point, different PCA were obtained removing each time a different variable. Following this procedure, a final second PCA with 9 variables was obtained considering these criteria: maximum explanation of variance in the first two principal components and a distribution similar to that found in the complete PCA.

Phenotypic variation was calculated using different coefficients of variation. In each campaign three coefficients of variation at different levels were calculated. Results were finally expressed as the mean coefficient for both campaigns. Coefficient of variation of the whole collection (CCV) for a trait was calculated as the coefficient of variation among the mean values for the trait considering all the populations characterized. Intra-accession coefficient of variation (IACV) for a trait was calculated as the coefficient of variation of

the values obtained among the plants of a single accession. Mean IACV considering all the populations and maximum and minimum IACV were calculated. Intra-varietal (IVCV) coefficient of variation for a trait was calculated as the coefficient of variation of the means of the n populations of each variety. Mean coefficient of variation considering all the varieties and maximum and minimum IVCV were calculated. For each variety IACV and IVCV were calculated as the mean coefficient for all the traits.

Results

Out of the 166 populations characterized during the year 2009 (excluding the four varieties purchased in local nurseries), 136 corresponded to the expected variety, 23 populations did not have a specific local name during collection but showed the typical attributes of a certain variety and 7 of them did not correspond to the expected variety and were re-classified. Regarding segregation, of the whole set of 166 populations, 120 did not segregate and represented common features. From the remaining 46 populations, a 27.7% segregated, showing different fruit morphologies. From these 46 populations, 13 corresponded to populations that had been previously multiplied (mainly by collaborators of the COMAV genebank). Eight out of these 13 populations showed a continuous gradient of variation, and were probably originated by spontaneous crossings during multiplication. The other five showed a clearly differentiated sub-population structure and were probably originated as a consequence of seed mixing. Other 33 populations corresponded to original seed directly obtained from the farmer. Of these cases, a 39.4% of the populations showed a continuous gradient of variation and were probably originated after spontaneous crosses, 45.5% of the populations showed a clear differentiated sub-population structure with several differences between populations and 15.1% showed a clear differentiated sub-population structure only differing in a single trait (mainly fruit color pink or red). In those cases in which sub-populations could be distinguished, the sub-populations were collected separately generating new populations. These segregants were cultivated during 2010 in order to confirm if the variation was generated by seed mixing (and the sub-population would maintained its traits) or spontaneous crossings (and the sub-population would segregate again, unless the differences were due to a single gene and the selected population had the recessive phenotype. For example in the case of “Rosa” and “Gordo rojo” populations, the main difference between the subpopulations corresponded to a different skin color (transparent or yellow) and thus an external ripe color (pink or red).

Some of the varieties with a generic local name were ascribed to a known variety considering the site of collection and morphology. A set of 137 populations that did not segregate during 2009 or that included selected sub-populations of segregant populations, the four populations purchased from local nurseries and the four reference hybrids were also characterized during the year 2010. Considering the amount of traits used in the characterization, a principal component analysis was performed to analyse the structure of variation. The first two components, explaining a 37.8% of the total observed variation, were selected following the criterion described by Krzanowski (2000). The first component (PC1) accounted for 26.1% of this variation, being positively correlated with pericarp thickness/fruit width ratio and fruit shape and negatively correlated with fruit

width among other variables (**figure 1**). The second component (PC2) explained 11.7% of the total variation, being positively correlated with pericarp thickness, fruit width/fruit height ratio, style position, intensity of fruit ribbing and negatively correlated with fruit blossom end shape and fruit height among other variables.

A high morpho-agronomical variability was detected, both at inter-varietal and intra-varietal levels (**figure 2**). This high degree of variation was evident in the varieties “Cuarenteno”, “Gordo Rojo”, “Rosa” and “Muchamiel”, but was especially important in “De Colgar” and “Valenciano”, which showed the widest areas of distribution in the PCA. Nevertheless, most of the populations belonging to each variety tended to show some level of grouping in the PCA for most varieties. An extreme example of grouping could be found in the variety “Pimiento”. The populations of this variety were highly grouped and plotted separately from the rest of populations. The reason for this separation was the unusual elongated pepper shape, low number of locules, relatively thick pericarp, small core and high hollowness of the variety, characteristics related to its utilization for the preparation of cooked sauces.

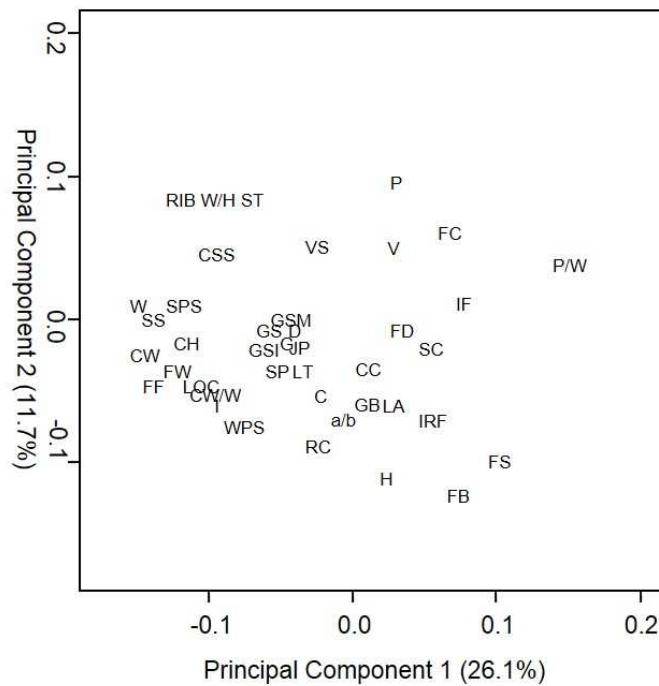


Figure 1. Loadings obtained for the first two principal components obtained in a principal component analysis using all the descriptors evaluated and the means obtained during two campaigns of characterization (FW: fruit weight, FC: fruit conservation, G: plant growth type, V: plant vigour, RC: radial cracking, CC: concentric cracking, C: external ripe fruit colour, a/b: Hunter a/b ratio, LOC: number of locules, W: fruit width, H: fruit height, W/H: fruit width/fruit height ratio, CW: core width, CH: core height, CW/W: core width/fruit width ratio, P: pericarp thickness, P/W: pericarp thickness/fruit width ratio, D: approximate density, CSS: fruit cross-sectional shape, IRF: internal ripe fruit colour, SC: skin colour of ripe fruit, RIB: intensity of fruit ribbing, S: fruit shape, LT: leaf type, SP: stem pubescence, LA: leaves attitude, FD: foliage density, I: inflorescence type, VS: presence of vegetative shoots in the inflorescence, FF: flower fasciation, ST: style position, IF: external colour of immature fruits, GS: presence of green shoulders, GB: intensity of greenback, SS: fruit shoulder shape, GSI: presence of green stripes in immature fruits, GSM: presence of green stripes in mature fruits, JP: presence/absence of jointless pedicel, FB: fruit blossom end shape, WPS: width of pedicel scar and SPS: shape of pistil scar).

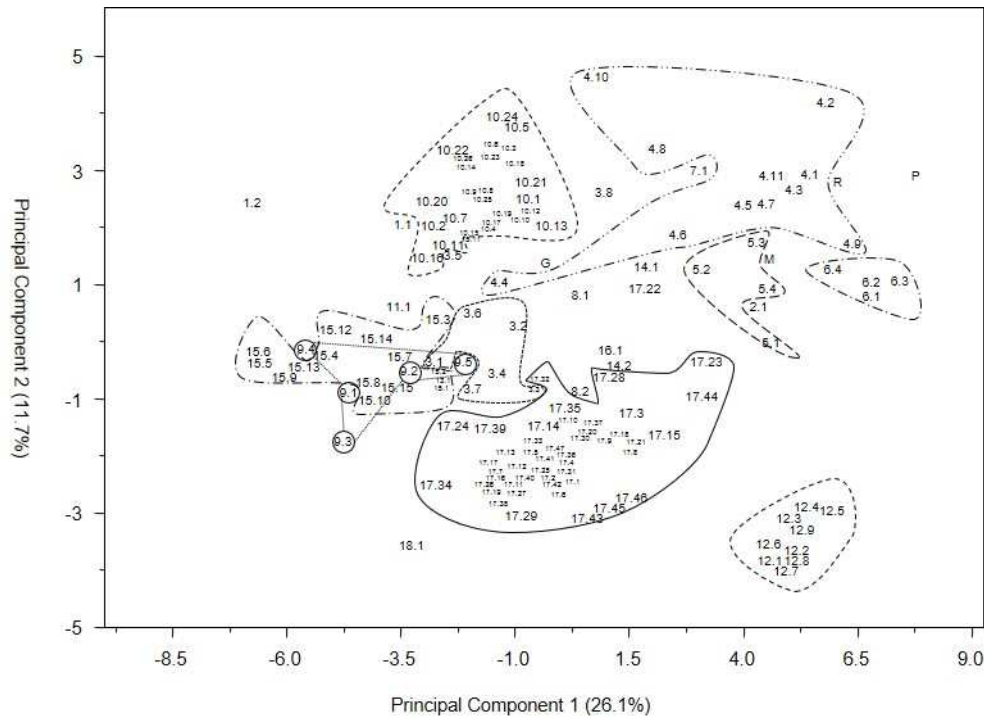


Figure 2. Plot of the first two principal components obtained in a Principal Component Analysis using all the descriptors evaluated and the means obtained during two years of characterization (in parentheses the percentage of variation explained by each component). Codes indicate variety (1: “Amarillo”; 2: “Centenares”; 3: “Cuarenteno”; 4: “De colgar”; 5: “De la pera”; 6: “De pera”; 7: “Elchero”; 8: “Flor de baladre”; 9: “Gordo rojo”; 10: “Muchamiel”; 11: “Negro”; 12: “Pimiento”; 13: “Raf”; 14: “Redondo rojo”; 15: “Rosa”; 16: “Tres cantos”; 17: “Valenciano”; 18: “Valenciano rosa”) and population.

Apart from this extreme case the rest of the populations formed a continuous distribution in the PCA, with some degree of overlap between the areas of distribution of different varieties. In fact, more differences could be found in several cases between populations of the same variety than among populations of different varieties. In the case of “Gordo-Rojo” and “Rosa” the populations were mixed in the same area of the PCA, sharing similar characteristics but with different color of the peel (yellow vs. transparent) and external color (red vs. pinkish).

In the case of the variety “De colgar” the populations evaluated tended to show high PC1 (most of the populations had small sizes) and PC2 values, but three populations escaped from the main group. Accession CDP06914 (figure code 4.4) was grouped with “Cuarenteno” tomatoes due to its slightly flattened shape, its bigger fruit size and its higher fruit weight, core width and locule number. Accession CDP01972 (figure code 4.10) showed flattened fruit shape, bigger fruit size, higher fruit weight and higher degree of ribbing. With these characteristics this accession plotted relatively close to “Muchamiel” tomatoes. Accession CDP02554 (figure code 4.9) showed a more elongated shape than the rest and was plotted close to populations of the variety “De pera”.

The two varieties with higher number of populations evaluated “Muchamiel” and “Valenciano” showed a central area of distribution with several populations grouped closely and other populations in the proximities. In the case of “Valenciano” the area of distribution was wider. It should be considered that in this variety farmers tend to

recognize to subtypes, being both heart-shaped. The subgroup “Masclat” is usually characterized by medium sized fruits with a more pointed shape, while “Blanca” typically shows less pointed and bigger sized fruits. Nevertheless, both subgroups could not be distinguished in this PCA nor in a separate PCA considering only this variety (data not shown), as the distribution of both of them was mixed.

The rest of the varieties, were mainly placed within the area delimited by the distribution of the varieties “Muchamiel” and “Valenciano” in PC2 and “Pera” and “Rosa” in PC1. This was the case of the variety “Cuarenteno”, an obsolete variety rather than a traditional variety with some resemblance with “Muchamiel” but with a lower intensity of ribbing and a less flattened shape.

A second PCA analysis was performed, reducing the number of variables to nine, representing traits easily identifiable by farmers. The first two components explained 70.9% of the total variation observed. The first component (PC1) accounted for 51.3% of this variation and was positively correlated with all variables except ripe fruit color (Hunter a/b) and fruit height (**figure 3**). The second component (PC2) explained the other 19.6%, and it was positively correlated with fruit height, ripe fruit color, and in a lower degree with fruit weight and core width/fruit width ratio. The PC2 was negatively correlated with fruit width/fruit height ratio and the intensity of ribbing.

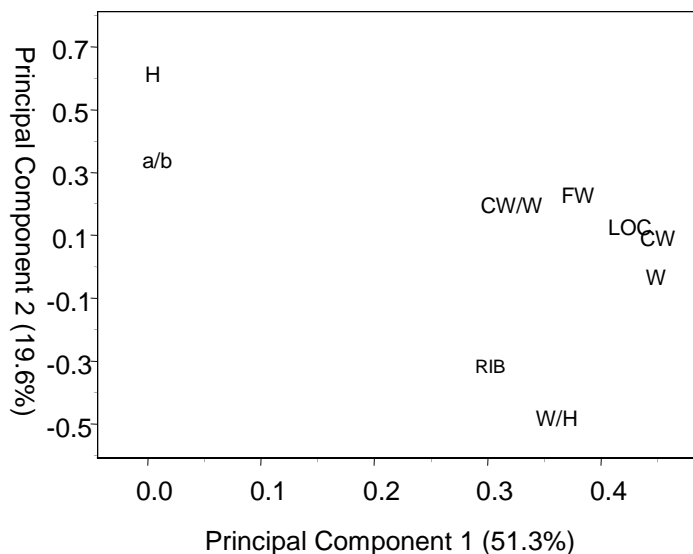


Figure 3. Loadings obtained for the first two principal components obtained in a principal component analysis using a reduced set of descriptors evaluated and the means obtained during two campaigns of characterization. (H: fruit height, a/b: Hunter a/b ratio, RIB: ribbing, W/H Fruit width to height ratio, W, fruit width, FW fruit weight, CW: fruit core width, LOC: number of locules, CW/W: core width to fruit width ratio).

In this second PCA the results were similar to those obtained with all the variables. In general, populations of the same variety tended to be plotted closely, though some overlap in the areas of distribution of different varieties could be observed and intra-variety variation seemed to be similar or even higher than inter-variety variation (**figure 4**). Again the areas of distribution of “Gordo-Rojo” and “Rosa” completely overlapped. Finally, the area of distribution of “Cuarenteno”, which in the complete PCA was placed between “Valenciano” and “Muchamiel”, this time appeared overlapped with “Muchamiel”.

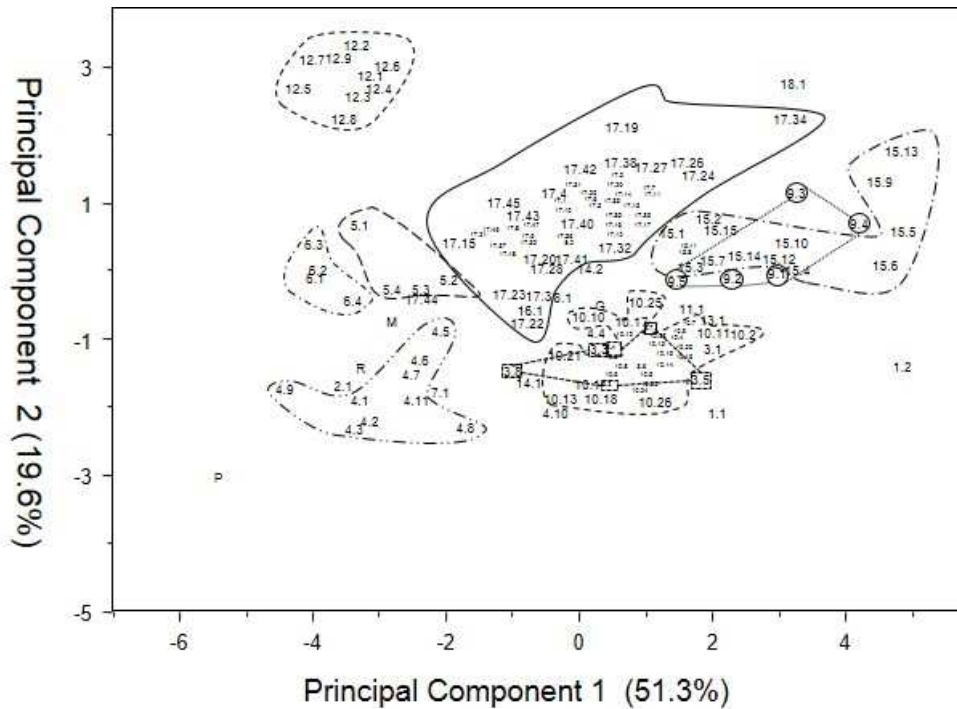


Figure 4. Plot of the first two principal components obtained in the principal component analysis performed using a reduced set of descriptors evaluated and the means obtained during two campaigns of characterization (in parentheses the percentage of variation explained by each component). Codes indicate variety (1: “Amarillo”; 2: “Centenares”; 3: “Cuarenteno”; 4: “De colgar”; 5: “De la pera”; 6: “De pera”; 7: “Elchero”; 8: “Flor de baladre”; 9: “Gordo rojo”; 10: “Muchamiel”; 11: “Negro”; 12: “Pimiento”; 13: “Raf”; 14: “Redondo rojo”; 15: “Rosa”; 16: “Tres cantos”; 17: “Valenciano”; 18: “Valenciano rosa”) and population.

In the collection, the lowest levels of variation (CCV) were obtained for vegetative traits: foliage density, leaf type, leaf position plant growth type, plant vigour and stem pubescence, as well as for relatively uniform fruit traits: external and internal ripe fruit color, jointless pedicel and pericarp thickness (**table 2**).

In general, the variation found within populations (IACV) was similar or lower than the one observed within a variety (IVCV). IACV was lower than 0.2 in 28 traits, while IVCV was lower than 0.2 in 18 traits. Vegetative traits showed low values of variation at the three levels (CCV, IACV and IVCV). Other traits with low levels of variation included external color of ripe fruits (visual classification), internal fruit color (visual classification), pericarp thickness, skin color of ripe fruit and core width to fruit width ratio (**table 2**).

In the case of “Valenciano”, used as a model for intra-variety variation, the traits showing the lowest levels of variation (IACV and IVCV) again included vegetative traits and fruit color parameters estimated visually (**table 3**). On the other hand, the traits with higher level of variation included the presence of green stripes fruit cracking and the presence of vegetative shoots in the inflorescence, both within and between populations. Although fruit conservation was completely stable within populations, it was very variable between populations. Fruit width and height showed a low variation compared to fruit weight,

number of locules and to fruit width to height ratio. Pericarp thickness was also quite stable.

Considering all the varieties analysed, the variability found within the accessions (IACV) was lower than the variability found among the means of the accessions (IVCV) belonging to the variety (**table 4**). The IACV obtained for traditional varieties was in general higher than the obtained in the hybrid controls. Nevertheless similar values were obtained in the varieties “De la pera”, “Flor de baladre” and “Valenciano rosa”. The highest values of IVCV were obtained in “Rosa”, “Valenciano”, “Gordo rojo”, “De colgar” and “Cuarenteno”.

Table 2. Variability found in the traits characterized, including coefficient of variation of the whole collection (CCV), mean intra-accession coefficient of variation (IACV) and intra-varietal coefficient of variation (IVCV). Values obtained as the mean coefficients for two years (2009 and 2010).

Trait	CCV ¹	IACV ²			IVCV ³		
	Mean	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Approximate density	0,23±0,16	0,21±0,11	0,00	0,57	0,12±0,07	0,01	0,75
Concentric cracking	1,12±0,24	0,72±0,59	0,00	3,08	1,16±0,22	0,00	2,52
Core height	0,32±0,00	0,27±0,02	0,00	0,54	0,23±0,08	0,01	0,49
Core width	0,43±0,11	0,30±0,04	0,00	0,59	0,27±0,03	0,07	0,86
Core width/fruit width ratio	0,22±0,02	0,18±0,06	0,00	0,68	0,14±0,06	0,01	0,27
External color of immature fruits	0,38±0,14	0,15±0,07	0,00	0,77	0,25±0,08	0,00	0,64
External ripe fruit color	0,15±0,02	0,05±0,02	0,00	0,26	0,07±0,03	0,00	0,17
Flower fasciation	0,59±0,34	0,17±0,04	0,00	1,90	0,50±0,39	0,00	1,79
Foliage density	0,09±0,01	0,02±0,01	0,00	0,13	0,08±0,02	0,00	0,33
Fruit blossom end shape	0,31±0,01	0,11±0,02	0,00	0,49	0,23±0,01	0,00	0,47
External ripe fruit color	0,29±0,03	0,27±0,04	0,00	1,97	0,20±0,07	0,05	0,71
Fruit conservation	4,09±0,00	0,00±0,00	0,00	0,00	0,27±0,00	0,00	3,87
Fruit cross-sectional shape	0,45±0,07	0,04±0,04	0,00	0,26	0,33±0,03	0,00	0,58
Fruit height	0,24±0,01	0,10±0,00	0,00	0,27	0,13±0,05	0,01	0,35
Fruit shape	0,67±0,01	0,14±0,06	0,00	0,73	0,36±0,13	0,00	0,75
Fruit shoulder shape	0,26±0,00	0,10±0,05	0,00	0,35	0,19±0,04	0,00	0,40
Fruit weight	0,40±0,02	0,24±0,02	0,00	0,39	0,29±0,09	0,04	0,51
Fruit width	0,20±0,01	0,10±0,00	0,00	0,25	0,12±0,05	0,00	0,25
Fruit width/fruit height ratio	0,40±0,14	0,23±0,12	0,00	0,59	0,22±0,02	0,01	0,86
Inflorescence type	0,29±0,05	0,17±0,04	0,00	0,55	0,24±0,08	0,00	0,47
Intensity of fruit ribbing	0,53±0,08	0,16±0,09	0,00	0,60	0,35±0,05	0,00	0,85
Internal ripe fruit color	0,13±0,01	0,01±0,01	0,00	0,10	0,08±0,03	0,00	0,22
Leaf type	0,04±0,00	0,00±0,00	0,00	0,01	0,02±0,01	0,00	0,18
Leaves attitude	0,16±0,00	0,02±0,01	0,00	0,17	0,15±0,02	0,00	0,24
Number of locules	0,42±0,02	0,24±0,02	0,00	0,52	0,26±0,09	0,01	0,73
Pericarp thickness	0,13±0,04	0,18±0,02	0,00	0,36	0,10±0,02	0,00	0,21
Pericarp thickness/fruit width ratio	0,20±0,08	0,15±0,04	0,00	0,38	0,13±0,08	0,01	0,41
Plant growth type	0,14±0,00	0,01±0,00	0,00	0,14	0,08±0,02	0,00	0,40
Plant vigour	0,10±0,00	0,04±0,00	0,00	0,35	0,07±0,00	0,00	0,26
Presence of geen stripes in immature fruits	1,03±0,17	0,70±0,35	0,00	2,45	0,94±0,19	0,00	2,83
Presence of green shoulders in immature fruits	0,31±0,01	0,11±0,03	0,00	0,44	0,26±0,04	0,00	0,76
Presence of green shoulders in mature fruits	0,30±0,01	0,15±0,07	0,00	0,94	0,33±0,01	0,00	1,15
Presence of green stripes in mature fruits	1,91±0,99	0,34±0,04	0,00	1,61	1,04±0,23	0,00	3,87
Presence of vegetative shoots in the inflorescence	1,78±0,01	0,61±0,05	0,00	4,58	1,36±0,02	0,00	3,00
Presence/absence of jointless pedicel	0,11±0,01	0,00±0,00	0,00	0,09	0,06±0,04	0,00	1,15
Radial cracking	0,62±0,11	0,60±0,54	0,00	4,47	0,67±0,20	0,19	1,41
Shape of pistil scar	0,35±0,04	0,22±0,04	0,00	0,73	0,33±0,12	0,03	0,76
Skin color of ripe fruit	0,21±0,01	0,01±0,01	0,00	0,17	0,09±0,05	0,00	0,38
Stem pubescence	0,15±0,06	0,04±0,00	0,00	0,24	0,12±0,06	0,00	0,35
Style position	0,46±0,02	0,09±0,01	0,00	0,47	0,34±0,03	0,00	0,48
Width of pedicel scar	0,27±0,03	0,07±0,04	0,00	0,39	0,18±0,06	0,00	0,47

¹Coefficient of variation of the whole collection (CCV): coefficient of variation among the mean values for the trait considering all the populations characterized.

²Intra-accession coefficient of variation (IACV): coefficient of variation of the values obtained among the plants of a single accession.

³Intra-varietal coefficient of variation (IVCV): coefficient of variation of the means of the n populations of each variety.

Table 3. Variability found in the variety “Valenciano” for the traits characterized, including intra-accession coefficient of variation (IACV) and intra-varietal coefficient of variation (IVCV). Values obtained as the mean coefficients (2009 and 2010).

Trait	IACV ¹			IVCV ²		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Approximate density	0,22±0,08	0,14	0,31	0,13±0,03	0,09	0,16
Concentric cracking	0,76±0,76	0,00	1,53	0,83±0,20	0,63	1,03
Core height	0,29±0,04	0,25	0,34	0,23±0,07	0,16	0,30
Core width	0,30±0,03	0,27	0,33	0,25±0,05	0,20	0,30
Core width/fruit width ratio	0,18±0,07	0,12	0,25	0,13±0,04	0,09	0,18
External color of immature fruits	0,15±0,01	0,14	0,16	0,35±0,13	0,22	0,48
External ripe fruit color	0,03±0,00	0,03	0,03	0,08±0,04	0,05	0,12
Flower fasciation	0,21±0,08	0,12	0,29	0,39±0,21	0,19	0,60
Foliage density	0,00±0,00	0,00	0,01	0,07±0,01	0,06	0,08
Fruit blossom end shape	0,09±0,05	0,03	0,14	0,19±0,03	0,16	0,22
External ripe fruit color (Hunter a/b ratio)	0,22±0,01	0,20	0,23	0,20±0,10	0,10	0,30
Fruit conservation	0,00±0,00	0,00	0,00	3,87±0,00	3,87	3,87
Fruit cross-sectional shape	0,06±0,06	0,00	0,13	0,25±0,10	0,14	0,35
Fruit height	0,11±0,01	0,10	0,12	0,15±0,07	0,09	0,22
Fruit shape	0,09±0,05	0,04	0,14	0,42±0,19	0,23	0,61
Fruit shoulder shape	0,10±0,07	0,04	0,17	0,20±0,02	0,18	0,22
Fruit weight	0,27±0,03	0,25	0,30	0,28±0,08	0,19	0,36
Fruit width	0,11±0,00	0,11	0,12	0,14±0,06	0,08	0,19
Fruit width/fruit height ratio	0,23±0,10	0,13	0,33	0,24±0,04	0,20	0,28
Inflorescence type	0,15±0,04	0,11	0,18	0,25±0,05	0,20	0,30
Intensity of fruit ribbing	0,22±0,11	0,11	0,32	0,42±0,04	0,38	0,45
Internal ripe fruit color	0,01±0,01	0,00	0,02	0,04±0,04	0,00	0,09
Leaf type	0,00±0,00	0,00	0,01	0,01±0,01	0,00	0,02
Leaves attitude	0,04±0,02	0,03	0,06	0,14±0,01	0,13	0,16
Number of locules	0,25±0,02	0,23	0,28	0,27±0,08	0,20	0,35
Pericarp thickness	0,20±0,03	0,17	0,23	0,08±0,01	0,07	0,09
Pericarp thickness/fruit width ratio	0,17±0,01	0,16	0,19	0,22±0,02	0,20	0,24
Plant growth type	0,04±0,01	0,03	0,05	0,09±0,02	0,07	0,11
Plant vigour	0,01±0,00	0,01	0,01	0,07±0,02	0,05	0,09
Presence of geen stripes in immature fruits	0,89±0,18	0,71	1,07	0,98±0,26	0,71	1,24
Presence of green shoulders in immature fruits	0,06±0,03	0,03	0,09	0,28±0,01	0,27	0,30
Presence of green shoulders in mature fruits	0,19±0,09	0,10	0,29	0,28±0,02	0,26	0,30
Presence of green stripes in mature fruits	0,50±0,07	0,43	0,58	1,68±1,04	0,64	2,73
Presence of vegetative shoots in the inflorescence	0,67±0,50	0,18	1,17	2,20±0,61	1,59	2,80
Presence/absence of jointless pedicel	0,00±0,00	0,00	0,00	0,00±0,00	0,00	0,00
Radial cracking	0,40±0,40	0,00	0,80	0,35±0,03	0,32	0,38
Shape of pistil scar	0,22±0,12	0,11	0,34	0,25±0,10	0,15	0,35
Skin color of ripe fruit	0,01±0,01	0,00	0,02	0,13±0,13	0,00	0,26
Stem pubescence	0,03±0,01	0,02	0,04	0,12±0,05	0,07	0,17
Style position	0,07±0,01	0,06	0,09	0,34±0,01	0,34	0,35
Width of pedicel scar	0,13±0,06	0,07	0,19	0,19±0,06	0,13	0,25

¹Collection coefficient of variation (CCV): coefficient of variation among the mean values for the trait considering all the populations characterized.

²Intra-accession coefficient of variation (IACV): coefficient of variation of the values obtained among the plants of a single accession.

³Intra-varietal coefficient of variation (IVCV): coefficient of variation of the means of the n populations of a variety.

Table 4. Variability found in the varieties characterized, including intra-accession coefficient of variation (IACV) and intra-varietal coefficient of variation (IVCV). Values expressed as the mean (for all the traits) ± standard deviation for both years.

Variety	IACV ¹		IVCV ²	
	Mean	Max	Mean	Max
“Amarillo”	0,22±0,04	2,27	0,18±0,02	1,41
“Centenares”	0,16±0,03	1,57	-	-
“Cuarenteno”	0,16±0,00	1,31	0,35±0,02	2,83
“De colgar”	0,17±0,00	1,01	0,36±0,00	2,02
“De la pera”	0,11±0,04	0,98	0,26±0,07	2,00
“De pera”	0,15±0,04	2,45	0,27±0,03	2,00

¹Intra-accession coefficient of variation (IACV): coefficient of variation of the values obtained among the plants of a single accession.

²Intra-varietal coefficient of variation (IVCV): coefficient of variation of the means of the n populations of a variety.

Table 4 (Cont.). Variability found in the varieties characterized, including intra-accession coefficient of variation (IACV) and intra-varietal coefficient of variation (IVCV). Values expressed as the mean (for all the traits) \pm standard deviation for both years.

Variety	IACV ¹		IVCV ²	
	Mean	Max	Variety	Mean
"Elchero"	0,18 \pm 0,02	4,47	-	-
"Flor de baladre"	0,13 \pm 0,03	1,08	0,17 \pm 0,03	1,41
"Gordo rojo"	0,16 \pm 0,00	0,91	0,37 \pm 0,06	2,24
"Muchamiel"	0,22 \pm 0,03	1,50	0,32 \pm 0,04	2,88
"Negro"	0,28 \pm 0,04	4,58	-	-
"Pimiento"	0,21 \pm 0,06	1,61	0,32 \pm 0,03	3,00
"Redondo rojo"	0,18 \pm 0,00	1,65	0,26 \pm 0,09	1,41
"Rosa"	0,17 \pm 0,02	1,58	0,42 \pm 0,16	3,87
"Tres cantos"	0,17 \pm 0,05	3,08	0,00 \pm 0,00	0,00
"Valenciano"	0,19 \pm 0,00	1,53	0,41 \pm 0,08	3,87
"Valenciano rosa"	0,11 \pm 0,08	2,05	-	-
"Raf"	0,26 \pm 0,10	2,80	-	-
Hybrid controls	0,11 \pm 0,02	1,32	0,32 \pm 0,02	2,00

¹Intra-accession coefficient of variation (IACV): coefficient of variation of the values obtained among the plants of a single accession.

²Intra-varietal coefficient of variation (IVCV): coefficient of variation of the means of the *n* populations of a variety.

Discussion

As a secondary center of diversity, Spain counts with a rich diversity reflected in the wide range of variation of the collection of populations of traditional varieties or landraces evaluated in this work. Despite the level of diversity, a restricted amount of information is known about the structure of traditional varieties. The records available in passport data of the main Spanish collections, as the Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, COMAV, show that in a considerable number of cases the traditional materials collected lack a specific varietal name, or that materials collected at distinct places share the same name (which usually refers to external features such as color or the culinary use). This inconsistency in varietal designation applies also to other crops and areas, such as Cassava in South America (Salick *et al.* 1997). But, in these cases, it is still possible to reclassify these materials in order to provide a better organization of the accessions maintained in genebanks. In fact, the characterization performed in this work revealed that, considering the fruit morphology and site of collection, some of the materials with a generic name, e.g. "tomato" or "salad tomato", could be ascribed to a certain variety.

Another problem that adds difficulties in the analysis of the structure of traditional varieties is the existence of segregating populations. In fact, in this work segregation has been observed in several populations. Although in some cases the segregation was probably caused during conservation procedures (although seed mixing previous to collection cannot be ruled out), in most cases, segregants were identified in original seed lots. Obviously, in these cases, the cause of the segregation observed should have happened before the collection. Segregating or seed mixture populations have also been found in tomato traditional varieties in other areas, for example in the variety "Corbarino" from Italy (Andreakis *et al.*, 2004), though in that case it remained unclear if that situation arose during the conservation process in the genebank or previously.

In our opinion, those cases in which sub-population structure could be identified would probably be originated as a consequence of seed exchange between farmers and seed mixing. This would explain how it was possible to clearly differentiate groups of plants within some of the populations. These cases could be easily depurated, recovering seed on a per-plant basis.

Seed exchange and mixing is quite usual among farmers. In some cases, new varieties are obtained from other farmers and in other occasions the seed exchange is related to seed degeneration. In previous works based on prospections, farmers held the idea that seed degenerates. In order to obtain “fresh materials”, seeds of the same variety from neighbour farmers are obtained, and eventually seeds from different origins get mixed (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007). Terzopoulos and Bebeli (2010) observed in the morphological characterization of Greek tomato landraces that the major part of genotypic variation was found within landraces, especially in fruit traits. They also suggested seed exchange between farmers as key explanation for the high level of variation observed. This idea of seed degeneration and replacement is not restricted to this region, and it has also been reported in other European countries and in other crops (Zeven, 1999).

In other cases, such as the case of the mixes of “Rosa” and “Gordo rojo”, the subpopulations could have originated either from seed mixing of different varieties or as spontaneous crosses between these two varieties being grown simultaneously. These varieties have populations of large and medium-sized fruits and generally the difference between them lies in the pink or red external color (due to the transparent or yellow skin color respectively). The mutation *yellow* (*y*) determines the colorless skin color in tomato and it is controlled by a gene coding a transcription factor that results in the lack of the ripening-dependent accumulation of the yellow-colored flavonoid naringenin chalcone in the fruit peel, while carotenoid levels are not affected (Ballester *et al.*, 2010). Therefore, considering that the main difference between the varieties relies in a single gene, when a spontaneous cross between them occurred it would be easy to distinguish two subpopulations in the progeny. These populations can be depurated, as a simple segregation is expected and using single plant selections, the populations can be fixed in two or three generations.

In other cases, where a continuous gradient of variation is identified within the population, it would be due to spontaneous crossings between different varieties that had been grown at the same time. These cases might not be depurated, as a continuous segregation is expected in the flowing generations.

Considering non-segregating populations, the great variability observed in some varieties such as the variety “De colgar” (also known as “De penjar”) was expected. In this particular case, the variety usually includes fruits with different shapes, sizes (though usually small) and colors, but with the common traits of delayed ripening and long shelf life. It has been recently proved that this delayed ripening is due to the *alcobaça* (*alc*) mutation, which corresponds to an allele of the *non-ripening*, *nor*, gene (Casals *et al.*, 2012). It seems that this allele would have been accidentally introgressed in different genetic backgrounds following spontaneous crossings and that the farmers would have applied a strong selection for the delayed ripening trait. As a side effect, selection would

probably have resulted in small fruit size as this feature is correlated with of long shelf life. Consequently, a great level of variation would be expected, and in fact was found, in morpho-agronomical traits among the populations of this variety.

In other cases, such as in the case of “Rosa” or “Gordo rojo”, apart from the possible existence of spontaneous crossings between them, the variability would also be related with their geographical distribution. Unlike other cases such as “Muchamiel” or “Valenciano” with a clear and restricted geographical distribution, the former varieties are typical of inland cultivation of tomato and have a wider distribution of the cultivation area. In those cases, selections for different fruit sizes and fruit ribbing could have occurred. Nonetheless, the variation found considering all the traits analysed in the accessions of the same variety (IVCV) was similar for “Valenciano” and “Rosa”.

Considering all the results, the structure of traditional varieties of tomato characterized seems more complex than previously expected. A high degree of variation is found on intra-population and intra-varietal basis. It seems that spontaneous crossings and seed mixing are relatively frequent. Despite being a self-pollinating species, spontaneous cross-pollination rates in tomato can reach 2-4%, but in high temperature conditions style exertion is promoted (Levy *et al.*, 1978, Dorais *et al.*, 2001) and this rate may increase. Additionally, there is genotype dependence on the trait (Lesley, 1924) and in the case of the traditional varieties assayed style exertion was detected in several populations. In the case of traditional varieties of tomato, most part of the farmers that still maintain these materials tend to grow together a low number of plants of different species and varieties. In fact, a survey carried out in the area proved that most part of the smallholdings maintaining traditional varieties had less than 40 plants of tomato (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007). In these cases, the proximity of plants of different varieties and spontaneous cross-pollination would facilitate segregation in their progeny.

After natural cross-pollination events, farmers would apply strong selection on the progeny, especially in the main features that identify a certain variety. The different selection performed by different farmers would lead to a high degree of intra-varietal diversity, higher than intra-accession variability. Consequently, a wide dispersion of populations of the same variety would be expected in a PCA with morpho-agronomic traits, as it was observed in this work. In a more detailed analysis using only two Spanish varieties “Pera de Girona” and “Monsterrat”, Casals *et al.* (2011) also concluded that traditional varieties might be differentiated in a very reduced number of morphological traits (four in that case) with a strong selection pressure in the key ones (one in that case). The restricted number of traits defining these materials seems comparable to other crops. Cleveland *et al.* (2000), in the analysis of farmer’s plant breeding strategies concluded that the number of traits that define a varietal type might be quite reduced. For example, in the case of maize it would include grain type, grain form and cob and husk color.

In our case, a selection of 9 traits out of 41 still maintained a differentiation of varietal groups. It seems that fruit size, shape, ribbing and color are essential characteristics for the definition of a variety, though a high degree of variation would be found in the continuous measurement of these traits within the same variety. A lower variation would be expected in traits not usually considered by farmers during selection as in vegetative traits, while higher variation would be expected in fruit traits. The results obtained

confirm this trends. In the case of “Valenciano” it was observed that although the variety is defined by the heart-shape of its fruits, a relatively high variation is found in traits related with fruit size (fruit weight, number of locules), shape (fruit width to height ratio) appearance (green stripes) or agronomic performance (cracking or presence of vegetative shoots in inflorescences). Additionally, although farmers recognize the “Masclet” and “Blanca” subtypes, it is difficult to differentiate them in a PCA, considering the high level of continuous variation for both groups.

In this sense, the high selection pressure on certain traits defining a variety would still generate some variation if different states of these traits are selected with different purposes or areas of cultivation. In this sense, the heterogeneity even in fruit shapes within the same variety seems to be quite spread. For example, the Greek variety “Santorini” shows different morphologies depending on the use given: rounded for juice and preserves, and flattened fruits for producing sun-dried tomatoes (Terzopoulos and Bebeli, 2010). Similarly, in the case of the Italian traditional variety “A pera Abruzzese” Mazzucato *et al.* (2010) observed predominantly round fruits, but also flattened and obovoid fruits in a considerable number of cases (20 and 24% respectively).

In the context of the management of *ex situ* collections of genetic resources in germplasm banks this structure leads to the following question: To what extent should continue the collection of a certain traditional variety? Our results show that populations collected in relatively close sites, with the same local name and certain common characteristics, still differ considerably. Therefore, it cannot be strictly considered as duplicates as their conservations still enables the conservation of different traits. In fact our results indicate that it would be necessary to carefully prospect each traditional variety in order to acquire a representative sample of the intra-varietal diversity.

On the other hand, regarding *in situ* conservation another question arises: is there really a place for on-farm conservation of all this diversity? At least in Spain, quality niche markets, where the consumers are willing to pay a higher price for an increased organoleptic quality, have emerged in a process linked with the decrease in this characteristic in modern tomato cultivars (Bruhn *et al.*, 1991). This difference can be place up to 4.7 times the price of conventional varieties (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007). This price premium compensates the lower yield of traditional varieties compared to modern bred varieties, thus enabling the economic feasibility of their cultivation and their on-farm conservation.

Nonetheless, the existence of a continuous gradient of variation in traditional varieties of tomato involves several problems from the point of view of their *in situ* conservation via on-farm programs. First of all, the consolidation of these quality niche markets, at least for these tomato varieties, depends on a clear recognition by the consumer, but it is difficult when so much variation is present in the same variety. Therefore, it would be necessary to depurate the variety, selecting a certain representative population of the average morpho-type. This depuration would also enable for example, in the case of Europe, the register of these traditional varieties as conservation varieties. In that case, it should be considered that with the detected levels of intra-accession variation even conceding wider ranges of variation for these varieties, it would be very difficult to pass the technical DUS analysis (distinctness, uniformity and stability). Initial results of the

European project Farm Seed Opportunities already showed that traditional varieties conformed as population varieties would only be able to verify the uniformity and stability criteria for only a few traits (Chable *et al.*, 2009).

Therefore it would be necessary to make intra-population selections in order to increase the level of uniformity. Obviously, as a result, the structure of this depurated traditional variety would not correspond to the initial one and this might arise some questions regarding the effectiveness of the process to conserve diversity.

Still, even discarding the registration as conservation varieties, the depuration would be necessary as it has been proved that wide diversity in organoleptic quality characteristics is also present (Cortés-Olmos *et al.*, 2011) and not all the population of a certain traditional variety would respond to the high quality standards demanded by quality niche markets. A clear identification by the consumer, and the assurance of a high organoleptic quality would enable the establishment of clear link between external appearance and internal quality, a necessary step in the consolidation of the price premium in niche markets.

Traditional varieties of tomato were used as the base for the development of modern tomato varieties during the XIX and early XX centuries. In the 40s the focus on the source of variation required for the development of breeding programs moved to wild species related with the tomato. As a result, numerous genes coding resistance to pathogens and specifically virus have been identified and tomato yield increased dramatically (Tanksley and McCouch, 1997). But right now, when consumer start to demand a higher quality in the tomato market the focus should be placed back again in traditional varieties, with recognized organoleptic quality. Numerous studies have been published during the last years analysing different dimensions of the variation present in traditional varieties, but it seems that there is still a lot to rediscover in these materials.

Acknowledgements

The funds for development of this research were provided by Fundación de la Comunidad Valenciana Para la Investigación Agroalimentaria (AGROALIMED). Carles Cortes-Olmos expresses his gratitude to Universitat Politècnica of València for the concession of a PhD grant.

References

Andreakis, N., Giordano, I., Pentangelo, A., Fogliano, V., Graziani, G., Monti, L.M., Rao, R. 2004. DNA Fingerprinting and Quality Traits of Corbarino Cherry-like Tomato Landraces. *J.Agric.Food Chem.* 52: 3366-3371.

Ballester, A., Molthoff, J., de Vos, R., Hekkert, B.t.L., Orzaez, D., Fernández-Moreno, J., Tripodi, P., Grandillo, S., Martin, C., Heldens, J., Ykema, M., Granell, A., Bovy, A. 2010. Biochemical and Molecular Analysis of Pink Tomatoes: Deregulated Expression of the Gene Encoding Transcription Factor SIMYB12 Leads to Pink Tomato Fruit Color. *Plant Physiology* 152: 71-84.

Bruhn, C.M., Feldman, N., Garlitz, C., Harwood, J., Ivans, E., Marshall, M., Riley, A., Thurber, D., Williamson, E. 1991. Consumer perceptions of quality: apricots, cantaloupes, peaches, pears, strawberries, and tomatoes. *J.Food Qual.* 14: 187-195.

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.

Casals, J., Pascual, L., Cañizares, J., Cebolla-Cornejo, J., Casañas, F., Nuez, F. 2012. Genetic basis of long shelf life and variability into Penjar tomato. *Genet.Resour.Crop Evol.* 1-11.

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

Cleveland, D., Daniela, S., Smith, S. 2000. A biological framework for understanding farmers' plant breeding. *Econ.Bot.* 54: 377-394.

Chable, V., Goldringer, I., Dawson, J., Bocci, R., Van Bueren, E.L., Serpolay, E., González, J.M., Valero, T., Levilla, T. 2009. Farm Seed Opportunities: a Project to Promote Landrace Use and Renew Biodiversity. En: *European landraces: on-farm conservation, management and use.* M. Veteläinen, V. Negri and N. Maxted (Eds). ECP/GR, Macarese. Pp 266-274.

Cortés-Olmos, C., Leiva-Brondo, M., Adalid, A.M., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F. 2011. Identification of organoleptic and functional quality profiles in Spanish traditional cultivars of tomato. *Acta Hort. (ISHS).* 918: 501-508.

Dorais, M., Papadopoulos, A., Gosselin, A. 2001. Greenhouse tomato fruit quality. *Horticultural Reviews* 26: 239-319.

Dorst, J.C.E.A. 1946. Een en twintigste beschrijvende rassenlijst voor landbouwgewassen. Wageningen: Rijkscommissie voor de samenstelling van de rassenlijst voor landbouwgewassen.

Gómez De Ortega, C. 1784. Continuación de La Flora española ó Historia de las plantas de España, que escribía don Joseph Quer, cirujano consultor del ejército, ordenada, suplida y publicada de orden del Rey nuestro Señor, y con encargo y dirección de su Real

Protomedicato por el Dr. Don Casimiro Gomez de Ortega (Vol. 5 and 6). Madrid: Joachin Ibarra.

Hamilton, E.E. 1976. What the New World economy gave the Old. In First images of America: the impact of the New World on The Old, vol 2 (Ed. Chiappelli), pp. 853-884. Los Angeles: University of California Press.

IPGRI, International Plant Genetic Resources Institute. 1997. Descriptors for tomato (*Lycopersicon* spp.). IPGRI (Bioversity Int.), Rome.

Jenkins, J.A. 1948. The origin of cultivated tomato. *Economic Botany*. 2: 379–392.

Junta Consultiva Agronómica. 1914. Avance estadístico de la riqueza que en España representa la producción media anual de las plantas hortícolas y plantas industriales. Ministerio de Fomento. Madrid, España. 466 pp.

Krzanowski, W.J. 2000. Principles of multivariate analysis, a user's perspective. Oxford University Press, Oxford.

Lesley, J.W. 1924. Cross pollination of tomatoes: Varietal Differences in Amount of Natural Cross-Pollination Important Factor in Selection. *J Hered.* 15: 233-235.

Levy, A., Rabinowitch, H.D., Kedar, N. 1978. Morphological and physiological characters affecting flower drop and fruit set of tomatoes at high temperatures. *Euphytica*. 27: 211-218.

Matthioli, P.A. 1544-1554. Di pedanio Dioscoride anazarbeo libri cinque della historia et materia medicinale trodotti in lingua vulgare Italiana. Venezia.

Mazzucato, A., Ficcadenti, N., Caioni, M., Mosconi, P., Piccinini, E., Reddy Sanampudi, V.R., Sestili, S., Ferrari V. 2010. Genetic diversity and distinctiveness in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces: The Italian case study of "A pera Abruzzese". *Scientia Horticulturae*. 125: 55-62.

Rick, C.M., Chetelat, R.T. 1995. Utilization of related wild species for tomato improvement. *Acta Horticulturae*. 412: 21-38.

Salick, J., Cellinese, N., Knapp S. 1997. Indigenous diversity of Cassava: Generation, maintenance, use and loss among the Amuesha, Peruvian upper Amazon. *Econ.Bot.* 51: 6-19.

Tanksley, S.D., McCouch, S.R. 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*. 277. 1063-1066.

Terzopoulos, P.J., Bebeli, P.J. 2010. Phenotypic diversity in Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae*. 126: 138-144.

Tirso de Molina. 1635. Quarta parte de las comedias del maestro Tirso de Molina, recogidas por don Francisco Lucas de Avila. Ed. Maria de Quiñones, Madrid. Digital facsimile accessed through <http://bib.cervantesvirtual.com/FichaObra.html?Ref=38962&portal=123>

Zeven, A.C. 1999. The traditional inexplicable replacement of seed and seed ware of landraces and cultivars: A review. *Euphytica*. 110: 181-191.

4. CALIDAD ORGANOLÉPTICA

Cortés-Olmos, C., Adalid, A.M, Leiva-Brondo, M., Roselló, J., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F. 2010. Análisis de la calidad organoléptica en variedades tradicionales y obsoletas de tomate. Actas de Horticultura, 55. V Congreso de Mejora Genética de Plantas, Madrid. Pp: 161-162.

Cortés-Olmos, C., Leiva-Brondo, M., Adalid, A.M., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F. 2011. Identification organoleptic and functional quality profiles in Spanish traditional varieties of tomato. Acta Horticulturae, 918. 28th International Horticultural Congress IHC, Lisboa. Pp: 501-508.

Análisis de la calidad organoléptica en variedades tradicionales y obsoletas de tomate

Cortés-Olmos, C.¹, Adalid, A.M.¹, Leiva-Brondo, M.¹, Roselló, J.², Cebolla-Cornejo, J.¹ y Nuez, F.¹

¹Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s.n., 46022 Valencia

²IVIA. Estación Exp. Agraria de Carcaixent. Partida Barranquet s.n. Carcaixent. 46740 Valencia

Palabras Clave:

Solanum lycopersicum, mejora genética, sabor, recursos fitogenéticos

Resumen

Se ha analizado el contenido en sólidos solubles totales y en los ácidos oxálico, cítrico, málico y glutámico y los azúcares fructosa, glucosa y sacarosa en una colección de 166 entradas de variedades tradicionales u obsoletas de tomate y cuatro híbridos comerciales. Se ha observado una considerable variación tanto entre tipos varietales (20%) como dentro de tipos (17,1%). No obstante, la variación media en variedades tradicionales (19,1%) es similar a la de híbridos comerciales (16,5%). A pesar de que de forma general se puede extraer conclusiones sobre el perfil organoléptico de las principales variedades tradicionales, la gran diversidad identificada refuerza la idea de que se debe hablar más de tipos varietales, con un aspecto exterior del fruto similar, que de verdaderas variedades. La variación existente permite realizar selecciones de poblaciones con niveles de calidad superiores, que ayuden a consolidar mercados de calidad en los que perviven estas variedades.

Introducción

Existe una queja constante de los consumidores sobre la baja calidad organoléptica de las variedades mejoradas de tomate. Esta situación ha favorecido que variedades tradicionales u obsoletas se mantengan en mercados de calidad asociadas a elevados precios de venta, compensando su menor producción. El estudio de la calidad organoléptica de estos materiales es vital para realizar selecciones intravarietales que afiancen estos mercados, para establecer perfiles de calidad que puedan emplearse como objetivos de mejora o para su aprovechamiento como fuente de variación.

Materiales y métodos

Se estudiaron 166 entradas de variedades tradicionales u obsoletas de tomate originarias de la Comunidad Valenciana cedidas por el COMAV, AVA y la Est. Exp. de Carcaixent. Estas entradas representaron los tipos varietales ‘Amarillo’ (1), ‘Cherry’ (1), ‘De colgar’

(12), ‘Cuarenteno’ (7), ‘Elchero’ (2), ‘Flor de baladre’ (2), ‘Marmande’ (3), ‘Morado’ (3), ‘Muchamiel’ (29), ‘Pera’ (6), ‘Pimiento’ (10), ‘Rosado’ (17), ‘Valenciano’ (51) y ‘Sin Adscribir’ (sin corresponder a ningún tipo concreto, 22). Como controles comerciales se incluyeron cuatro híbridos: ‘Mariscal’, ‘Gransol’, ‘Piccota’ (Cherry) y ‘Razymo’, cedidos por Rijk Zwaan Ib. S.A. Se utilizaron 4 repeticiones de 10 plantas, distribuidas de forma pareada al azar en dos bloques. El cultivo se realizó en ciclo primavera-verano al aire libre en Carcaixent (Valencia). Se recogieron por planta los frutos de los racimos 1º a 3º en estado rojo maduro. En laboratorio se obtuvieron porciones de peso similar por planta que se homogeneizaron, obteniendo cuatro muestras por entrada. Los ácidos oxálico, málico, cítrico, glutámico y los azúcares fructosa, glucosa y sacarosa se cuantificaron mediante electroforesis capilar (Roselló *et al.*, 2002).

Resultados y discusión

Se observó un amplio nivel de variación en todas las variables con un CV medio de 20% entre tipos varietales y 17,1% dentro de tipos. La variación en las variedades tradicionales y obsoletas (19,1%) fue similar a la de los híbridos comerciales (16,5%). El análisis de componentes principales permitió obtener una idea sobre la estructura la variación dentro y entre variedades (**figura 1**).

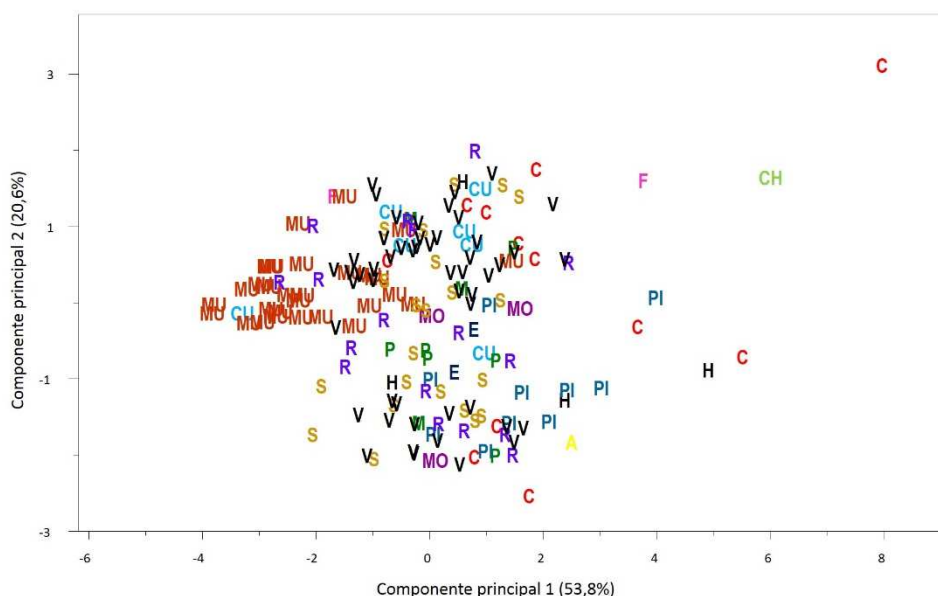


Figura 1. Análisis de componentes principales empleando variables analíticas relacionadas con la percepción del sabor a través del gusto. Ambas componentes explican el 74,4% de la variación. Valores crecientes en la componente 1 implican valores mayores de la mayoría de variables. La componente dos se relaciona con el matiz ácido. A: ‘Amarillo’. CH: ‘Cherry’, C: ‘De colgar’, CU: ‘Cuarenteno’, E: ‘Elchero’, F: ‘Flor de baladre’, M: ‘Marmande’, MO: ‘Morado’, MU: ‘Muchamiel’, P: ‘Pera’, PI: ‘Pimiento’, R.: ‘Rosado’, V: ‘Valenciano’, S: ‘Sin Adscribir’.

Se observa que hay ciertas características generales propias de variedad. Así, la mayor parte de las entradas de ‘Muchamiel’ se agruparon con bajos valores de acumulación de azúcares y ácidos (CP1). Las entradas de ‘Pimiento’ se agruparon con elevados valores

de la CP1; igual destacaron por su acumulación las entradas ‘De Colgar’ aunque sin agruparse. Tanto la entrada obsoleta como el híbrido de ‘Cherry’ destacaron por su elevada capacidad de acumulación (CP1) aunque no se agruparon en la CP2 (matiz ácido). En otros casos como en ‘Valenciano’ la dispersión de los datos fue mucho mayor, aunque como variedad destaca por mayores contenidos de forma global respecto a ‘Muchamiel’. En conclusión, el análisis refleja que, aunque es posible identificar características generales que definen variedades tradicionales u obsoletas, se encuentra una amplia variación. Esta variabilidad se puede explicar desde tres perspectivas. La primera implica la adscripción errónea del material vegetal. La segunda es resultado del frecuente intercambio de semillas que, junto a la polinización cruzada (posible en tomate), genera híbridos espontáneos entre distintos materiales. Híbridos que posteriormente el agricultor depura seleccionando por forma de fruto aunque conllevan cambios organolépticos (en campo se confirmó la segregación de varias de entradas). La tercera se debe a que cada población es una selección independiente realizada por un agricultor de una forma diferente al resto. Esta circunstancia justifica que más que de variedades tradicionales concretas se debiera hablar de tipos varietales formados por mezclas poblacionales complejas con morfologías y coloraciones similares.

Referencias bibliográficas

Roselló, S., Galiana-Balaguer, L., Herrero-Martínez, J.M., Maquieira, A., Nuez, F. 2002. Simultaneous quantification of the main organic acids and carbohydrates involved in tomato flavour using capillary zone electrophoresis. *J. Sci. Food Agric.* 82: 1101-1106.

Identification Organoleptic and Functional Quality Profiles in Spanish Traditional Varieties of Tomato

Cortés-Olmos, C., Leiva-Brondo, M., Adalid, A.M., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F.

Instituto Universitario de Conservación y Mejora de La Agrodiversidad Valenciana. Universidad Politécnica de Valencia. Cno. De Vera, s.n. 46022. Valencia. Spain

Abstract

Despite the increasing importance of internal quality in breeding programmes and marketing of tomato, little information is available regarding organoleptic and functional profiles of traditional varieties of renowned quality. This is the objective of this work, consisting in the evaluation of internal quality of 51 traditional tomato accessions representative of the Spanish variability. Contents of total soluble solids, oxalic, malic, citric and glutamic acids, fructose, glucose and sucrose, vitamin C and lycopene were determined, obtaining the respective organoleptic and functional profiles. These profiles will be very valuable to establish breeding objectives, as these varieties are considerably appreciated by consumers, who are willing to pay higher prices for them. A considerably high level of variability has been found in the profiles obtained and no clear groups could be identified considering fruit morphology or local name. Variability was higher in traits affecting functional quality (coefficients of variation of 51.2% for vitamin C and 74.6% for lycopene content) than those affecting organoleptic quality (coefficients of variation ranging from 18% for total soluble contents to 38.8% for glutamic acid). Additionally, several accessions could be selected for their higher individual contents for further studies of internal quality. It is the case of accessions CDP8102 and CDP3547 for their high malic content, accession CDP6315 for high fructose and glucose contents, accession CDP1523 for its lycopene content and accessions CDP2226 and CDP336 for vitamin C content. Considering previous correlations among individual contents and consumer preference accessions CDP7554, CDP2666 and CDP3547 should be further evaluated for their overall flavour quality.

Introduction

For a long time, the quality of vegetables has been based only on their external appearance. This limited definition of quality was due to the marketing strategies of large distribution firms. Such strategies were focused on the visual impact of products. Nowadays, consumers require products with higher internal quality. Therefore, addressing different aspects of internal quality, such as organoleptic and functional qualities, is a main objective. In this context, traditional varieties play an important role as potential germplasm for breeding programs given their well-known internal quality and their high variability.

Materials and methods

Vegetal Material

A total of 51 entries of traditional varieties of tomato (*Solanum lycopersicon*), provided by the COMAV germplasm bank were studied (**table 1**). The seedbed was sown in April and was transplanted to a definitive field in May.

The crop was conducted in a field located in Turis (Valencia, Spain). A randomized complete block design was used with four blocks, one plot per accession and 3 plants per plot. The crop was managed using the usual practices for tomato cultivation in the area including drip fertirrigation.

Table 1. Origin and main characteristics of the accessions being evaluated

ACCESSIONS	LOCAL NAME	SITE OF COLLECTION	FRUIT SHAPE	ASSIGNED TYPE
CDP9909	Tomate del terreno	Álava	achatado acostillado moderado	A
CDP9583	Tomate gordo del país	Vizcaya	achatado acostillado leve	A
CDP3001	Tomate del bueno	Vizcaya	achatado acostillado leve	A
CDP3287	Tomate de pardo	Huesca	Aplastado-Redondo	A
CDP8473	Tomate caqui	Granada	achatado acostillado leve	A
CDP7635	Tomate de corazón	Huelva	muy achatado acostillado fuerte	B
CDP4688	Tomate de casco	Almería	Aplastado acostillado moderado	A
CDP5663	Tomate de San Pedro	Almería	Redondeada acostillado leve	C
CDP2666	Tomate cherry	Almería	achatado morado liso	D
CDP3600	Tomate de colgar	Granada	Aplastada	E
CDP4551	Tomate de pera;calabacita	Málaga	forma pimiento	F
CDP4811	Tomate forma pimiento	Málaga	forma pimiento	F
CDP6098	Tomate de pan	Cádiz	Cherry	G
CDP276	Tomate de pera	Córdoba	redondeado acorazonado rosado	J
CDP9696	Tomate morado	Cádiz	muy achatado acostillado fuerte	B
CDP4237	Tomate negrito	Málaga	achatado redondeado	A
CDP3947	Tomate melillero	Málaga	acorazonado redondeado	H
CDP9352	Tomate borondo	Jaén	redondo acorazonado	H
CDP3604	Tomate de Badajoz	Jaén	acorazonado redondeado	H
CDP6169	Tomate valenciano	Granada	Ligeramente achatado	A
CDP8106	Tomate pimiento largo	Córdoba	forma pimiento	F
CDP3480	Tomate de Calzada	Asturias	achatado redondeado acostillado	A
CDP3547	Tomate negro	Santa Cruz de Tenerife	achatado redondeado acostillado leve	A
CDP2714	Tomate criollo para mojo	Santa Cruz de Tenerife	achatado redondeado acostillado	A
CDP5540	Tomate de Monserrat	Barcelona	muy achatado rosado	B

Table 1 (Cont.). Origin and main characteristics of the accessions being evaluated

ACCESSIONS	LOCAL NAME	SITE OF COLLECTION	FRUIT SHAPE	ASSIGNED TYPE
CDP3250	Tomate pometa	Barcelona	Aplastado	A
CDP6315	Tomate palo santo	Barcelona	redondo	C
CDP6043	Tomate rosa ple	Barcelona	Aplastado	A
CDP7554	Tomate montserrat	Barcelona	muy achatado acostillado	B
CDP7596	Tomate	Palencia	redondeado rosa	I
CDP8237	Tomate cuarenteno	Valencia	redondo	C
CDP2498	Tomate trunfera	Lleida	achatado redondeado acostillado muy leve	A
CDP8443	Tomate moruno	Madrid	achatado acostillado moderado	A
CDP7718	Tomate casco duro	Cuenca	muy achatado acostillado leve	B
CDP1819	Tomate de pico	Cáceres	acorazonado redondeado	J
CDP336	Tomate gordo rosa	Cáceres	Ligeramente achatado	A
CDP4081	Tomate rosa de colgar	Cáceres	Ligeramente achatado	A
CDP8000	Tomate	Pontevedra	redondo acorazonado	J
CDP771	Tomate morado	Ciudad Real	muy achatado rosa acostillado leve	B
CDP9005	Toledo moruno	Ciudad Real	muy achatado muy acostillado	B
CDP8737	Tomate flor de baladre	Murcia	Aplastado	A
CDP3971	Tomate de Guadalupe	Murcia	achatado acostillado leve	A
CDP524	Tomate muchamiel	Murcia	Aplastado	A
CDP6438	Tomate del pais	León	redondo	C
CDP9667	Tomate cuarenteno	Valencia	Achatado	A
CDP7167	Tomate de San Juan	Alicante	ovalado redondeado acostillado	C
CDP7499	Tomate cuarenteno	Valencia	acorazonado redondeado	A
CDP720	Tomate valenciano	Valencia	acorazonado redondeado	J
CDP68	Tomate raf	Alicante	muy achatado acostillado moderado	B
CDP7444	Tomate casero de Aretxabaleta	Vizcaya	muy achatado acostillado muy leve	B
CDP8102	Tomate corazon de moreno	Álava	achatado redondeado acostillado moderado	A

Analytical data

1. Sample obtention and preparation. The fruits were harvested at the mature-red stage. Samples were composed of a mix of two representative fruits of each of the 12 plants per accession. In the laboratory, equivalent longitudinal portions for each fruit were obtained. They were ground and homogenized. Samples were kept frozen at -80°C until analysis.

2. Quantification of the soluble solids content. The soluble solids content (SSC) was estimated by refractometry of the juice (average of two determinations) using a digital refractometer (ATAGO PR-1, Tokyo, Japan) with 0.1° Brix precision. The results were reported as ° Brix at 20°C.

3. Sugar and acid quantification. A modification of the method described by Roselló *et al.*, (2002) was used. This method is based on zone capillar electrophoresis and enables simultaneous quantification of oxalic, malic, glutamic, and citric acids and fructose, glucose, and sucrose sugars. A P/ACE MDQ capillar electrophoresis equipment was used for the analysis with the PA P/ACE MDQ Versión 2,3 software for Windows (Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA. EE.UU.). A 50µm internal diameter and 363µm external diameter capillar of melted silice (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ., EE.UU.) with total length of 67cm and 60cm of effective length was used for the separations.

The concentration of each item was computed using linear regressions using 5 solutions with variable concentrations of each component. The determination coefficient was larger than 0.99 in all cases. Each sample was analyzed twice. The results were reported in percentage of fresh weight (g/100 g juice).

4. L-ascobic acid quantification. The method described by Galiana-Balaguer *et al.*, (2001) was used. This protocol, based on capillary electrophoresis, uses a 50µm internal diameter and 363µm external diameter capillar of melted silice (Polymicro Technologies) with total length of 27cm and 20cm of effective length for the separations.

The concentration was computed using linear regressions using 5 solutions with variable concentrations of L-ascobic acid. The coefficient of determination was larger than 0.99. Each sample was analyzed twice. The average of the values obtained in all blocks were reported. The results were expressed as mg per 100g of fresh weight.

5. Lycopene quantification. The method reported by García-Plazaola and Becerril (1999) based on high performance liquid cromotography (HPLC) of reverse phase with slight modifications was used. Analyses were carried out on a *1200 series* cromatographer (Agilent Technologies, Santa Clara, US). The cromatography was conducted in a column of reverse phase Tracer Spherisorb ODS-1 (250 x 4.6 mm i.d., 5 µm, particle size) protected by a guard column (20 x 3.9 mm i.d., 4 µm). The integration of the lycopene peaks was conducted at 470 nm. Sudan I was used as internal standard.

Lycopene concentration was obtained using linear regressions using 5 concentrations of known pattern. Always were obtained a 99.9% of coefficient of determination. Each sample was analyzed twice. The results were reported as ppm of fresh weight.

Results and discussion

Accession segregation was observed in several cases. Accession CDP8106, initially of pepper type, presented segregation. Although the pepper type (CDP8106(1)) was the main one, 4 plants of rounded morphotype (CDP8106(2)) were obtained. The accession CDP3947 also segregated generating 3 types: CD2226, with original morphotype, CDP1523 with round non-ribbed fruits, and CDP3947 with rounded ribbed fruits. This segregation is usual when working with original seeds, since farmers can provide mixed seeds or there may be a previous spontaneous hybridization and has been reviewed for other crops (Zeven, 2000).

A relevant content of oxalic acid was only obtained in four accessions: CDP7444, CDP6438, CDP3971(1) and CDP7499 (data not shown). This is a positive result since

the oxalic acid is an antinutrient (Güil *et al.*, 1996) and its relevance for total acidity and pH is almost negligible. The results obtained on oxalic acid content were smaller than those reported (around 35mg/100g) for other traditional varieties (Cebolla Cornejo *et al.*, 2005).

Sucrose was only detected (97,4mg/100g) in accession CDP2714. The absence of sucrose accumulation is a standard feature of tomatoes given that the sucrose is hidrolized during the ripening process. However, sucrose traces have been obtained in some tomato varieties. In these, the concentration is always below 0.1% of fresh weight (Davies y Hobson, 1981), as in this case.

A large intervarietal variation for the remaining compounds was obtained. This variability was studied using principal component analysis. The oxalic and sucrose contents were not included considering their lack of variation. The two first components, which account for 70.5% of the total variation, were selected and plotted. The first component (56.1%) was positively correlated with the content of all the evaluated variables. Therefore, the accessions with a large first component may be especially interesting. The second component (14.4%) was positively correlated with the content of malic acid, glutamic acid, and fructose and negatively correlated with the content of citric acid, glucose and SSC.

The materials were irregularly distributed which made it difficult to identify specific groups (**figure 1**). Out of this continuum of variation, only the accession CDP3547 was more isolated, with outstanding contents of most compounds.

In those few cases in which several accessions of the same variety were included (such as Moruno, Morado, Negro or Cuarenteno), they did not group themselves jointly. This seems to confirm the existence of a large intravarietal variability. It is not surprising that accessions of the same variety show different quality profiles given that traditional varieties are in fact population varieties. Nevertheless, the intravarietal evaluation is beyond the scope of this paper.

Since the 70s, researchers have focused on establishing correlations between analytical variables related with organoleptic quality and acceptability or preference order in tasting trials. There are several studies relating the content in soluble solids, total acidity, content in sugars, acids, and their relationships with acceptability or preference of some tomato varieties (Stevens, 1972; Stevens *et al.*, 1979; Davies and Hobson, 1981; Jones and Scott, 1984; Malundo *et al.*, 1995; Bucheli *et al.*, 1999a). Koehler and Kays (1991) established the correlation between sugars and the sweetness. This relationship was also studied by other researchers (Baldwin *et al.*, 1998; Saliba-Colombani *et al.*, 1999). But the preference order in tasting trials seems to be more influenced by the relationship between sugars and acids than by the content in sugars (Baldwin *et al.*, 1998). The highly valued samples were, however, those with higher sugar content as described by Malundo *et al.* (1995) and Bucheli *et al.* (1999a). Additionally, using traditional varieties the model that best captured the preference order of a tasting panel was one based on relating the content in sugars (measured as sucrose equivalents) and the sugars to citric acid ratio (ATC) (Cebolla-Cornejo, 2005). Considering all these relations, it would be interesting to detect

the accessions standing out for their content in individual compounds, in order to combine them later in elite materials.

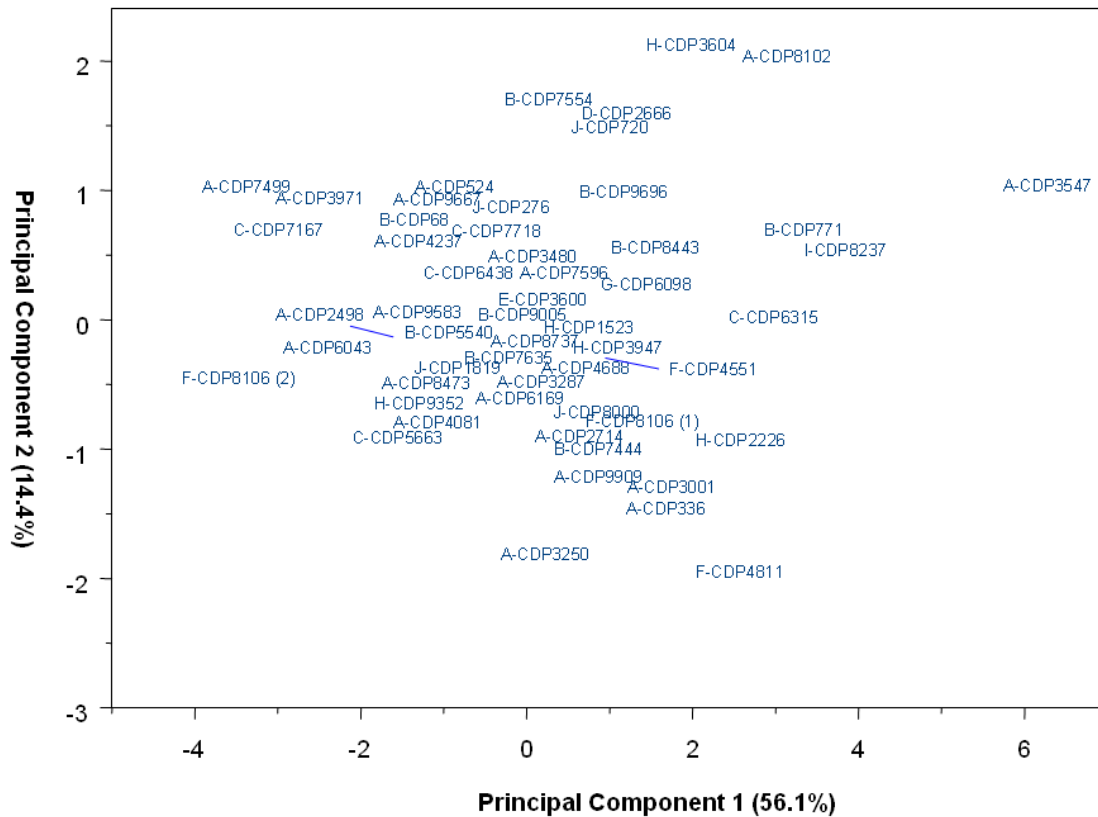


Figure 1. Principal components analysis considering compounds related to organoleptic quality

In this sense, the most relevant accessions considering their content in individual compounds would be: accessions CDP3547 and CDP8102 because of their large content of malic acid (260.6 and 222.3 mg/100g respectively), accession CDP6315 with a high content of citric acid (580.2 mg/100g), accession CDP9909 due to its low content of glutamic acid (17 mg/100g), and accession CDP3547 because of its high content of fructose and glucose (2,852.1 and 1,733.0 mg/100g respectively) (**table 2**). For glutamic acid it is interesting to select accessions with lower values given that a higher sugar:glutamic ratio has been related to better acceptance in tasting trials (Bucheli *et al.*, 1999b).

In terms of the content in compounds related with the functional quality (**table 3**), coefficients of variation (51.2% for vitamin C and 74.6% for lycopene content) were higher than those affecting organoleptic quality (ranging from 18% for total soluble content to 38.8% for glutamic acid), showing a wide range of variation to identify sources of variation for breeding programmes. Accessions CDP1523 and CDP7554 should be highlighted for their high values in lycopene (5.337 and 4.493mg/100g PF respectively), doubling the standard content in tomato. The values of ascorbic acid were not particularly high, being the highest content 27.54mg/100g PF in accession CDP336. Nevertheless, it

would be interesting to study the intravarietal variability and the stability of the content in accessions CDP2226 and CDP336.

Table 2. Accessions with the highest values in compounds related to organoleptic quality.

ACCESSIONS	MALIC ACID (mg/100g FW)	ACCESSIONS	CITRIC ACID (mg/100g FW)	ACCESSIONS	GLUTAMIC ACID (mg/100g FW)
A-CDP3547	277,31	C-CDP6315	580,22	A-CDP9909	17,00
A-CDP8102	260,59	H-CDP3947(1)	473,20	C-CDP5663	46,92
B-CDP771	221,28	B-CDP7444	462,12	J-CDP8000	53,49
H-CDP3604	214,73	A-CDP3547	450,54	A-C-L-249	55,22
I-CDP7596	213,24	H-CDP3947	446,11	A-CDP6043	60,52

ACCESSIONS	FRUCTOSE (mg/100g FW)	ACCESSIONS	GLUCOSE (mg/100g FW)	ACCESSIONS	SSC (°Brix)
A-CDP3547	2852,05	A-CDP3547	1723,02	F-CDP4811	5,9
I-CDP7596	2482,24	I-CDP7596	1335,46	A-CDP3001	5,7
C-CDP6315	2454,24	F-CDP4811	1251,59	A-CDP336	5,7
J-CDP720	2334,03	H-CDP3947	1195,85	B-CDP771	5,3
H-CDP3604	2285,81	A-CDP336	1169,15	H-CDP2226	5

Table 3. Lycopene and ascorbic acid contents.

ACCESSIONS	LICOPENE (mg/100g FW)	ASCORBIC ACID (mg/100g FW)	ACCESSIONS	LICOPENE (mg/100g FW)	ASCORBIC ACID (mg/100g FW)
CDP9909	2,158	6,83	CDP5540	0,530	16,62
CDP9583	0,602	21,69	CDP3250	1,654	16,72
CDP3001	2,518	21,39	CDP6315	1,506	19,49
CDP3287	1,351	22,17	CDP6043	1,456	15,51
CDP8473	2,179	0,96	CDP7554	4,493	n,d,
CDP7635	1,456	17,31	CDP2498	0,654	18,62
CDP4688	1,578	0,39	CDP7596	2,429	21,65
CDP5663	2,465	20,91	CDP8443	1,980	n,d,
CDP2666	0,620	n,d,	CDP7718	1,987	23,31
CDP3600	3,802	9,92	CDP8237	1,905	12,56
CDP4551	1,111	11,32	CDP1819	4,184	15,01
CDP4811	2,227	14,28	CDP336	3,000	27,54
CDP6098	2,393	5,31	CDP4081	3,706	17,04
CDP276	0,394	7,04	CDP8000	2,324	20,94
CDP9696	0,855	15,51	CDP771	1,627	17,54
CDP4237	1,099	13,45	CDP9005	1,547	19,97
CDP2226	1,780	26,67	CDP8737	0,478	22,38

Table 3 (Cont.). Lycopene and ascorbic acid contents.

ACCESSIONS	LICOPENE	ASCORBIC ACID	ACCESSIONS	LICOPENE	ASCORBIC ACID
	(mg/100g FW)	(mg/100g FW)		(mg/100g FW)	(mg/100g FW)
CDP1523	5,337	n,d,	CDP3971	1,413	n,d,
CDP3947	4,000	6,49	CDP524	2,349	5,53
CDP9352	0,766	14,67	CDP6438	2,110	0,71
CDP3604	3,517	12,2	CDP9667	1,665	12,95
CDP6169	4,338	11,68	CDP7167	3,089	6,32
CDP8106(1)	3,335	20,78	CDP7499	2,175	8,84
CDP8106(2)	0,839	17,44	CDP720	1,250	13,13
CDP3480	2,951	n,d,	CDP68	2,224	3,89
CDP3547	0,432	0,94	CDP7444	0,647	9,55
CDP2714	3,584	8,14	CDP8102	0,768	8,68

In conclusion, the quality profiles of a considerably high representation of Spanish diversity of traditional tomatoes have been obtained. These profiles might be a key to lay down objectives in new breeding projects or to promote *in situ* conservation. The results obtained have shown that there is a significant intravarietal and intervarietal variability, enabling selections in both components.

References

- Baldwin, E.A., Scott, J.W., Einstein, M.A., Malundo, T.M.M., Carr, B.T., Shewfelt, R.L., Tandon, K.S.** 1998. Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 123(5): 906-915.
- Bucheli, P., Lopez, J., Voirol, E., Petiard, V., Tanksley, S.D.** 1999a. Definition of biochemical and molecular markers (quality trait loci) for tomato flavour as tools in breeding. *Acta Horticulturae*. 487: 301-306.
- Bucheli, P., Voirol, E., Torre, R.R., Lopez, J., Rytz, A., Tanksley, S.D., Petiard, V.** 1999b. Definition of nonvolatile markers for flavor of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as tools in selection and breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(2): 659-664.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Galiana-Balaguer, L., Nuez, F.** 2005. Evaluación de la calidad organoléptica de variedades tradicionales de tomate y del efecto del cultivo bajo malla. *Actas Portuguesas de Horticultura*. 8(4): 302-308.
- Davies, J.N., Hobson, G.E.** 1981. The constituents of tomato fruit – the influence of environment, nutrition, and genotype. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 15(3): 205-280.
- Galiana Balaguer, L., Rosello, S., Herrero Martinez, J.M., Maquieira, A., Nuez, F.** 2001. Determination of L-ascorbic acid in *Lycopersicon* fruits by capillary zone electrophoresis. *Analytical Biochemistry*. 296(2): 218-224.
- García-Plazaola, J.I., Becerril, J.M.** 1999. A Rapid High-performance Liquid Chromatography Method to Measure Lipophilic Antioxidants in Stressed Plants: Simultaneous Determination of Carotenoids and Tocopherols. *Pytochemical Analysis*. 10: 307-313.
- Güil, J.L., Torija, M.E., Gimenez, J.J., Rodriguez-García, I., Giménez, A.** 1996. Oxalic acid and calcium determination in wild edible plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 1821-1823.
- Jones, R.A., Scott, S.J.** 1984. Genetic potential to improve tomato flavor in commercial F1 hybrids. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 109(3): 318-321.
- Koehler, P.E., Kays, S.J.** 1991. Sweet potato flavor: Quantitative and qualitative assessment of optimum sweetness. *Journal of Food Quality*. 14: 241-249.
- Malundo, T.M.M., Shewfelt, R.L., Scott, J.W.** 1995. Flavor quality of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by sugar and acid levels. *Postharvest Biology and Technology*. 6(1/2): 103-110.
- Rosello, S., Galiana-Balaguer, L., Herrero-Martinez, J.M., Maquieira, A., Nuez, F.** 2002. Simultaneous quantification of the main organic acids and carbohydrates involved in tomato flavour using capillary zone electrophoresis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(10): 1101-1106.

Saliba-Colombani, V., Causse, M., Philouze, J., Buret, M., Issanchou, S., Lesschaeve, I. 1999. QTLs for organoleptic quality in fresh market tomato. Genetics and breeding for crop quality and resistance Proceedings of the XV EUCARPIA Congress, Viterbo, Italy, September 20-25, 1998, 291-299 Registro 10 de 24 en Cab Abstracts 1998 : -299.

Stevens, A.M., Kader, A.A., Albright, M. 1979. Potential for increasing tomato flavor via increased sugar acid content. Journal of the American Society for Horticultural Science. 104(1): 40-42.

Stevens, M.A. 1972. Citrate and malate concentrations in tomato fruits: genetic control and maturational effects. Journal of the American Society for Horticultural Science. 97(5): 655-658.

Zeven, A.C. 2000. Traditional maintenance breeding of landraces:1. Data by crop. Euphytica. 116: 65-85.

5. CALIDAD FUNCIONAL

Cortés-Olmos, C., Leiva-Brondo, M., Roselló, J., Raigón, M.D., Cebolla-Cornejo, J. 2014. The role of traditional varieties of tomato as sources of functional compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. DOI 10.1002/jsfa.6629

The role of traditional varieties of tomato as sources of functional compounds

Carles Cortés-Olmos^{a+}; Miguel Leiva-Brondo^{a+}; José Roselló^b; María D. Raigón; Jaime Cebolla-Cornejo^{a*}

^a*Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, COMAV. Universitat Politècnica de València. Cno. de Vera, s.n. 46022, València, Spain.*

^b*Estación Experimental Agraria de Carcaixent. Instituto Valenciano de Investigaciones Agriarias, IVIA. C/ Partida Barranquet, s.n. 46740, Carcaixent, Spain.*

^c *Departamento de Química, Universitat Politècnica de València, Cno. de Vera s.n. 46022, València, Spain.*

⁺*Equal contribution*

Abstract

Background: Traditional varieties of tomato, usually associated with excellent organoleptic quality, are increasingly appreciated in European quality markets. A collection of 126 populations of 16 traditional varieties from the East of Spain (a secondary diversity center for tomato) have been evaluated during two years in order to determine their potential value as sources of functional compounds, including ascorbic acid, lycopene, β -carotene and total phenolic content.

Results: Population and population x year interaction significantly affected lycopene and ascorbic acid contents, while year effect was also significant for β -carotene. Despite finding some global trends in certain varieties concerning their functional value, high levels of variation have been found at the intra-varietal level. Populations with high levels of the compounds analyzed have been found, as well as different levels of intra-population and inter-year variation. Maximum mean contents for both years have reached 308 mg kg⁻¹ of ascorbic acid, 130 mg kg⁻¹ of lycopene, 30 mg kg⁻¹ of β -carotene and 89 mg caffeic acid 100 g⁻¹ of total phenolic contents, though it is difficult to identify accessions with joint high values of the three compounds.

Conclusion: These results open the possibility to promote traditional materials as sources of functional compounds, thus strengthening their quality niches and consolidating their price-premium. Additionally, these materials could also be used in breeding programs for quality.

Keywords:

Lycopene, β -carotene, ascorbic acid, *Solanum lycopersicum*, quality, phenolic content

Introduction

Modern consumers are increasingly interested in their personal health and expect the food they eat to be healthy or capable of preventing illnesses (Granato *et al.*, 2010). In this context, the dairy sector has experienced a boost in the development of this kind of functional products, though non-dairy matrices are also gaining prominence (Sun-Waterhouse, 2011). In fact, there is also a trend to promote the characteristics of vegetable consumption in the diet. Dietary antioxidants and components of fruit and vegetable extracts are increasingly suggested to have the capacity to modulate the complex mechanisms involved in maintaining a healthy physiology and to reduce early onset of age-dependent diseases (Arouma *et al.*, 2012). In addition, recent evidence suggests that the ability of phytochemical components in whole foods is more effective in protectively supporting human health than isolated individual phytochemicals (Vattem *et al.*, 2005). Accordingly, the development and commercialization of new varieties with increased levels of functional phytochemicals has become a new trend in the fruit and vegetable market and breeding industry.

In this context, tomato is included as one of the most studied active plant-based food (Sun-Waterhouse, 2011). In tomato marketing, as in other fruits and vegetables, a high content in active phytochemicals has gained importance, though it is not clear whether consumer interests in healthy products have conditioned the marketing of this kind of products based on health functionality or vice versa (Goldman, 2011).

Among the different functional compounds present in tomato, vitamin C or ascorbic acid, carotenoids and flavonols have received most part of the attention. In the case of vitamin C the levels found in tomato compared with other species such as orange or broccoli are considerably low (Davey *et al.*, 2000). But the high level of consumption of tomato, reaching 40–50 kg per capita and year in countries such as Spain, Italy or USA (source: FAO databases), makes this fruit one of the main sources for this vitamin. The carotenoid lycopene is in major part responsible for the red colour of ripe tomatoes, which represent the major source for this compound. It does not have provitamin A activity, but it has a physical quenching rate constant with singlet oxygen almost twice as high as that of β -carotene (Shi and Maguer, 2000). β -carotene is the second major carotenoid in tomato fruits, with concentrations around ten times lower than lycopene (Davies and Hobson, 1981).

Several studies have determined an inverse relation between the intake in the diet of lycopene and β -carotene and the development of certain types of cancer (Ziegler, 1989; Van Poppel and Goldbohm, 1995; Giovannucci, 1999) and a direct relation with a reduced incidence of heart disease (Palace *et al.*, 1999; Rao, 2002). But, in recent years some studies have questioned the relation between carotenoid or vitamin C intake and reduced cancer risk (Kavanaugh *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2009). In fact, it is difficult to prove that a specific component of a complex diet prevents the development of a disease. On the other hand, measurement errors in the dietary intake of fruit and vegetables may also attenuate these associations (Aune *et al.*, 2012). Nonetheless, recent publications suggest moderate evidences between dietary vitamin C and β -carotene and the prevention of coronary heart disease (Mente *et al.*, 2009). At the same time, new large population

studies confirm the existence of a certain relation between carotenoid intake and certain types of cancer, at least under certain circumstances (Mignone *et al.*, 2009).

Despite the absence of conclusive data for the role of tomato antioxidants in the prevention of diseases, new varieties with increased levels of lycopene or other antioxidants are being developed (Ilahy *et al.*, 2011). In this context, it should be considered that to develop successful marketing strategies, functional foods should deliver their health benefits above and beyond the standard perceived quality of the equivalent conventional product (Krystallis *et al.*, 2008).

Consumer complains on the taste of modern commercial varieties (Bruhn *et al.*, 1991) has fostered the development of niche markets for heirloom, local or traditional varieties. Consumers appreciate the outstanding organoleptic quality of these materials and they are willing to pay a differential up to 4.70 times the price of commercial modern varieties (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007). These varieties have shown high levels of variation in agro-morphological (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a), genetic (Casals *et al.*, 2011) and organoleptic levels (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2011), but little is known on the variation in the concentrations of functional compounds. The objective of this study is to provide a consistent evaluation of the composition in key antioxidant compounds in traditional varieties of tomato. In this case, Spanish traditional varieties have been selected as a model study to examine their diversity in an inter- and intra-variety scale using a large collection of populations. These findings may be relevant both in the promotion of these materials targeted to quality niche markets combining excellent taste with an added functional value, and in the use of these materials as sources of variation in breeding programs.

Materials and methods

Plant Material

A total of 126 populations belonging to 16 different Spanish traditional varieties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.), were studied during two consecutive years, 2009 and 2010 (**table 1**). 115 populations were provided by the Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV, València, Spain) germplasm bank, eight populations were provided by Estación Experimental Agraria de Carcaixent, (EEAC, belonging to the Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, IVIA, Carcaixent, Spain) and three populations were obtained in local nurseries. A different number of populations were studied per variety, considering the different interest of local markets and the amount of diversity available in the germplasm banks: one population belonged to the variety 'Amarillo', one to 'Centenares', six to 'Cuarenteno', ten to 'De Colgar', four to 'De la Pera', three to 'De Pera', one to 'Elchero', two to 'Flor de Baladre', four to 'Gordo Rojo', 28 to 'Muchamiel', one to 'Negre', eight to 'Pimiento', two to 'Redondo Rojo', 12 to 'Rosa', one to 'Tres Cantos' and 42 to 'Valenciano'. These varieties represent a wide diversity of fruit colours and shapes (**table 1**).

Table 1. Description of the varieties and origin of the populations evaluated (varietal code in parentheses).

Variety	Fruit description/populations (code, town, province)
'Amarillo' (1)	Description: Large size. Flattened and ribbed yellow tomatoes with a high number of locules (even higher than 20). These tomatoes are typical of interior areas and dry farming. Populations: CDP01733 (Casas Altas, VC).
'Centenares' (2)	Very small size. Deep red and round shape without ribs. Used for salads and decoration considering their small size and sweet taste. Populations: CDP08734 (Racó d'Ademús, VC).
'Cuarenteno' (3)	Description: Intermediate size. Flattened and ribbed fruits with green persistent shoulders. Early production. Populations: CDP07243 (Chelva, VC), CDP07457 (Aldaya, VC), CDP05973 (Torrente, VC), CDP04955 (Rojales, AL), CDP08237 (Massamagrell, VC), CDP07843 (Valencia, VC).
'De colgar' (4)	Description: Small size. Round or oblong fruits with two or three locules, transparent or yellow skin and thick pericarp. With delayed ripening (<i>alc</i>), they are harvested and conserved hanging in fresh and aerated places. Populations: :CDP05385 (Torrebaja, VC), CDP05079 (Liria, VC), CDP05542 (Alginet, VC), CDP06914 (Náquera, VC), CDP01507 (Benicarló, CS), CDP01040 (Camporrobles, VC), CDP04259 (Xàtiva, VC), CDP03190 (La Plana, CS), CDP02554 (Montroi, VC), CDP01972 (Xàbia, AL).
'De la pera' (5)	Description: Intermediate size. Pear shaped fruits with two or three locules separated by thick septa, green persistent shoulders, small peduncular scar and thick pericarp. Hollow fruits are usual. Populations: CDP02614 (Chelva, VC), CDP00210 (Novelda, AL), CDP00906 (La Aparecida, AL), CDP07874 (Orihuela, AL).
'De pera' (6)	Description: Small size. Round or oblong fruits without green shoulders. Usually used for cooking. Populations: CDP04299 (Hostalet de Benasal, CS), CDP01280 (Ademuz, VC), CDP00929 (Poble Nou, Valencia, VC).
'Elchero' (7)	Description: Mid sized red tomatoes with round shape and angular section, 2 or 3 locules, slight ribbed. Populations: CDP07339 (Muchamiel, AL).
'Flor de baladre' (8)	Description: Large size (200-250 g). Slightly flattened and ribbed fruits with pink color. Populations: CDP04235 (Elche, AL), CDP07166 (Valencia, VC).
'Gordo rojo' (9)	Description: Very large size. Flat and ribbed fruits. Typical of interior areas and dry farming. Populations: CDP02826 (Millares, VC), CDP08786 (Arañuel, CS), CDP06270 (Carcaixent, VC), CDP06009 (Valencia, VC).
'Muchamiel' (10)	Description: Large size. Flat and strong ribbed fruits, numerous locules, big peduncular scar with an important corky area, hard and heavy pericarp and moderate radial cracking. Green shoulders, orange-red ripe color. It is a late variety. Populations: CDP05658 (Novelda, AL), CDP04133 (La Aparecida, AL), CDP05229 (Viver, CS), CDP00155 (Elche, AL), CDP07582 (San Juan, AL), CDP08091 (Campello, AL), CDP00700 (Muchamiel, AL), CDP01469 (San Juan, AL), CDP07889 (Buñol, VC), CDP08014 (San Juan, AL), CDP01988 (Muchamiel, AL), CDP09344 (Muchamiel, AL), CDP02195 (Muchamiel, AL), CDP08780 (Muchamiel, AL), CDP08427 (Muchamiel, AL), CDP07052 (Muchamiel, AL), CDP00386 (Muchamiel, AL), CDP04512 (Muchamiel, AL), CDP05422 (Muchamiel, AL), CDP00604 (Muchamiel, AL), CDP03096 (Orihuela, AL), CDP01971 (San Juan, AL), CDP05938 (Alboraya, VC), CDP01138 (San Juan, AL), CDP01746 (Orihuela, AL), CDP08999 (San Juan de Alicante, AL), CDP08761 (Catarroja, VC), CDP09432 (Llíria, VC).
'Negre' (11)	Description: Large size. Intense purple coloration. Fruits are flat and slightly ribbed. Populations: CDP02095 (Torrent, VC).
'Pimiento' (12)	Description: Intermediate size. Elongated fruits (similar to "Italian" peppers), green persistent shoulders, two to four locules and moderate radial cracking. Used for cooking, deep red flesh and reduced number of seeds. Populations: CDP06083 (Venta del Moro, VC), CDP04079 (Jérica, CS), CDP06446 (Fontaneres, VC), CDP05734 (Villahermosa del Río, CS), CDP01712 (Alborache, VC), CDP04056 (Catarroja, VC), CDP02391 (Moncada, VC), CDP08320 (Massamagrell, VC).
'Redondo rojo' (13)	Description: Intermediate - large size. Includes rounded, smooth red colored tomatoes. Populations: CDP07064 (Sueca, VC), CDP04562 (Carcaixent, VC).
'Rosa' (14)	Description: Very large size. Flat or slightly flat fruits with intense ribbing. Transparent skin, and pink colour. Typical of interior areas and dry farming. Populations: CDP08690 (Fontaneres, VC), CDP05702 (Castillo de Villamalefa, CS), CDP04903 (Onda, CS), CDP00764 (Aras del Alpuente, VC), CDP01302 (Rincón de Ademuz, VC), CDP09459 (Yátova, VC), CDP04904 (Alboraya, VC), CDP05992 (Requena, VC), CDP07661 (Tudela, CS), CDP03526 (Sellent, VC), CDP04303 (Valencia, VC), CDP04008 (Valencia, VC).
'Tres cantos' (15)	Description: Large size. Round shape and angular section. Red and smooth fruits, without low number of locules considering their size. Populations: CDP06491 (Carcaixent, VC).
'Valenciano' (16)	Description: Intermediate size. This varietal type show two different subtypes: "Masclot" and "Blanca" subtypes. "Masclot" (conventional "Valenciano" type) show a smaller size, hearted shape. "Blanca" show a bigger size, slightly flattened and hearted shape, and paler color in the immature fruits. Both with green shoulders, orange-red ripe color and numerous locules. Usually moderate radial and circular cracking is present. Populations: CDP07303 (Valencia, VC), CDP01509 (Sieta Aguas, VC), CDP04333 (Picassent, VC), CDP01090 (Segorbe, CS), CDP00616 (Llíria, VC), CDP02722 (Segorbe, CS), CDP05254 (Alboraya, VC), CDP06161 (Villena, AL), CDP05260 (Turis, VC), CDP07291 (Valencia, VC), CDP08276 (Sueca, VC), CDP01343 (Foios, VC), CDP04640 (Vinalosa, VC), CDP00623 (Moncada, VC), CDP04486 (L'Alcudia de Crespins, VC), CDP04829 (Pobla de Vallbona, VC), CDP09978 (Valencia, VC), CDP08151 (Valencia, VC), CDP02310 (Morella, CS), CDP00450 (Poble Nou, Valencia, VC), CDP07489 (Segorbe, CS), CDP00960 (Villargordo del Cabriel, VC), CDP04423 (Museros, VC), CDP04372 (Sieta Aguas, VC), CDP02109 (Beninova, VC), CDP05333 (Almenara, CS), CDP05691 (Vinaroz, CS), CDP00142 (Valencia, VC), CDP05729 (El Pereió, VC), CDP01649 (Picassent, VC), CDP01949 (Valencia, VC), CDP08595 (Meliana, VC), CDP02589 (Muro d'Alcoi, AL), CDP04915 (Carcaixent, VC), CDP02182 (Viveros Taxes, LN), CDP04052 (Viveros Cucala, LN), CDP06753 (Viveros Peris, LN), CDP01197 (Valencia, VC), CDP01646 (Valencia, VC), CDP05266 (Valencia, VC), CDP03596 (Valencia, VC), CDP07231 (Valencia, VC).

VC: Valencia; CS: Castellón; AL: Alicante; LN: local nurseries.

Furthermore, four commercial F₁ genetically uniform hybrids kindly provided by *Rijk Zwaan Iberica S.A* (Almería, Spain) were used as controls. The variety 'Razymo RZ' presents round, red, medium sized tomatoes, 'Gransol RZ' presents slightly flattened, large sized fruits and 'Piccota RZ' presents round, small sized Cherry type fruits and 'Mariscal RZ' presents flattened, medium to large sized fruits.

Experimental Design and Crop Conduction

Seedbeds were sown in April and transplanted to field in May in 2009 and 2010. The trial was carried out in Carcaixent (+39° 6' 37.13", -0° 26' 45.05", València, Spain). A randomized complete block design was used with two blocks, and 2 replicates of 10 plants per population and block. A spacing of 1.2 m x 0.4 m (2.1 plants m⁻²) was applied. The crop was managed using the traditional practices for tomato cultivation in the area, including staking, pruning and drip fertirrigation. In order to control *Tuta absoluta* Meyrick population, pesticide treatments were performed when insect counts suggested the convenience.

Sampling

Healthy and uniformly ripe fruits were harvested at the mature stage (visual assessment on fruit colour) from second to third truss. Samples were composed of a mix of representative fruits of each of the 10 plants in the replicate. In order to provide a biological mean, equivalent longitudinal portions for each fruit were blended (KRUPS KB720, Groupe Seb Iberica, Barcelona, Spain), and homogenized (DiAx 900, Heildolph, Germany), disrupting the tissue to particle sizes <0.4 mm. Samples were quickly cryopreserved using liquid nitrogen and were kept frozen at - 80 °C until analysis.

Characterization

All the populations were morphologically characterized to study the correlation between chemical composition and morphological traits. The following descriptors were evaluated: Fruit height (mm), fruit width (mm), fruit width to fruit height ratio, fruit core width (mm), fruit core width to fruit width ratio, pericarp thickness (mm), pericarp thickness to fruit width ratio, number of locules and fruit colour. Fruit colour was analysed using Hunter coordinates with a CR-300 colorimeter (Minolta, Japan). Results of each sample were based on the average of three determinations taken on ten representative fruits. The results were reported as L, a, b and a/b rate.

L-ascorbic acid quantification

Ascorbic acid was quantified by capillary zone electrophoresis using a P/ACE System MDQ (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA) using the method described by Galiana-Balaguer *et al.* (2001). Two grams of sample were thawed in the dark at 4 °C and centrifuged at 3500 rpm for 5 minutes. The supernatant was diluted in 2% (w:v) metaphosphoric acid to avoid oxidation, and potassium hydrogen phthalate was added as internal standard. Samples were filtered, prior to injection, using a 0.22 µm membrane filter (Millipore, Ultrafree-MC, MA, USA).

Uncoated fused-silica capillaries with a 31.2 cm total length, 21 cm effective length, 363 µm e.d. and 50 µm i.d. were used (Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA). Hydrodynamic injection of samples was carried out at 0.5 psi for 5 seconds. Separation

was performed at -15 kV and 25 °C. The detection wavelength was 254 nm. Two analytical replicates per sample were made. Results were expressed as mg kg⁻¹ fresh weight (fw).

Carotenoid quantification

Samples were thawed in the dark at 4 °C and 100 mg of the homogenate were extracted with 7 ml of a 4:3 v/v, ethanol/hexane solution at 4 °C, during 1 hour at 200 rpm using an horizontal shaker (Platform Rocker STR6, Viví, Stuart). Hexane was complemented with 0.05% butylated hydroxytoluene, (BHT). Hexane supernatant was separated and concentrated using a SpeedVac (Termo, RVT 4104) to complete dryness, and then re-suspended in 500 µL of hexane. Sudan I was added as internal standard and the processed sample was then filtered using a hydrophobic filter of 0.20 µm (Millex-FG, Phobic PTFE). During all the process samples were protected from light.

The quantification of the carotenoids lycopene and β-carotene was carried out by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) using the method reported by García-Plazaola and Becerril (1999) with slight modifications. Analyses were performed on a 1200 series chromatographer (Agilent Technologies, Santa Clara, US) with G1322A vacuum degasser, G1312A quaternary pump, G1329A standard autosampler, G1316 thermostated column compartment and G1315b diode array detector. A reserved phase Tracer Spherisorb ODS-1 (250 x 4.6 mm i.d., 5 µm particle size) column protected by a guard column (20 x 3.9 mm i.d., 4 µm particle size) was used. Mobile phase consisted of two components: solvent A with 84:9:7 v/v/v, acetonitrile/methanol/water and solvent B with 68:32 v/v, methanol/ethyl acetate. The injection volume was 40 µL. Sample was then eluted using a lineal gradient from 100% of solvent A to 100% of solvent B during 12 minutes, followed by an isocratic elution of 100% of solvent B during 7 minutes. Then, a lineal gradient was established from 100% of solvent B to 100% of solvent A during 1 minute. Finally, an isocratic elution of 100% of solvent A during 6 minutes was performed to allow the column to re-equilibrate. The integrations of β-carotene and lycopene were performed at 445 nm and 470 nm respectively. Two analytical replicates per sample were made. The results were reported as mg kg⁻¹ fw.

Total phenolic content and antioxidant activity

Total phenolic content was determined according to the Folin-Ciocalteu procedure (Singleton and Rossi, 1965). An aliquot of 1.3 mL of the supernatant of the extracted phenolic sample was mixed with 1 mL of diluted (10% v/v) Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Germany) and allowed to stand at room temperature for 5 min. One millilitre of a sodium carbonate solution (60 g L⁻¹) was then added to the mixture, and the absorbance was measured at 760 nm in a Jenway 6305 UV-vis spectrophotometer after the mixture had stood for 90 min at room temperature. Caffeic acid (Sigma-Aldrich Chemie) was used as standard. The phenolic acid content was expressed as caffeic acid equivalents in milligrams per 100 g of fresh weight.

Antioxidant activity was estimated using the colourimetric DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) assay described by Sánchez-Moreno *et al.* (1998). Antioxidant capacity results were presented as trolox equivalents (µmol TE g⁻¹).

Statistical analysis

Correlations and bilateral signification between variables were calculated. Population and block effects were analysed with an ANOVA. Variety effect was not estimated due to the unbalanced design and the low number of populations in some varieties. Statistical analyses were performed using the statistical package SPSS v.12 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Bartlett's test was used to check significant differences in the variances of the populations evaluated in each year.

For the analysis of variability, intra-population coefficient of variation (IPCV) was calculated for each year, as well as the mean of IPCV for both years. Inter-year coefficient of variation (IYCV) was calculated with the means of the contents for each year.

Results

The growing cycle was 15 days shorter in 2009 than in 2010. Despite this difference in the growing speed, environmental conditions were not so distinct (**figure 1**). Photosynthetically active radiation (PAR) was similar in both years (**figure 1**), though cumulative PAR in the first third of the cycle was higher in 2009. Final cumulative PAR per day was also slightly higher in 2009 ($1838 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $1807 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Temperatures, especially maximum ones, were slightly higher in 2009 during most part of the growing cycle than in 2010, with mean maximum temperature for 2009 of $30.1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ and $29.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 2010. Several days with maximum temperatures higher than $32 \text{ }^{\circ}\text{C}$ were registered at the end of the cycles (32 days for 2009 and 45 days for 2010) with mean maximum temperature for those days of $35.7 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in 2009 and $34.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in 2010.

Lycopene accumulation was strongly influenced by the population factor ($p < 10^{-6}$) and the interaction between population and year of cultivation ($p = 0.0005$), while the year of cultivation (environment) was not significant ($p = 0.85$). On the contrary, in the case of β -carotene the factors population ($p < 10^{-6}$), year of cultivation ($p = 0.00003$) and their interaction were highly significant ($p < 10^{-6}$). Lower contents of β -carotene were obtained with the environmental conditions of 2010. In the case of ascorbic acid, the year effect was not significant ($p = 0.094$) though a year x population interaction was detected ($p = 3 \cdot 10^{-5}$). Following the trend for the other compounds, population effect was highly significant ($p < 10^{-6}$). In the case of total phenolic content and antioxidant activity, the year factor could not be analysed, but in both cases a highly significant population effect was detected ($p < 10^{-4}$ in both cases).

Moderate significant correlations were obtained between lycopene content and fruit external colour parameters (**table 2**). For this compound, low significant correlations were also found with fruit height (positive), with fruit width and with fruit width to fruit height ratio (negative). For β -carotene only low significant negative correlations were found (< 0.4) with colour, size and shape parameters and with number of locules. In this case, the only positive correlation was found with the ratio pericarp thickness to fruit width. In the case of ascorbic acid, only low significant negative correlations were found with colour and size parameters and with the number of locules. Total phenolic content showed low positive correlations with hunter a/b and pericarp thickness and low negative

correlations with fruit size parameters (weight, width and no. of locules). Antioxidant activity had only a low positive correlation with fruit weight.

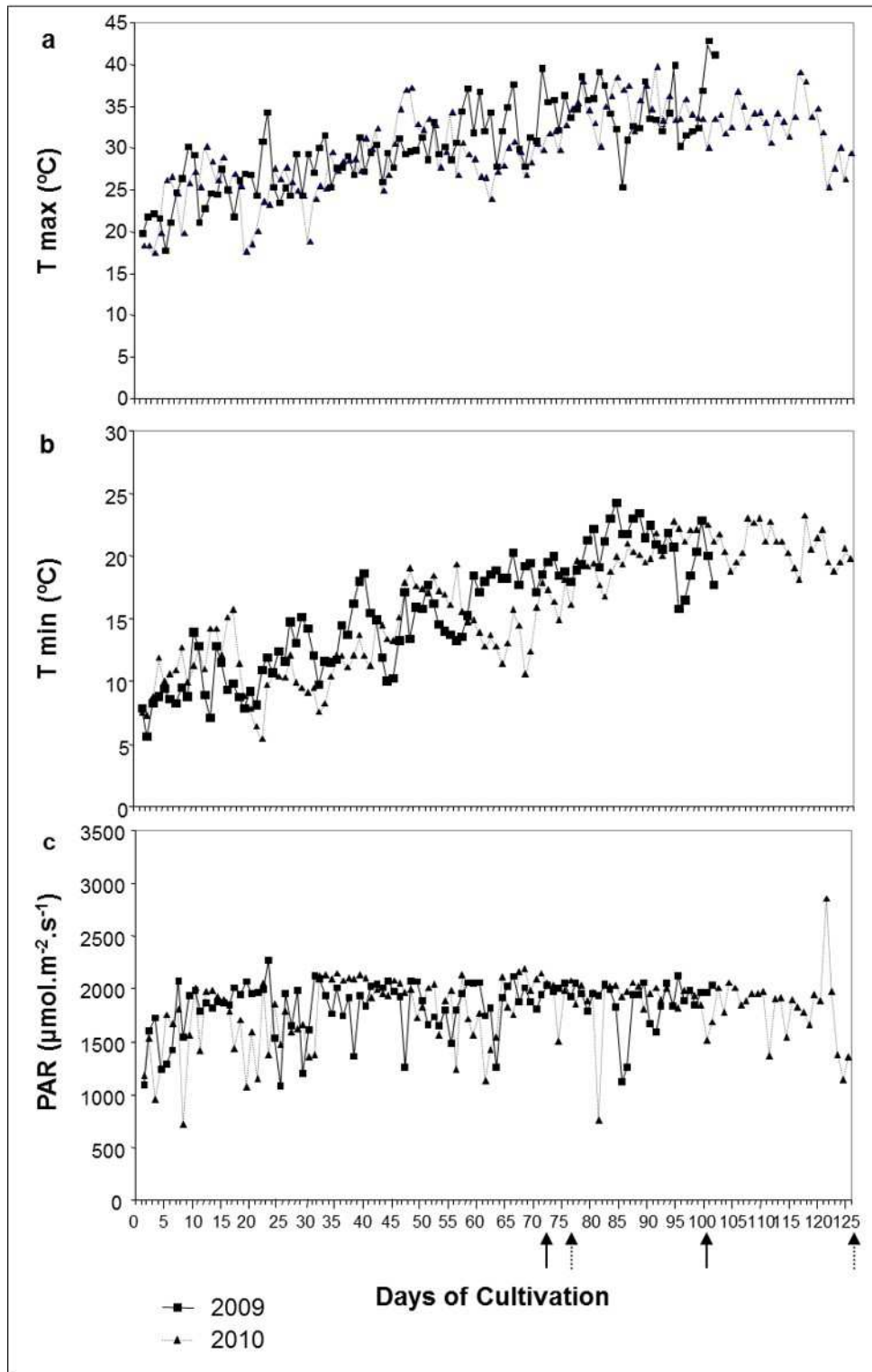


Figure 1. Climatic conditions of cultivation, including maximum temperature, minimum temperature and photosynthetically active radiation. Arrows indicate the date of start and end of harvest (continuous: 2009; dotted: 2010).

Table 2. Correlations between functional compounds and morphological traits (only significant correlations higher than 0.2 are shown; p-values in parentheses).

	β -carotene	Lycopene	Ascorbic acid	Total phenolic content	Antioxidant activity
β -carotene					
Lycopene					
Ascorbic acid					
Total phenolic content					0.20 (0.031)
Antioxidant activity				0.20 (0.031)	
Hunter a	-0.26(0.004)	0.47 (0.000)	-0.24 (0.006)		
Hunter b		-0.30 (0.000)			
Hunter a/b	-0.28 (0.003)	0.53 (0.00)		-0,20 (0,031)	
Hunter L		-0.55 (0.000)			
Fruit height	-0.27 (0.003)	0.25 (0.006)	-0.25 (0.004)		
Fruit width/height ratio		-0.39 (0.000)			
Fruit core width/Fruit width ratio	-0.28 (0.001)				
Fruit width	-0.28 (0.002)	-0.28 (0.001)		-0.27 (0.003)	
Fruit core width	-0.36 (0.000)		-0.23 (0.012)		
Pericarp thickness				0.25 (0.007)	
Pericarp thickness/Fruit width ratio	0.21 (0.02)				
Number of locules	-0.31 (0.000)		-0.21 (0.017)	-0.24 (0.007)	
Fruit weight	-0.26 (0.004)		-0.20 (0.023)	-0.21 (0.021)	0.22 (0.018)

No significant correlation over 0.2 was detected among the contents of the different compounds and only one significant correlation over 0.2 was found among one of them (phenolic content) and antioxidant activity.

The levels of variation detected in the accumulation of functional compounds were population and year dependant. Bartlett’s test confirmed that the variances were affected by the year factor for lycopene ($p < 10^{-6}$ in 2009 and $p = 0.0003$ in 2010), β -carotene ($p < 10^{-6}$ both years) and ascorbic acid ($p < 10^{-6}$ both years). Consequently, variability was analysed in intra-population and inter-year levels. Ascorbic acid accumulation registered the higher level of intra-population coefficient of variation (IPCV; **tables 3 and 4**), with mean values considering all populations of 0.40, followed by lycopene (0.33), total phenolic content (0.30), antioxidant activity (0.20) and β -carotene (0.17). A similar pattern was observed for the variation between different years, but with limited differences in the variation of the carotenoids (**table 3**). In this case, the mean inter-year coefficient of variation, IYCV, was respectively 0.35, 0.24, 0.29, 0.35 and 0.28. The level of variation was also affected by environmental conditions. For example, in 2010 the IPCVs for ascorbic acid were lower.

A high level of intra-varietal variation was detected for all the variables, though for ascorbic acid it was considerably lower (**table 4**). Among the different varieties, ‘De colgar’ and ‘Rosa’ showed the higher range of variation in their populations. These varieties also showed high levels of mean IPCV. The high level of variation made difficult to assign a specific functional profile for each variety. Nevertheless general trends could be found. For example, the variety ‘Amarillo’ showed low levels of carotenoids, an expected result considering their yellow external colour

Table 3. β -carotene, lycopene and ascorbic acid contents (mg kg⁻¹fw) and coefficients of variation detected in evaluated populations. For each population variety is indicated in parentheses (refer to table 1).

Populations	β -Carotene Content (mg kg ⁻¹)			Lycopene Content (mg kg ⁻¹)			Ascorbic Acid Content (mg kg ⁻¹)		
	2009	2010	TOTAL	2009	2010	TOTAL	2009	2010	TOTAL
	Mean IPCV ¹	Mean IPCV ¹	Mean IYCV ² mIPCV ³	Mean IPCV ¹	Mean IPCV ¹	Mean IYCV ² mIPCV ³	Mean IPCV ¹	Mean IPCV ¹	Mean IYCV ² mIPCV ³
CDP01733 (1)	14.41 0.10	7.06 0.08	10.73 0.48 0.09	9.75 0.17	15.06 0.11	12.40 0.30 0.14	179.45 0.04	119.63 0.23	149.54 0.28 0.13
CDP08734 (2)	23.53 0.09	16.09 0.13	19.81 0.27 0.11	137.15 0.39	64.36 0.17	100.76 0.51 0.28	270.61 0.50	169.77 0.27	220.19 0.32 0.39
CDP07243 (3)	20.56 0.16	14.29 0.12	17.42 0.25 0.14	61.98 0.62	75.86 0.14	68.92 0.14 0.38	161.45 0.12	180.23 0.09	170.84 0.08 0.10
CDP07457 (3)	21.01 0.01	13.26 0.12	17.13 0.32 0.07	68.04 0.61	60.52 0.12	64.28 0.08 0.36	154.10 0.22	93.99 0.19	124.05 0.34 0.21
CDP05973 (3)	21.10 0.24	12.70 0.28	16.90 0.35 0.26	93.73 0.67	66.09 0.16	79.91 0.24 0.42	231.34 0.05	200.90 0.41	216.12 0.10 0.20
CDP04955 (3)	17.75 0.02	13.25 0.14	15.50 0.21 0.08	32.77 0.24	67.67 0.12	50.22 0.49 0.18	88.76 0.91	103.00 0.22	95.88 0.11 0.57
CDP08237 (3)	19.67 0.27	13.50 0.16	16.59 0.26 0.21	54.04 0.45	75.13 0.44	64.58 0.23 0.44	129.48 0.98	225.38 0.20	177.43 0.38 0.59
CDP07843 (3)	18.15 0.05	15.96 0.21	17.06 0.09 0.13	72.14 0.02	66.73 0.15	69.43 0.06 0.08	193.76 0.36	105.24 0.10	149.5 0.42 0.23
CDP05385 (4)	42.67 0.47	26.77 0.27	34.72 0.32 0.37	86.24 1.01	90.49 0.24	88.37 0.03 0.62	31.09 1.71	243.97 0.28	137.53 1.09 0.99
CDP05079 (4)	23.97 0.23	18.63 0.15	21.30 0.18 0.19	39.30 0.42	32.88 0.24	36.09 0.13 0.33	249.21 0.21	257.90 0.44	253.55 0.02 0.32
CDP05542 (4)	33.12 0.34	19.49 0.40	26.31 0.37 0.37	53.75 0.46	63.15 0.50	58.45 0.11 0.48	139.04 0.75	182.63 0.31	160.83 0.19 0.53
CDP06914 (4)	26.01 0.23	12.55 0.08	19.28 0.49 0.16	40.02 0.55	31.02 0.46	35.52 0.18 0.50	116.05 0.97	142.07 0.64	129.06 0.14 0.80
CDP01507 (4)	29.33 0.22	15.70 0.29	22.52 0.43 0.25	86.17 0.42	36.32 0.32	61.25 0.58 0.37	168.01 0.63	287.87 0.36	227.94 0.37 0.50
CDP01040 (4)	26.35 0.04	24.04 0.23	25.19 0.06 0.13	38.74 0.19	51.22 0.38	44.98 0.20 0.28	291.65 0.16	233.77 0.12	262.71 0.16 0.14
CDP04259 (4)	24.91 0.19	13.36 0.10	19.13 0.43 0.15	55.83 0.44	55.95 0.31	55.89 0.00 0.37	112.43 0.78	309.19 0.14	210.81 0.66 0.46
CDP03190 (4)	23.31 0.28	23.10 0.23	23.21 0.01 0.26	45.52 0.73	42.37 0.25	43.94 0.05 0.49	36.63 1.37	187.78 0.33	112.20 0.95 0.85
CDP02554 (4)	34.74 0.28	12.81 0.25	23.78 0.65 0.26	29.63 0.55	19.60 0.20	24.61 0.29 0.37	15.80 1.98	174.83 0.21	95.32 1.18 1.10
CDP01972 (4)	25.65 0.16	17.68 0.18	21.66 0.26 0.17	28.05 0.12	34.60 0.34	31.32 0.15 0.23	178.92 0.29	315.62 0.16	247.27 0.39 0.23
CDP02614 (5)	18.52 0.20	10.17 0.09	14.34 0.41 0.15	103.39 0.79	80.23 0.11	91.81 0.18 0.45	132.04 0.35	121.70 0.55	126.87 0.06 0.45
CDP00210 (5)	26.23 0.14	10.91 0.35	18.57 0.58 0.24	91.88 0.05	30.27 0.59	61.08 0.71 0.32	161.26 0.09	164.47 0.65	162.86 0.01 0.37
CDP00906 (5)	21.90 0.13	16.22 0.21	19.06 0.21 0.17	51.07 0.09	73.18 0.39	62.12 0.25 0.24	106.02 0.18	58.34 0.19	82.18 0.41 0.19
CDP07874 (5)	21.71 0.01	18.26 0.25	19.98 0.12 0.13	76.88 0.38	90.37 0.31	83.62 0.11 0.35	144.87 0.46	99.38 0.29	122.12 0.26 0.38
CDP04299 (6)	17.37 0.08	9.33 0.15	13.35 0.43 0.11	95.64 0.25	82.59 0.31	89.11 0.10 0.28	155.28 0.23	149.90 0.34	152.59 0.02 0.28
CDP01280 (6)	18.07 0.10	7.88 0.31	12.97 0.56 0.21	98.90 0.30	90.26 0.40	94.58 0.06 0.35	132.65 0.30	80.29 0.01	106.47 0.35 0.15
CDP00929 (6)	19.60 0.15	11.25 0.25	15.42 0.38 0.20	112.63 0.45	134.55 0.09	123.59 0.13 0.27	173.36 0.20	125.84 0.45	149.60 0.22 0.32
CDP07339 (7)	23.01 0.18	14.33 0.21	18.67 0.33 0.20	82.45 0.51	52.16 0.25	67.31 0.32 0.38	201.59 0.41	160.89 0.41	181.24 0.16 0.31
CDP04235 (8)	25.55 0.06	17.29 0.22	21.42 0.27 0.14	78.52 0.25	58.82 0.24	68.67 0.20 0.24	132.65 0.15	77.64 0.29	105.15 0.37 0.22
CDP07166 (8)	19.62 0.27	14.56 0.19	17.09 0.21 0.23	77.78 0.90	57.85 0.06	67.82 0.21 0.48	234.78 0.44	187.37 0.17	211.08 0.16 0.30
CDP02826 (9)	23.33 0.37	11.29 0.11	17.31 0.49 0.24	129.66 0.48	73.02 0.50	101.34 0.40 0.49	149.24 0.31	101.66 0.37	125.45 0.27 0.34
CDP08786 (9)	16.94 0.09	12.87 0.15	14.90 0.19 0.12	31.15 0.01	85.11 0.22	58.13 0.66 0.11	60.50 1.37	122.94 0.26	91.72 0.48 0.82
CDP06270 (9)	20.27 0.21	12.46 0.24	16.37 0.34 0.23	73.52 0.47	69.54 0.27	71.53 0.04 0.37	71.91 0.83	211.81 0.44	141.86 0.70 0.64
CDP06009 (9)	22.78 0.13	15.10 0.16	18.94 0.29 0.14	54.28 0.18	85.93 0.43	70.11 0.32 0.30	112.13 0.67	152.14 0.09	132.13 0.21 0.38
CDP05658 (10)	19.86 0.10	27.17 0.61	23.51 0.22 0.35	58.96 0.03	78.80 0.59	68.88 0.20 0.31	146.20 0.19	96.26 0.47	121.23 0.29 0.33
CDP04133 (10)	20.04 0.01	12.21 0.21	16.13 0.34 0.11	60.81 0.16	52.41 0.47	56.61 0.10 0.31	117.83 0.35	132.42 0.22	125.13 0.08 0.28
CDP05229 (10)	18.57 0.21	10.27 0.16	14.42 0.41 0.19	39.54 0.46	70.24 0.18	54.89 0.40 0.32	89.98 0.63	162.72 0.07	126.35 0.41 0.35
CDP00155 (10)	18.44 0.19	13.99 0.18	16.21 0.19 0.18	44.09 0.50	47.64 0.17	45.86 0.05 0.34	144.36 0.19	84.35 0.57	114.35 0.37 0.38
CDP07582 (10)	20.96 0.17	13.12 0.39	17.04 0.33 0.28	47.93 0.33	51.76 0.40	49.85 0.05 0.37	90.02 0.40	110.33 0.50	100.17 0.14 0.45
CDP08091 (10)	19.27 0.07	12.98 0.32	16.13 0.28 0.19	48.82 0.43	40.83 0.29	44.83 0.13 0.36	150.34 0.52	189.97 0.06	170.15 0.16 0.29
CDP00700 (10)	19.33 0.03	16.24 0.28	17.78 0.12 0.15	68.45 0.73	43.98 0.36	56.21 0.31 0.54	176.8 0.26	45.98 0.04	111.39 0.83 0.15
CDP01469 (10)	19.78 0.09	17.30 0.19	18.54 0.09 0.14	57.21 0.20	65.97 0.45	61.59 0.10 0.33	166.24 0.21	117.24 0.11	141.74 0.24 0.16
CDP07889 (10)	20.34 0.14	15.16 0.13	17.75 0.21 0.14	54.63 0.41	54.70 0.46	54.66 0.00 0.44	40.54 1.98	130.38 0.28	85.46 0.74 1.13
CDP08014 (10)	18.66 0.13	11.91 0.13	15.29 0.31 0.13	31.60 0.19	44.07 0.34	37.84 0.23 0.27	79.44 0.70	127.25 0.19	103.35 0.33 0.44
CDP01988 (10)	17.81 0.03	15.65 0.22	16.73 0.09 0.12	34.94 0.15	53.63 0.06	44.28 0.30 0.10	175.49 0.17	266.96 0.00	221.23 0.29 0.09
CDP09344 (10)	18.10 0.06	15.90 0.35	17.00 0.09 0.21	28.16 0.07	53.40 0.21	40.78 0.44 0.14	187.63 0.15	87.57 0.58	137.60 0.51 0.37
CDP02195 (10)	20.89 0.06	16.40 0.31	18.64 0.17 0.18	80.03 0.80	52.53 0.05	66.28 0.29 0.43	155.68 0.06	89.88 0.69	122.78 0.38 0.38
CDP08780 (10)	18.34 0.07	15.32 0.34	16.83 0.13 0.20	49.08 0.03	32.25 0.26	40.66 0.29 0.14	134.24 0.28	61.33 0.43	97.78 0.53 0.35
CDP08427 (10)	17.29 0.05	18.42 0.35	18.42 0.04 0.20	24.53 0.33	61.14 0.45	42.83 0.60 0.39	230.54 0.33	95.46 0.52	163.00 0.59 0.43
CDP07052 (10)	20.12 0.11	16.69 0.26	18.41 0.13 0.18	49.59 0.41	50.22 0.41	49.90 0.01 0.41	200.11 0.31	81.94 0.12	141.02 0.59 0.21

¹IPCV: Intra-population coefficient of variation for the year. ²IYCV Inter-year coefficient of variation (using the mean contents of 2009 and 2010). ³mIPCV: Mean IPCV.

Table 3 (Cont.). β -carotene, lycopene and ascorbic acid contents (mg kg⁻¹) and coefficients of variation detected in evaluated populations. For each population variety is indicated in parentheses (refer to table 1).

Populations	β -Carotene Content (mg kg ⁻¹)						Lycopene Content (mg kg ⁻¹)						Ascorbic Acid Content (mg kg ⁻¹)								
	2009		2010		TOTAL		2009		2010		TOTAL		2009		2010		TOTAL				
	Mean	IPC ¹	Mean	IPC ¹	Mean	IYCV ²	mIPC ³	Mean	IPC ¹	Mean	IPC ¹	Mean	IYCV ²	mIPC ³	Mean	IPC ¹	Mean	IYCV ²	mIPC ³		
CDP00386 (10)	28.71	0.10	11.51	0.21	20.11	0.60	0.15	82.74	0.25	33.85	0.54	58.30	0.59	0.39	142.93	0.28	116.00	0.37	129.46	0.15	0.33
CDP04512 (10)	19.10	0.06	15.37	0.19	17.24	0.15	0.12	50.02	0.18	66.06	0.11	58.04	0.20	0.14	203.78	0.05	87.04	0.29	145.41	0.57	0.17
CDP05422 (10)	16.47	0.17	14.18	0.30	15.32	0.11	0.23	27.62	0.06	59.64	0.80	43.63	0.52	0.43	185.02	0.11	60.59	0.17	122.81	0.72	0.14
CDP00604 (10)	20.75	0.09	14.91	0.30	17.83	0.23	0.19	58.31	0.10	58.17	0.13	58.24	0.00	0.12	143.41	0.20	76.00	0.32	109.71	0.43	0.26
CDP03096 (10)	20.50	0.09	14.65	0.12	17.58	0.24	0.10	57.71	0.31	46.34	0.48	52.02	0.15	0.40	132.65	0.31	87.19	0.59	109.92	0.29	0.45
CDP01971 (10)	17.67	0.12	12.26	0.07	14.96	0.26	0.09	51.25	0.49	30.67	0.16	40.96	0.36	0.33	145.26	0.03	55.21	0.40	100.24	0.64	0.21
CDP05938 (10)	22.20	0.10	13.80	0.15	18.00	0.33	0.12	63.11	0.38	37.51	0.18	50.31	0.36	0.28	103.80	0.71	96.19	0.78	99.99	0.05	0.75
CDP01138 (10)	19.40	0.00	16.56	0.40	17.98	0.11	0.20	44.56	0.15	51.10	0.25	47.83	0.10	0.20	169.90	0.24	210.31	0.18	190.10	0.15	0.21
CDP01746 (10)	18.22	0.10	17.00	0.07	17.61	0.05	0.08	41.49	0.58	48.53	0.21	45.01	0.11	0.40	139.07	0.15	74.95	0.43	107.01	0.42	0.29
CDP08999 (10)	20.17	0.16	15.11	0.04	17.64	0.20	0.10	65.43	0.49	60.56	0.46	63.00	0.05	0.48	196.76	0.22	140.61	0.41	168.68	0.24	0.31
CDP08761 (10)	18.99	0.07	11.61	0.07	15.3	0.34	0.07	49.88	0.49	44.91	0.34	47.39	0.07	0.41	84.19	1.19	167.99	0.75	126.09	0.47	0.97
CDP09432 (10)	22.92	0.28	12.78	0.09	17.85	0.40	0.19	121.95	0.58	35.15	0.05	78.55	0.78	0.32	162.31	0.22	105.92	0.15	134.11	0.30	0.19
CDP02095 (11)	18.39	0.07	11.61	0.28	15.00	0.32	0.17	41.33	0.18	54.89	0.25	48.11	0.20	0.21	149.11	0.29	219.80	0.37	184.45	0.27	0.33
CDP06083 (12)	19.89	0.11	12.21	0.23	16.05	0.34	0.17	152.20	0.77	112.24	0.32	132.22	0.21	0.54	32.52	1.16	112.97	0.41	72.74	0.78	0.78
CDP04079 (12)	17.25	0.08	11.69	0.30	14.47	0.27	0.19	51.98	0.57	107.25	0.26	79.62	0.49	0.42	107.39	1.02	178.35	0.58	142.87	0.35	0.80
CDP06446 (12)	19.07	0.21	10.98	0.38	15.02	0.38	0.30	78.67	0.35	78.52	0.75	78.59	0.00	0.55	191.26	0.35	116.69	0.59	153.97	0.34	0.47
CDP05734 (12)	17.62	0.13	11.84	0.20	14.73	0.28	0.17	63.49	0.25	97.19	0.32	80.34	0.30	0.28	138.39	0.18	108.77	0.48	123.58	0.17	0.33
CDP01712 (12)	20.49	0.17	13.33	0.06	16.91	0.30	0.12	94.33	0.62	89.23	0.17	91.78	0.04	0.39	196.38	0.35	93.47	0.29	144.92	0.50	0.32
CDP04056 (12)	19.30	0.09	14.57	0.17	16.93	0.20	0.13	118.53	0.23	112.26	0.09	115.40	0.04	0.16	78.55	1.23	72.38	0.45	75.47	0.06	0.84
CDP02391 (12)	20.43	0.17	10.38	0.21	15.41	0.46	0.19	58.42	0.40	78.02	0.30	68.22	0.20	0.35	132.77	0.22	161.09	0.56	146.93	0.14	0.39
CDP08320 (12)	19.47	0.17	9.94	0.25	14.70	0.46	0.21	85.98	0.64	96.17	0.38	91.08	0.08	0.51	202.83	0.10	120.78	0.13	161.81	0.36	0.11
CDP07064 (13)	38.55	0.46	24.53	0.25	31.54	0.31	0.36	94.64	0.51	76.76	0.15	85.70	0.15	0.33	117.36	0.23	126.22	0.28	121.79	0.05	0.25
CDP04562 (13)	24.01	0.01	13.26	0.15	18.63	0.41	0.08	112.13	0.46	46.35	0.33	79.24	0.59	0.39	133.84	0.91	96.22	0.29	115.03	0.23	0.60
CDP08690 (14)	16.31	0.11	10.25	0.36	13.28	0.32	0.23	30.81	0.33	53.10	0.53	41.96	0.38	0.43	154.07	0.13	133.17	0.23	143.62	0.10	0.18
CDP05702 (14)	17.08	0.05	12.03	0.08	14.56	0.25	0.06	31.52	0.18	75.21	0.31	53.37	0.58	0.25	161.28	0.57	187.38	0.39	174.33	0.11	0.48
CDP04903 (14)	20.46	0.10	9.66	0.20	15.06	0.51	0.15	58.08	0.20	55.61	0.34	56.84	0.03	0.27	33.68	1.08	106.71	0.57	70.19	0.74	0.82
CDP00764 (14)	20.41	0.15	11.63	0.06	16.02	0.39	0.10	43.55	0.16	74.65	0.62	59.10	0.37	0.39	21.16	1.15	124.09	0.36	72.63	1.00	0.76
CDP01302 (14)	18.37	0.00	12.54	0.13	15.46	0.27	0.06	34.68	0.27	73.42	0.41	54.05	0.51	0.34	0.00	0.00	114.82	0.92	57.41	1.41	0.46
CDP09459 (14)	19.98	0.36	13.00	0.03	16.49	0.30	0.19	79.17	0.95	85.00	0.35	82.08	0.05	0.65	146.74	0.42	237.67	0.30	192.20	0.33	0.36
CDP04904 (14)	19.45	0.03	11.55	0.14	15.50	0.36	0.09	90.95	0.40	71.99	0.19	81.47	0.16	0.29	190.61	0.05	122.70	0.29	156.65	0.31	0.17
CDP05992 (14)	18.06	0.17	10.01	0.23	14.03	0.41	0.20	39.63	0.71	60.36	0.41	50.00	0.29	0.56	38.85	1.16	96.46	0.47	67.66	0.60	0.82
CDP07661 (14)	15.52	0.06	7.95	0.26	11.73	0.46	0.16	22.86	0.27	42.31	0.43	32.58	0.42	0.35	62.25	0.86	124.26	0.76	93.26	0.47	0.81
CDP03526 (14)	16.99	0.14	10.86	0.25	13.93	0.31	0.19	97.12	0.51	101.57	0.60	99.35	0.03	0.56	85.89	0.63	64.21	0.46	75.05	0.20	0.54
CDP04303 (14)	22.47	0.00	12.08	0.02	17.27	0.43	0.01	229.54	0.51	74.32	0.37	151.93	0.72	0.44	142.28	0.42	168.83	0.68	155.56	0.12	0.55
CDP04008 (14)	16.67	0.06	12.41	0.25	14.54	0.21	0.15	61.73	0.02	82.02	0.28	71.87	0.20	0.15	210.32	0.08	156.18	0.35	183.25	0.21	0.21
CDP06491 (15)	21.18	0.18	10.65	0.10	15.92	0.47	0.14	48.43	0.44	54.24	0.31	51.33	0.08	0.38	113.51	0.30	126.39	0.84	119.95	0.08	0.57
CDP07303 (16)	21.45	0.19	15.79	0.15	18.62	0.22	0.17	73.64	0.61	90.61	0.22	82.12	0.15	0.42	153.40	0.15	100.70	0.41	127.05	0.29	0.28
CDP01509 (16)	19.56	0.06	10.32	0.30	14.94	0.44	0.18	81.27	0.16	42.29	0.18	61.78	0.45	0.17	131.42	0.17	55.91	0.16	93.67	0.57	0.17
CDP04333 (16)	19.53	0.16	12.73	0.22	16.13	0.30	0.19	65.20	0.49	81.20	0.30	73.20	0.15	0.40	14.99	1.99	134.31	0.51	74.65	1.13	1.25
CDP01090 (16)	21.50	0.04	11.51	0.51	16.50	0.43	0.28	50.52	0.42	62.83	0.48	56.68	0.15	0.45	81.78	0.25	133.10	0.54	107.44	0.34	0.40
CDP00616 (16)	20.12	0.14	14.12	0.16	17.12	0.25	0.15	74.17	0.15	72.62	0.40	73.40	0.01	0.27	49.01	1.09	76.58	0.49	62.79	0.31	0.79
CDP02722 (16)	19.27	0.11	10.51	0.20	14.89	0.42	0.15	54.70	0.36	50.27	0.30	52.48	0.06	0.33	112.92	0.08	143.58	0.51	128.25	0.17	0.29
CDP05254 (16)	18.90	0.08	15.36	0.33	17.13	0.15	0.20	55.10	0.27	83.48	0.30	69.29	0.29	0.28	160.95	0.25	159.23	0.20	160.09	0.01	0.22
CDP06161 (16)	20.97	0.16	14.84	0.16	17.90	0.24	0.16	62.73	0.38	79.75	0.32	71.24	0.17	0.35	63.63	0.92	135.34	0.13	99.49	0.51	0.53
CDP05260 (16)	19.89	0.10	12.08	0.24	15.99	0.35	0.17	62.77	0.31	58.80	0.22	60.79	0.05	0.26	115.21	0.51	150.13	0.21	132.67	0.19	0.36
CDP07291 (16)	19.24	0.23	10.69	0.38	14.97	0.40	0.30	55.43	0.70	56.71	0.51	56.07	0.02	0.61	76.49	0.53	248.24	0.22	162.36	0.75	0.37
CDP08276 (16)	18.91	0.14	18.69	0.10	18.80	0.01	0.12	39.83	0.04	90.87	0.17	65.35	0.55	0.11	191.77	0.07	102.39	0.21	147.08	0.43	0.14
CDP01343 (16)	21.13	0.17	13.56	0.13	17.35	0.31	0.15	66.52	0.38	62.93	0.31	64.73	0.04	0.34	107.48	0.40	157.91	0.61	132.69	0.27	0.51

¹IPC¹: Intra-population coefficient of variation for the year. ²IYCV Inter-year coefficient of variation (using the mean contents of 2009 and 2010). ³mIPC³: Mean IPC¹.

Table 3 (Cont.). β -carotene, lycopene and ascorbic acid contents (mg kg⁻¹fw) and coefficients of variation detected in evaluated populations. For each population variety is indicated in parentheses (refer to table 1).

Populations	β -Carotene Content (mg kg ⁻¹)						Lycopene Content (mg kg ⁻¹)						Ascorbic Acid Content (mg kg ⁻¹)								
	2009		2010		TOTAL		2009		2010		TOTAL		2009		2010		TOTAL				
	Mea	IPC	Mean	IPC	Mean	IYCV	mIPC	Mean	IPC	Mean	IPC	Mean	IYCV	mIPC	Mean	IPC	Mean	IYCV	mIPC		
CDP04640 (16)	21.9	0.27	15.43	0.18	18.66	0.25	0.22	66.52	0.38	57.65	0.19	62.08	0.10	0.28	165.8	0.25	77.35	0.20	121.6	0.51	0.22
CDP00623 (16)	21.3	0.16	24.21	0.48	22.75	0.09	0.32	53.22	0.27	125.0	0.20	89.12	0.57	0.24	54.59	0.77	146.5	0.20	100.5	0.65	0.49
CDP04486 (16)	21.5	0.12	15.97	0.49	18.74	0.21	0.30	56.44	0.26	108.7	0.66	82.60	0.45	0.46	169.7	0.29	176.9	0.64	173.3	0.03	0.47
CDP04829 (16)	17.2	0.06	14.30	0.28	15.76	0.13	0.17	92.51	0.03	90.92	0.29	91.71	0.01	0.16	98.66	0.15	84.11	0.36	91.38	0.11	0.25
CDP09978 (16)	19.4	0.14	24.34	0.29	21.87	0.16	0.21	42.12	0.17	107.6	0.27	74.87	0.62	0.22	156.9	0.14	133.2	0.12	145.0	0.12	0.13
CDP08151 (16)	18.1	0.10	13.67	0.15	15.93	0.20	0.13	70.62	0.60	75.14	0.20	72.88	0.04	0.40	142.3	0.43	123.7	0.30	133.0	0.10	0.37
CDP02310 (16)	20.7	0.10	16.30	0.18	18.51	0.17	0.14	77.74	0.43	73.25	0.13	75.50	0.04	0.28	65.94	1.06	153.7	0.40	109.8	0.57	0.73
CDP00450 (16)	20.2	0.08	22.70	0.30	21.46	0.08	0.19	94.86	0.73	123.9	0.27	109.4	0.19	0.50	157.1	0.36	180.6	0.29	168.8	0.10	0.32
CDP07489 (16)	19.3	0.05	14.30	0.17	16.81	0.21	0.11	52.80	0.02	79.23	0.21	66.01	0.28	0.11	125.6	0.07	110.4	0.25	118.0	0.09	0.16
CDP00960 (16)	27.3	0.05	15.09	0.21	21.24	0.41	0.13	92.02	0.07	77.78	0.22	84.90	0.12	0.15	113.5	0.12	84.36	0.15	98.94	0.21	0.14
CDP04423 (16)	19.6	0.17	21.39	0.28	20.49	0.06	0.22	61.12	0.63	92.28	0.28	76.70	0.29	0.46	201.8	0.38	92.08	0.47	146.9	0.53	0.42
CDP04372 (16)	19.5	0.20	17.91	0.52	18.73	0.06	0.36	68.64	0.56	75.73	0.47	72.19	0.07	0.52	244.2	0.41	120.1	0.25	182.1	0.48	0.33
CDP02109 (16)	21.9	0.19	11.88	0.28	16.91	0.42	0.23	74.05	0.36	57.25	0.24	65.65	0.18	0.30	80.11	1.21	114.8	0.52	97.46	0.25	0.86
CDP05333 (16)	18.2	0.14	9.74	0.06	13.98	0.43	0.10	94.66	0.40	80.80	0.27	87.73	0.11	0.33	132.2	0.15	256.6	0.92	194.4	0.45	0.54
CDP05691 (16)	19.5	0.08	15.18	0.33	17.36	0.18	0.20	52.14	0.29	92.15	0.40	72.15	0.39	0.35	206.3	0.14	87.74	0.06	147.0	0.57	0.10
CDP00142 (16)	23.8	0.29	13.88	0.13	18.88	0.37	0.21	70.56	0.72	66.98	0.15	68.77	0.04	0.44	212.9	0.29	403.3	1.09	308.1	0.44	0.69
CDP05729 (16)	30.2	0.39	13.28	0.13	21.77	0.55	0.26	147.8	0.65	74.70	0.42	111.2	0.46	0.53	121.6	0.77	148.5	0.48	135.1	0.14	0.62
CDP01649 (16)	20.0	0.20	12.21	0.18	16.12	0.34	0.19	93.78	0.99	76.35	0.27	85.06	0.14	0.63	73.92	0.70	201.7	0.42	137.8	0.66	0.56
CDP01949 (16)	23.6	0.17	14.87	0.16	19.28	0.32	0.16	68.54	0.18	80.67	0.08	74.60	0.11	0.13	148.1	0.36	154.1	0.70	151.1	0.03	0.53
CDP08595 (16)	22.0	0.09	12.79	0.30	17.42	0.38	0.19	104.6	0.27	76.20	0.45	90.41	0.22	0.36	111.6	0.56	132.9	0.51	122.2	0.12	0.53
CDP02589 (16)	20.4	0.19	11.92	0.13	16.16	0.37	0.16	59.79	0.58	86.04	0.18	72.92	0.25	0.38	173.4	0.39	156.3	0.09	164.8	0.07	0.24
CDP04915 (16)	16.2	0.08	9.37	0.23	12.82	0.38	0.15	29.74	0.04	42.58	0.31	36.16	0.25	0.18	101.3	0.12	128.0	0.44	114.6	0.16	0.28
CDP02182 (16)	22.9	0.31	12.75	0.29	17.84	0.40	0.30	115.6	0.88	68.77	0.27	92.19	0.36	0.57	152.4	0.27	150.6	0.45	151.5	0.01	0.36
CDP04052 (16)	24.3	0.14	20.35	0.40	22.36	0.13	0.27	69.21	0.37	65.13	0.45	67.17	0.04	0.41	54.89	1.02	169.2	0.50	112.0	0.72	0.76
CDP06753 (16)	21.0	0.10	12.88	0.23	16.99	0.34	0.16	63.16	0.30	54.00	0.26	58.58	0.11	0.28	134.3	0.49	89.76	0.19	112.0	0.28	0.34
CDP01197 (16)	28.8	0.02	14.21	0.15	21.53	0.48	0.09	112.8	0.42	84.00	0.26	98.40	0.21	0.34	92.67	0.11	140.5	0.50	116.5	0.29	0.31
CDP01646 (16)	28.4	0.19	17.13	0.35	22.81	0.35	0.27	74.26	0.50	65.89	0.34	70.08	0.08	0.42	14.04	1.25	86.49	0.64	50.27	1.02	0.95
CDP05266 (16)	26.7	0.00	13.50	0.23	20.14	0.47	0.12	108.4	0.18	62.99	0.07	85.70	0.37	0.13	117.1	0.23	142.2	0.23	129.6	0.14	0.23
CDP03596 (16)	27.3	0.20	15.33	0.44	21.31	0.40	0.32	85.12	0.39	72.82	0.48	78.97	0.11	0.43	62.08	1.20	104.7	0.44	83.40	0.36	0.82
CDP07231 (16)	16.9	0.03	11.53	0.27	14.23	0.27	0.15	27.22	0.25	58.68	0.29	42.95	0.52	0.27	90.90	1.15	162.8	0.22	126.9	0.40	0.69
'Razymo RZ'	21.8	0.31	11.41	0.20	16.65	0.45	0.26	70.26	0.42	48.54	0.25	59.40	0.26	0.33	76.31	0.93	100.8	0.45	88.57	0.20	0.69
'Gransol RZ'	20.4	0.15	24.80	0.54	22.61	0.14	0.35	58.86	0.36	103.3	0.45	81.11	0.39	0.41	115.5	0.54	146.8	0.26	131.1	0.17	0.40
'Piccola RZ'	26.9	0.09	25.82	0.23	26.39	0.03	0.16	53.23	0.17	55.66	0.08	54.45	0.03	0.13	183.0	1.07	327.4	0.71	255.2	0.40	0.89
'Mariscal RZ'	19.7	0.09	12.67	0.13	16.20	0.31	0.11	117.7	0.34	73.20	0.23	95.48	0.33	0.29	106.6	1.13	57.99	0.31	82.30	0.42	0.72

¹IPC: Intra-population coefficient of variation for the year. ²IYCV Inter-year coefficient of variation (using the mean contents of 2009 and 2010). ³mIPC: Mean IPC.

Table 4. Varietal mean contents and levels of variation.

VARIETY	No. of populations	Ascorbic acid (mg kg ⁻¹)			β-carotene (mg kg ⁻¹)			Lycopene (mg kg ⁻¹)			Total phenolic content (mg caffeic acid 100 g ⁻¹)			Antioxidant activity (μmol TE g ⁻¹)		
		Mean content (2009/2010)	Mean mIPCV ¹	IVCV ²	Mean content (2009/2010)	Mean mIPCV ¹	IVCV ²	Mean content (2009/2010)	Mean mIPCV ¹	IVCV ²	Mean content (2009/2010)	Mean mIPCV ¹	IVCV ²	Mean value (2009/2010)	Mean mIPCV ¹	IVCV ²
'Amarillo'	1	149.54	0.12	0.00	10.73	0.09	0.00	12.40	0.14	0.00	57.22	0.18	0.00	3.59	0.13	0.00
'Centenares'	1	221.27	0.42	0.00	19.81	0.11	0.00	100.76	0.28	0.00	65.32	0.08	0.00	3.63	0.37	0.00
'Cuarenteno'	6	161.93	0.34	0.36	16.58	0.13	0.09	65.90	0.30	0.21	45.80	0.21	0.13	2.47	0.42	0.09
'De colgar'	10	184.84	0.61	0.48	23.59	0.22	0.25	48.31	0.41	0.43	50.45	0.20	0.31	2.94	0.29	0.27
'De la pera'	4	122.85	0.36	0.28	17.68	0.16	0.19	74.28	0.35	0.33	44.78	0.19	0.48	2.71	0.40	0.34
'De pera'	3	136.99	0.27	0.22	13.84	0.18	0.12	99.31	0.28	0.22	41.69	0.17	0.25	2.97	0.14	0.08
'Elchero'	1	181.24	0.33	0.00	18.67	0.20	0.00	67.31	0.38	0.00	39.41	0.34	0.00	3.27	0.28	0.00
'Flor de baladre'	2	156.12	0.29	0.48	19.26	0.18	0.15	68.24	0.36	0.01	39.01	0.21	0.10	3.09	0.15	0.06
'Gordo rojo'	4	126.04	0.57	0.30	17.07	0.18	0.13	77.16	0.30	0.34	45.44	0.22	0.09	3.39	0.39	0.17
'Muchamiel'	28	130.66	0.37	0.36	17.31	0.16	0.17	52.07	0.32	0.30	41.78	0.19	0.31	3.17	0.25	0.22
'Negre'	1	194.05	0.30	0.00	14.62	0.15	0.00	47.97	0.22	0.00	40.47	0.16	0.00	2.58	0.58	0.00
'Pimiento'	8	126.83	0.54	0.37	15.53	0.19	0.10	92.16	0.38	0.26	51.93	0.21	0.32	3.25	0.38	0.24
'Redondo rojo'	2	119.84	0.49	0.12	25.09	0.22	0.38	82.47	0.36	0.23	33.69	0.19	0.17	2.84	0.34	0.19
'Rosa'	12	120.10	0.56	0.51	14.82	0.13	0.12	69.55	0.39	0.53	43.20	0.19	0.41	3.02	0.31	0.37
'Tres cantos'	1	51.33	0.38	0.00	15.92	0.14	0.00	51.33	0.38	0.00	38.25	0.36	0.00	2.63	0.36	0.00
'Valenciano'	42	73.83	0.33	0.29	18.13	0.20	0.21	73.83	0.33	0.29	38.56	0.20	0.22	2.94	0.30	0.24

¹Mean mIPCV: Mean intra-population coefficient of variation for both years. ²IVCV: Intra-varietal coefficient of variation.

Additionally, it accumulate high levels of total phenolic content. Variety ‘Centenares’ showed in general high values for all the compounds, while ‘De pera’ and ‘Pimiento’ stood out for lycopene accumulation (‘Pimiento’ also for total phenolic content) and ‘De colgar’ and ‘Redondo rojo’ for β -carotene (‘De colgar’ also for total phenolic content). The highest antioxidant activity values were recorded in the varieties ‘Amarillo’ and ‘Centenares’.

Ascorbic acid

Ten populations showed ascorbic acid contents higher than 200 mg kg⁻¹, and one of them higher than 300 mg kg⁻¹ (**table 3**). In several cases though, IYCV was considerably high, meaning that the contents were year dependant and thus, these populations could be considered unstable. Nevertheless, population CDP00142 from ‘Valenciano’ with 308.1 mg kg⁻¹ and IYCV of 0.44, population CDP01040 from ‘De colgar’ with 262.7 mg kg⁻¹ and IYCV of 0.16, population CDP05973 from ‘Cuarenteno’ with 216.1 mg kg⁻¹ and IYCV of 0.10 cv and population CDP05079 from ‘De colgar’ with 253.6 mg kg⁻¹ and IYCV of 0.02 could be interesting for their high and stable ascorbic acid accumulation.

Carotenoids

In the case of lycopene, eight populations showed contents higher than 100 mg kg⁻¹ (**table 3**). The highest mean contents were detected in the populations CDP04303 from ‘Rosa’ with 151.9 mg kg⁻¹ and CDP06083 from ‘Pimiento’ with 132.2 mg kg⁻¹. In the case of population CDP04303 the IYCV was considerably high (0.72) and showed high differences in the mean content for each year, but populations CDP06083, or CDP00929 from ‘De pera’, with mean content of 123.59 mg kg⁻¹, showed medium to high contents with low IYCV (0.21 and 0.13 respectively).

Regarding β -carotene accumulation, 23 populations showed mean contents higher than 20 mg kg⁻¹ and two of them, populations CDP07064 of ‘Redondo Rojo’ and CDP03774 of ‘De colgar’, outreached 30 mg kg⁻¹, with intermediate levels of IYCV (0.31 and 0.32 respectively).

As shown above, it was possible to identify materials with moderate to high contents and low IPCV and IYCV indicating a high degree of stability. It was much more difficult to identify materials with outstanding values for several compounds. In fact, no significant important correlations were found between ascorbic acid and carotenoids nor between lycopene and β -carotene (**table 2**). Nonetheless, populations CDP05729 and CDP00450 of the variety ‘Valenciano’ combined moderate to high levels of β -carotene and lycopene.

Total phenolic content

Five accessions reached mean total phenolic contents higher than 75 mg caffeic acid 100 g⁻¹ (**table 5**). Accessions CDP04259 of ‘De colgar’ and CDP00210 of ‘De la pera’ reached contents between 75 and 80 mg caffeic acid 100 g⁻¹, while accessions 61 CDP04133 of ‘Muchamiel’, CDP04056 of ‘Pimiento’ and CDP09459 of ‘Rosa’ had mean contents higher than 80 mg caffeic acid 100 g⁻¹. All of them showed highly year dependant contents, with IYCV around 0.5, though the intra population variation was low with mean IPCV lower than 0.1. Accession CDP08734 of ‘Centenares’ while having a lower mean content (65.3 mg caffeic acid 100 g⁻¹) showed a high inter year stability with IYCV of 0.03 and a moderated intra-population variation (IPCV of 0.4).

Table 5. Total phenolic content (mg 100g⁻¹fw) and antioxidant activity (μmol TE g⁻¹ fw) and coefficients of variation detected in evaluated populations. For each population variety is indicated in parentheses (refer to table 1).

Populations	Total Phenolic Content (mg 100g ⁻¹)					Antioxidant activity (μmol TE g ⁻¹)					
	2009		2010		TOTAL	2009		2010		TOTAL	
	Mean	IPCV ¹	Mean	IPCV ¹	Mean	IYCV ²	Mean	Mean	IPCV ¹	Mean	IYCV ²
CDP01733 (1)	n.d. ³		57,22	0,18	57,22	n.d.	n.d.	3,59	0,13	3,59	n.d.
CDP08734 (2)	66,72		63,92	0,40	65,32	0,03	4,53	2,73	0,35	3,63	0,35
CDP07243 (3)	44,05		37,97	0,35	41,01	0,10	2,28	2,26	0,28	2,27	0,00
CDP07457 (3)	36,94		51,74	0,24	44,34	0,24	3,96	1,08	0,33	2,52	0,81
CDP05973 (3)	28,17		48,39	0,29	38,28	0,37	2,13	3,30	0,20	2,71	0,31
CDP04955 (3)	37,48		54,43	0,15	45,95	0,26	2,33	1,89	0,59	2,11	0,15
CDP08237 (3)	68,44		42,37	0,44	55,40	0,33	2,31	2,79	0,42	2,55	0,13
CDP07843 (3)	35,40		64,19	0,09	49,80	0,41	3,19	2,08	0,09	2,64	0,30
CDP05385 (4)	41,97		75,30	0,19	58,63	0,40	5,20	1,99	0,18	3,59	0,63
CDP05079 (4)	59,29		59,67	0,27	59,48	0,00	4,55	1,72	0,50	3,14	0,64
CDP05542 (4)	36,25		48,86	0,17	42,55	0,21	3,39	2,77	0,33	3,08	0,14
CDP06914 (4)	19,92		62,94	0,10	41,43	0,73	6,99	2,22	0,25	4,60	0,73
CDP01507 (4)	25,64		47,37	0,20	36,50	0,42	3,03	1,65	0,41	2,34	0,42
CDP01040 (4)	34,34		57,06	0,24	45,70	0,35	2,62	3,60	0,12	3,11	0,22
CDP04259 (4)	106,69		51,21	0,03	78,95	0,50	1,73	2,26	0,05	1,99	0,19
CDP03190 (4)	17,36		34,39	0,21	25,87	0,47	1,64	2,63	0,37	2,13	0,33
CDP02554 (4)	56,54		77,06	0,10	66,80	0,22	1,79	2,90	0,42	2,35	0,33
CDP01972 (4)	47,69		49,53	0,35	48,61	0,03	3,32	2,71	0,80	3,02	0,14
CDP02614 (5)	26,16		42,54	0,18	34,35	0,34	1,10	2,88	0,48	1,99	0,63
CDP00210 (5)	111,58		41,77	0,11	76,67	0,64	4,33	3,39	0,13	3,86	0,17
CDP00906 (5)	28,41		43,26	0,34	35,84	0,29	3,82	2,25	0,28	3,04	0,37
CDP07874 (5)	23,53		41,01	0,32	32,27	0,38	1,72	2,20	0,17	1,96	0,18
CDP04299 (6)	28,11		41,16	0,15	34,64	0,27	3,95	2,39	0,27	3,17	0,35
CDP01280 (6)	54,31		52,56	0,28	53,43	0,02	3,37	2,73	0,17	3,05	0,15
CDP00929 (6)	30,09		43,90	0,18	36,99	0,26	2,56	2,83	0,59	2,70	0,07
CDP07339 (7)	30,67		48,16	0,16	39,41	0,31	3,25	3,29	0,09	3,27	0,01
CDP04235 (8)	28,92		54,35	0,10	41,64	0,43	3,74	2,71	0,03	3,22	0,23
CDP07166 (8)	35,07		37,69	0,05	36,38	0,05	3,17	2,74	0,12	2,96	0,10
CDP02826 (9)	29,84		65,12	0,30	47,48	0,53	2,64	2,64	0,42	2,64	0,00
CDP08786 (9)	42,53		45,32	0,13	43,93	0,04	5,41	2,25	0,22	3,83	0,58
CDP06270 (9)	53,57		45,80	0,34	49,68	0,11	2,69	3,70	0,08	3,19	0,22
CDP06009 (9)	33,83		47,54	0,15	40,68	0,24	5,01	2,75	0,40	3,88	0,41
CDP05658 (10)	27,19		52,35	0,19	39,77	0,45	1,18	2,97	0,32	2,07	0,61
CDP04133 (10)	111,49		54,90	0,19	83,19	0,48	3,71	4,46	0,18	4,09	0,13
CDP05229 (10)	23,52		41,15	0,14	32,34	0,39	1,62	2,75	0,18	2,18	0,37
CDP00155 (10)	35,47		48,30	0,04	41,88	0,22	3,27	3,09	0,12	3,18	0,04
CDP07582 (10)	37,83		47,60	0,15	42,71	0,16	2,54	2,65	0,68	2,59	0,03
CDP08091 (10)	19,28		44,29	0,23	31,78	0,56	4,88	2,63	0,41	3,75	0,42
CDP00700 (10)	34,21		53,44	0,23	43,83	0,31	3,21	3,63	0,38	3,42	0,09
CDP01469 (10)	31,08		56,10	0,23	43,59	0,41	4,46	2,97	0,18	3,72	0,28
CDP07889 (10)	30,08		55,28	0,27	42,68	0,42	3,08	4,37	0,26	3,73	0,24
CDP08014 (10)	42,63		46,50	0,25	44,56	0,06	3,28	2,08	0,27	2,68	0,32
CDP01988 (10)	16,97		48,96	0,44	32,97	0,69	2,90	1,49	0,54	2,20	0,46
CDP09344 (10)	9,04		51,33	0,11	30,18	0,99	4,76	4,34	0,60	4,55	0,07
CDP02195 (10)	98,33		28,96	0,24	63,65	0,77	2,38	2,60	0,29	2,49	0,06
CDP08780 (10)	34,52		32,76	0,16	33,64	0,04	3,07	2,68	0,12	2,88	0,10
CDP08427 (10)	23,42		36,27	0,18	29,84	0,30	2,90	3,99	0,14	3,44	0,22
CDP07052 (10)	79,12		53,97	0,25	66,54	0,27	4,83	3,25	0,20	4,04	0,28
CDP00386 (10)	16,97		38,73	0,24	27,85	0,55	2,65	3,25	0,18	2,95	0,14
CDP04512 (10)	23,14		49,91	0,29	36,52	0,52	3,48	4,11	0,10	3,79	0,12
CDP05422 (10)	68,92		54,12	0,19	61,52	0,17	3,24	3,23	0,23	3,23	0,00
CDP00604 (10)	28,53		41,14	0,06	34,84	0,26	2,65	2,60	0,43	2,62	0,01
CDP03096 (10)	13,36		43,18	0,03	28,27	0,75	3,96	2,93	0,20	3,44	0,21
CDP01971 (10)	32,64		61,13	0,19	46,88	0,43	1,29	4,41	0,24	2,85	0,77
CDP05938 (10)	36,80		53,10	0,20	44,95	0,26	3,38	3,31	0,43	3,34	0,01
CDP01138 (10)	29,53		53,26	0,40	41,40	0,41	1,48	2,05	0,49	1,76	0,23
CDP01746 (10)	22,59		49,12	0,08	35,86	0,52	4,40	2,70	0,19	3,55	0,34
CDP08999 (10)	20,95		74,14	0,22	47,55	0,79	2,14	3,46	0,23	2,80	0,33
CDP08761 (10)	12,08		42,61	0,45	27,35	0,79	3,87	3,95	0,58	3,91	0,01
CDP09432 (10)	34,33		33,24	0,12	33,78	0,02	4,03	2,84	0,18	3,44	0,24
CDP02095 (11)	33,14		47,79	0,17	40,47	0,26	2,21	2,94	0,12	2,58	0,20
CDP06083 (12)	21,50		81,58	0,12	51,54	0,82	5,58	1,61	0,22	3,59	0,78
CDP04079 (12)	27,26		67,32	0,17	47,29	0,60	3,21	2,46	0,27	2,83	0,19
CDP06446 (12)	34,78		51,09	0,18	42,94	0,27	4,35	1,96	0,26	3,15	0,54
CDP05734 (12)	56,04		36,06	0,33	46,05	0,31	5,11	2,70	0,34	3,90	0,44
CDP01712 (12)	22,63		45,23	0,17	33,93	0,47	1,01	2,83	0,25	1,92	0,67

¹IPCV: Intra-population coefficient of variation for the year. ²IYCV Intra-year coefficient of variation (using the mean contents of 2009 and 2010). ³not determined.

Table 5 (Cont.). Total phenolic content (mg 100g⁻¹fw) and antioxidant activity (μmol TE g⁻¹ fw) and coefficients of variation detected in evaluated populations. For each population variety is indicated in parentheses (refer to table 1).

Populations	Total Phenolic Content (mg 100g ⁻¹)					Antioxidant activity (μmol TE g ⁻¹)				
	2009	2010		TOTAL		2009	2010		TOTAL	
	Mean IPCV ¹	Mean	IPCV ¹	Mean	IYCV ²	Mean	Mean	IPCV ¹	Mean	IYCV ²
CDP04056 (12)	120,11	58,66	0,09	89,39	0,49	4,43	3,64	0,26	4,04	0,14
CDP02391 (12)	60,67	54,68	0,37	57,68	0,07	3,45	4,68	0,68	4,07	0,21
CDP08320 (12)	26,33	66,97	0,16	46,65	0,62	2,97	2,09	0,51	2,53	0,25
CDP07064 (13)	40,28	34,97	0,19	37,63	0,10	3,56	2,88	0,41	3,22	0,15
CDP04562 (13)	20,79	38,70	0,19	29,74	0,43	2,63	2,28	0,30	2,45	0,10
CDP08690 (14)	17,69	34,88	0,25	26,29	0,46	2,84	1,66	0,55	2,25	0,37
CDP05702 (14)	76,50	52,75	0,40	64,62	0,26	2,16	2,10	0,26	2,13	0,02
CDP04903 (14)	19,58	44,22	0,13	31,90	0,55	2,81	3,42	0,45	3,12	0,14
CDP00764 (14)	27,33	37,75	0,05	32,54	0,23	5,19	2,79	0,13	3,99	0,43
CDP01302 (14)	41,38	35,16	0,16	38,27	0,11	3,81	2,44	0,19	3,13	0,31
CDP09459 (14)	118,49	54,88	0,02	86,68	0,52	2,49	1,64	0,03	2,06	0,29
CDP04904 (14)	n.d.	44,75	0,35	44,75	n.d.	n.d.	4,77	0,35	4,77	n.d.
CDP05992 (14)	n.d.	54,28	0,42	54,28	n.d.	n.d.	4,53	0,10	4,53	n.d.
CDP07661 (14)	22,63	45,24	0,15	33,94	0,47	0,04	2,57	0,17	1,31	1,37
CDP03526 (14)	28,36	59,73	0,19	44,05	0,50	5,42	2,87	0,35	4,14	0,43
CDP04303 (14)	28,76	37,16	0,35	32,96	0,18	2,83	2,39	0,36	2,61	0,12
CDP04008 (14)	17,44	38,84	0,14	28,14	0,54	1,90	2,46	0,41	2,18	0,18
CDP06491 (15)	41,97	34,53	0,24	38,25	0,14	3,14	2,13	0,51	2,63	0,27
CDP07303 (16)	24,79	33,75	0,12	29,27	0,22	2,07	3,93	0,31	2,99	0,44
CDP01509 (16)	24,35	52,73	0,13	38,54	0,52	2,40	3,75	0,34	3,07	0,31
CDP04333 (16)	31,04	52,44	0,05	41,74	0,36	2,91	4,08	0,12	3,50	0,24
CDP01090 (16)	28,31	42,78	0,11	35,54	0,29	1,99	4,25	0,17	3,12	0,51
CDP00616 (16)	37,52	37,54	0,10	37,53	0,00	3,39	2,27	0,19	2,83	0,28
CDP02722 (16)	18,28	52,24	0,16	35,26	0,68	2,10	3,77	0,22	2,94	0,40
CDP05254 (16)	36,45	35,38	0,22	35,91	0,02	1,07	2,92	0,23	2,00	0,65
CDP06161 (16)	61,62	50,27	0,02	55,95	0,14	4,11	2,04	0,21	3,07	0,47
CDP05260 (16)	19,16	42,04	0,06	30,60	0,53	3,72	2,48	0,42	3,10	0,28
CDP07291 (16)	19,07	39,26	0,23	29,16	0,49	2,34	2,66	0,09	2,50	0,09
CDP08276 (16)	21,37	49,68	0,20	35,53	0,56	0,31	2,17	0,45	1,24	1,07
CDP01343 (16)	44,46	40,84	0,09	42,65	0,06	4,40	1,91	0,47	3,15	0,56
CDP04640 (16)	21,15	44,42	0,26	32,79	0,50	2,04	2,13	0,26	2,09	0,03
CDP00623 (16)	37,25	42,86	0,06	40,06	0,10	2,88	3,03	0,52	2,95	0,04
CDP04486 (16)	12,43	48,13	0,18	30,28	0,83	3,18	2,09	0,09	2,64	0,29
CDP04829 (16)	31,05	61,19	0,35	46,12	0,46	3,69	3,05	0,37	3,37	0,14
CDP09978 (16)	18,73	63,60	0,24	41,17	0,77	0,35	3,69	0,26	2,02	1,17
CDP08151 (16)	32,00	33,29	0,14	32,64	0,03	2,91	3,33	0,37	3,12	0,10
CDP02310 (16)	26,82	60,78	0,27	43,80	0,55	1,19	1,72	0,33	1,46	0,26
CDP00450 (16)	23,64	57,25	0,36	40,45	0,59	1,40	3,21	0,36	2,31	0,56
CDP07489 (16)	13,81	54,91	0,20	34,36	0,85	4,33	3,09	0,29	3,71	0,24
CDP00960 (16)	15,23	41,96	0,33	28,60	0,66	6,94	1,98	0,43	4,46	0,79
CDP04423 (16)	22,56	39,73	0,18	31,14	0,39	2,51	3,65	0,26	3,08	0,26
CDP04372 (16)	21,57	32,14	0,23	26,85	0,28	1,92	2,77	0,27	2,35	0,26
CDP02109 (16)	26,85	51,59	0,13	39,22	0,45	3,38	4,77	0,20	4,08	0,24
CDP05333 (16)	48,30	52,36	0,27	50,33	0,06	3,48	2,41	0,49	2,94	0,26
CDP05691 (16)	31,39	45,16	0,30	38,27	0,25	1,98	3,77	0,30	2,87	0,44
CDP00142 (16)	50,37	41,47	0,09	45,92	0,14	3,73	4,13	0,11	3,93	0,07
CDP05729 (16)	39,37	47,55	0,13	43,46	0,13	3,45	4,04	0,26	3,74	0,11
CDP01649 (16)	65,39	50,34	0,20	57,86	0,18	3,50	2,75	0,39	3,12	0,17
CDP01949 (16)	24,15	43,14	0,23	33,64	0,40	2,86	2,27	0,31	2,56	0,16
CDP08595 (16)	51,46	65,04	0,26	58,25	0,16	2,58	2,07	0,29	2,33	0,15
CDP02589 (16)	29,10	27,56	0,11	28,33	0,04	1,98	3,13	0,27	2,55	0,32
CDP04915 (16)	1,67	41,74	0,16	21,71	1,31	3,21	1,94	0,58	2,57	0,35
CDP02182 (16)	36,25	46,77	0,14	41,51	0,18	5,35	3,07	0,21	4,21	0,38
CDP04052 (16)	30,72	45,41	0,37	38,07	0,27	4,06	2,28	0,32	3,17	0,40
CDP06753 (16)	16,30	38,94	0,08	27,62	0,58	2,29	2,74	0,47	2,51	0,13
CDP01197 (16)	30,43	51,43	0,14	40,93	0,36	3,45	1,91	0,46	2,68	0,41
CDP01646 (16)	34,97	45,34	0,19	40,16	0,18	2,99	4,08	0,15	3,54	0,22
CDP05266 (16)	47,53	48,61	0,12	48,07	0,02	3,15	2,57	0,63	2,86	0,14
CDP03596 (16)	38,17	47,53	0,00	42,85	0,15	4,76	3,42	0,12	4,09	0,23
CDP07231 (16)	43,58	51,57	0,08	47,58	0,12	2,62	2,34	0,37	2,48	0,08
'Razyzo RZ'	72,43	51,53	0,19	57,00	0,38	4,53	2,66	0,11	3,60	0,37
'Gransol RZ'	28,47	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
'Piccola RZ'	35,13	65,55	0,19	50,33	0,42	3,63	3,77	0,11	3,7	0,03
'Mariscal RZ'	24,58	37,16	0,03	30,83	0,29	4,56	2,13	0,63	3,35	0,51

¹IPCV: Intra-population coefficient of variation for the year. ²IYCV Intra-year coefficient of variation (using the mean contents of 2009 and 2010). ³not determined.

Antioxidant activity

Thirteen populations showed mean antioxidant activity higher than 4 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ (table 5). The higher values ($>4.5 \mu\text{mol TE g}^{-1}$) were found in the accessions CDP06914 of 'De colgar', CDP09344 of 'Muchamiel', CDP04904 and CDP05992 of 'Rosa' and CDP00960 of Valenciano. Nevertheless, the values observed in CD06914 and CDP00960 were highly year dependant, with IYCV higher than 0.7, and the two populations of 'Rosa' were only evaluated during 2010. Despite being evaluated only during one year, accession CDP05992 had a relatively low IPCV of 0.1.

Discussion

Ascorbic acid showed the higher degree of variation at the intra-population and inter-year scales. Intra-population level of variation would be mainly related to genotype and micro-environmental effects, while inter-year variation would be related to macro-environmental effects. The genotype component of intra-population variation would be explained by the complex genetic structure of traditional varieties that are usually configured as a mix of different genotypes. Micro-environmental effects would be explained by small differences in temperature, soil, fertirrigation etc., while macro-environmental effects would be mainly related with the different climatic conditions of both years of cultivation.

It is difficult to determine which part of intra-population variation is due to genetic differences between the individuals of each population or to micro-environment. Nevertheless, the fact that the F_1 hybrid controls, which are genetically uniform, showed values of IPCV similar to those of traditional populations seems to indicate that the main factor explaining this level of variation would be micro-environmental differences.

Inter-year variation might be explained by the different climatic conditions between both years. This effect would affect mean content and might buffer the level of variation, as it happened with ascorbic acid in 2010 when the IPCVs were lower. But, the environmental effect would not cause generalized changes considering the strong population x year interaction detected. In fact, previous studies decomposing phenotypic variances have shown that differences in ascorbic acid in promising materials are mostly due to a high GxE interaction rather than to a clear environmental effect (Leiva-Brondo *et al.*, 2012). This interaction might explain the extraordinary levels found in several traditional populations during the year 2010, with contents higher than 300 mg kg^{-1} in three populations, as compared to the levels obtained in 2009 when this content was not reached.

In the case of ascorbic acid, Dumas *et al.* (2003) reported higher effects of solar radiation than temperature. In our case, the PAR registered in the middle part of the growing cycle was similar, while 2009 registered slightly higher maximum and minimum temperatures. During this period maximum temperatures exceeded 30 °C, and these conditions could have caused stress, leading to a consumption of ascorbic acid, thus explaining the lower levels obtained in several populations in this year. Nevertheless, it should be considered that other studies, even though recognizing a probable influence of radiation and

temperature in ascorbic accumulation, did not find clear correlations with specific climatic parameters (Hamner *et al.*, 1945).

As the variation in carotenoid contents is concerned, lower levels of intra-year variation in β -carotene content than those for ascorbic acid and lycopene have also been observed in previous studies (Roselló *et al.*, 2011). The differences in the significance of the environmental factor in the carotenoids could be related to the environmental regulation of the biosynthetic pathway. Maximum temperatures were higher in the middle part of the growing cycle during 2009, and higher than 30 °C, and under these conditions, lycopene biosynthesis is restrained, while its conversion to β -carotene continues, resulting in higher levels of this compound in years with higher maximum temperatures.

In the case of total phenolic content and antioxidant activity, only one sample per population was analysed in 2009. Previous studies have indicated that each phenolic compound may be affected differentially by the same environmental condition (Raffo *et al.*, 2006). Thus, considering the complexity of phenolic compound composition in tomato and the reduced number of samples in 2009 it would be inadequate to try to establish conclusions regarding inter year variation.

The high degree of variation in the intra-population and inter-year levels indicates that the use of high contents in functional compounds as a marketing strategy in tomato should be carefully addressed. Multi-environmental assays are essential to clearly identify the minimum levels of accumulation; otherwise consumer might be deceived if the materials are cultivated in worse environmental conditions. These assays would also be valuable to identify which growing conditions promote the accumulation of each of the materials considered, due to the high genotype x environment interaction.

But, is there really an opportunity for tomato traditional varieties in the market of functional foods? The mean ascorbic content in most of the populations analysed represented, in general, conventional values of tomato cultivars. Gould (1992) established 200 mg kg⁻¹ as the normal content in commercial varieties, while Frusciante *et al.* (2007) after reviewing previous literature found ranges in this compound between 220 and 210 mg kg⁻¹. George *et al.* (2004) reported a range between 92 and 324 mg kg⁻¹ in tomato pulp, with the highest values found in cherry tomatoes. Ascorbic acid can be found at higher concentrations in the jelly and skin than in the pericarp, thus small fruited varieties tend to have higher contents than standard varieties (Stevens *et al.*, 2007). In our case, the population CDP08734 of the variety 'Centenares' (cherry type) and the cherry control 'Piccola RZ' showed high contents of ascorbic acid, but not the highest ones. Still, low negative correlations were found with size parameters and number of locules. A high number of locules usually involves low size of locules and this would explain the negative correlation found between this parameter and ascorbic content.

Apart from that small fruited population, our results also show that it is possible to identify interesting materials such as the medium sized 'Valenciano' population CDP00142 with contents as high as 308.1 mg kg⁻¹. Bhatt and Kumar (2001) identified heterotic effects studying diallel crosses with maximum ascorbic contents in the F₁ populations of 341.3 mg kg⁻¹, a value difficult to find in standard varieties. Consequently, the contents found in the collection of traditional populations would not only be interesting to promote the consumption of these materials, but also for the development

breeding programs. Wild species, with up to 5 times the content of ascorbic acid of commercial varieties, have been used for this purpose, and some of the QTL controlling the underlying genetic control have been identified (Stevens *et al.*, 2007). But in cases such as *Solanum pennellii* Correl, the high values up to 710 mg kg⁻¹, decreased in introgression lines with maximum contents of 273.3 mg kg⁻¹ (Stevens *et al.*, 2007).

In this context, our results show again that it is possible to identify high contents in traditional varieties that equal or even exceed the contents of elite breeding lines bred with this purpose, avoiding the negative side effects of the use of wild species. For example “*Double Rich*” cultivars, developed through interespecific crosses between tomato and *Solanum peruvianum* L. accessions, with ascorbic acid contents up to 500 mg kg⁻¹ had a limited commercial use due to their small fruit size and their poor production (Stevens and Rick, 1986).

The high levels of ascorbic acid found in some populations would not only result in improved nutritive or functional value of plants, but also may have a side effect on the plant response against different stresses. In fact, ascorbic acid biosynthesis and recycling have been related with plant health and development and in particular to abiotic stress tolerance (Gallie, 2013).

Regarding lycopene accumulation, Holden *et al.* (1999) reported 30.25 mg kg⁻¹ as the standard lycopene content in red ripe raw tomatoes in the United States, while Martinez-Valverde *et al.* (2002) in Spain found lycopene contents up to 64.98 mg kg⁻¹ and Lenucci *et al.* (2006) reported contents of 96.9 in an ordinary commercial variety in Italy. Frusciante *et al.* (2007) in their review of previously reported contents indicated a range of variation between 18.6 and 146 mg kg⁻¹. On the other hand, “high pigment” varieties show higher values up to 254 mg kg⁻¹, though with strong environmental effects (Ilahy *et al.*, 2011b). These varieties carry any of the “high pigment” mutations (*hp-1*, *hp2*...) that result in increased carotenoid content. But these mutations have secondary side effects resulting in worse agronomic performance (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013b).

The amounts registered in some populations in this work demonstrate that not only wild species are interesting sources of variation. Two populations displayed lycopene contents higher than 130 mg kg⁻¹ which can be placed at the lower range of variation of “high pigment” cultivars, especially considering the big size of these materials. It should be considered that the distribution of major carotenoids in the ripe fruit is irregular, with 2-fold higher amounts of lycopene in the pericarp than in the locules and 4-fold higher amounts of β -carotene in the locules than in the pericarp (Davies and Hobson, 1981) and that would mean that populations with small size would have more probabilities to show high lycopene contents, as the relation surface to volume would be higher. Despite this relation, in our study the commercial cherry control ‘Piccota RZ’ showed a standard lycopene content while ‘Centenares’ had a moderately high content (**table 3**).

It should also be considered that the values obtained here could be surpassed in other environments. Temperatures over 32 °C inhibit lycopene biosynthesis (George *et al.*, 2004) and during the last part of the cycle of the two years, maximum temperatures overreached that limit. Therefore, lycopene contents found in this work should not be at their maximum potential.

In the case of β -carotene, the content in standard varieties averages 3.93 mg kg^{-1} (Holden *et al.*, 1999), though Frusciante *et al.* (2007) reviewed ranges from 1.1 to 10.7 mg kg^{-1} . Several high β -carotene varieties have been developed using wild species as donor parents. As an example, the cultivar “CaroRed” offered contents of β -carotene up to 44.2 mg kg^{-1} (Tomes and Quackenbush, 1958). Usually these materials show orange colour, as the increase in the content of β -carotene is obtained at the expense of lycopene. Despite offering high levels of pro-vitamin A, consumers have not shown a considerable interest in these materials due to the orange external colour. Therefore, it is preferred to combine in the same materials high β -carotene with normal to high content in lycopene, resulting in red coloured tomatoes. In this work, it has been possible to identify several red-coloured populations of traditional varieties of tomato with β -carotene mean contents higher than 20 mg kg^{-1} , and some higher than 30 mg kg^{-1} . Consequently, the levels obtained can be compared with those found in the best high pigment tomato cultivars that range up to 20 mg kg^{-1} fresh weight in open field conditions (Lenucci *et al.*, 2006; Ilahy *et al.*, 2011b).

The cultivated species usually shows relatively low phenolic contents, though it has been reported that one serving (100 g) of raw tomatoes could provide 15% to 35% of the flavonoid daily intake in the Italian diet (Raffo *et al.*, 2006). Thus, there is an increasing interest in the development of breeding lines with high phenolic contents. In this context, Willits *et al.* (2005) showed that using wild germplasm it was possible to restore the flavonoid pathway in tomato fruits, increasing the levels of quercetin. The total phenolic contents detected in the traditional varieties analysed in this work corresponded to intermediate ranges of cultivated tomato (Kavitha *et al.*, 2013). Despite not showing high values, the variation in the total phenolic content within traditional varieties would also enable the selection of lines with higher phenolic contents. In this sense it would be interesting to obtain results regarding the content of specific phenolic compounds. Regarding antioxidant activity, the values found in the best accessions are relatively high compared to the range of variation in antioxidant activity reported in other works (Raffo *et al.*, 2006), and the range of variation would also enable intra-varietal selection.

Conclusion

The variation present in traditional populations of tomato enables the identification of materials with moderate to high contents in functional compounds and limited degree of variability. These materials could be then targeted to supply quality markets demanding not only produces with high organoleptic characteristics but also an added functional value. For this purpose it would be convenient to develop intra-varietal complementary crosses in order to develop new populations with high levels of joint accumulations of different compounds. This strategy would be very valuable to explore the possibilities of obtaining a price premium as a result of the added functional value. In other functional food markets these price premia has been ranged between 30%-50% (Menrad, 2003). And this difference would be useful to compensate the usually lower yields of traditional varieties. Thus, it will contribute to offer an *in situ* conservation promoting the recovery of these materials by farmers. In addition, Spanish growing condition seem not only to contribute to high levels of carotenoids in tomato, but also promote their bioaccessibility

(Aherne *et al.*, 2009), thus strengthening the added value of these materials. Additionally, these genetic resources could also be used as promising sources of variation in breeding programs of new commercial hybrid varieties.

Acknowledgements

The funds for development of this research were provided by Fundación de la Comunidad Valenciana para la Investigación Agroalimentaria (AGROALIMED).

Carles Cortes-Olmos expresses his gratitude to Universitat Politècnica of València for the concession of a PhD grant.

References

- Aherne, S.A., Jiwan, M.A., Daly, T., O'Brien, N.M.** 2009. Geographical Location has Greater Impact on Carotenoid Content and Bioaccessibility from Tomatoes than Variety. *Plant Foods Hum Nutr.* 64: 250-256.
- Aruoma, O.I., Coles, L.S., Landes, B., Repine, J.E.** 2012. Functional benefits of ergothioneine and fruit- and vegetable-derived nutraceuticals: Overview of the supplemental issue contents. *Prev Med.* 54, Supplement: S4-S8.
- Aune, D., Chan, D.S., Vieira, A.R., Navarro Rosenblatt, D.A., Vieira, R., Greenwood, D.C., Norat, T.** 2012. Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am. J Clin Nutr.* 96: 356-373.
- Bhatt, R.P.B., Kumar, N.H.** 2001. Combining ability and genetics for vitamin C, total soluble solids and yield in tomato (*Lycopersicon esculentum*) at 1700 m altitude. *J Agric Sci.* 137: 71-75.
- Bruhn, C.M., Feldman, N., Garlitz, C., Harwood, J., Ivans, E., Marshall, M., Riley, A., Thurber, D., Williamson, E.** 1991. Consumer perceptions of quality: Apricots, cantaloupes, peaches, pears, strawberries and tomatoes. *J Food Qual.* 14: 187-195.
- 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. *Sci Hortic.* 130: 78-84.
- Cebolla-Cornejo, J., Soler, S., Nuez, F.** 2007. Genetic erosion of traditional varieties of vegetable crops in Europe: tomato cultivation in Valencia (Spain) as a case Study. *Int J Plant Prod.* 1: 113-128.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Valcárcel, M., Serrano, E., Beltrán, J., Nuez, F.** 2011. Evaluation of Genotype and Environment Effects on Taste and Aroma Flavor Components of Spanish Fresh Tomato Varieties. *J Agric Food Chem.* 59: 2440-2450.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F.** 2013a. Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Sci Hortic.* 162: 150-164.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F.** 2013b. Selection of tomato rich in nutritional terpenes. In: *Natural products* (Ramawat KG, Mérillon JM eds.). Springer, Heidelberg. pp: 2853-2881.
- Davey, M.W., Montagu, M.V., Inzé, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I.J., Strain, J.J., Favell, D., Fletcher, J.** 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food Agric.* 80: 825-860.
- Davies, J.N., Hobson, G.E.** 1981. The constituents of tomato fruit - the influence of environment, nutrition, and genotype. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 15: 205-280.

- Dumas, Y., Dadomo, M., Di Lucca, G., Grolier, P.** 2003. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *J Sci Food Agric.* 83: 369-382.
- Frusciante, L., Carli, P., Ercolano, M.R., Pernice, R., Di Matteo, A., Fogliano, V., Pellegrini, N.** 2007. Antioxidant nutritional quality of tomato. *Mol Nutr Food Res.* 51: 609-617.
- Galiana-Balaguer, L., Roselló, S., Herrero-Martínez, J.M., Maquieira, A., Nuez, F.** 2001. Determination of L-Ascorbic Acid in *Lycopersicon* Fruits by Capillary Zone Electrophoresis. *Anal Biochem.* 296: 218-224.
- Gallie, D.R.** 2013. The role of l-ascorbic acid recycling in responding to environmental stress and in promoting plant growth. *J Exp Bot.* 64: 433-443.
- García-Plazaola, J.I., Becerril, J.M.** 1999. A rapid high-performance liquid chromatography method to measure lipophilic antioxidants in stressed plants: simultaneous determination of carotenoids and tocopherols. *Phytochem Anal.* 10: 307-313.
- George, B., Kaur, C., Khurdiya, D.S., Kapoor, H.C.** 2004. Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. *Food Chem* 84: 45-51.
- Giovannucci, E.** 1999. Tomatoes, Tomato-Based Products, Lycopene, and Cancer: Review of the Epidemiologic Literature. *J Natl Cancer Inst.* 91: 317-331.
- Goldman, I.L.** 2011. Molecular breeding of healthy vegetables. *EMBO Rep.* 12: 96-102.
- Gould, W.A.** 1992. *Tomato Production, Processing and Technology.* CTI Publications, Baltimore.
- Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G., Faria, J.A.F.** 2010. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 9: 292-302.
- Hamner, K.C., Bernstein, L., Maynard, L.A.** 1945. Effects of Light Intensity, Day Length, Temperature, and Other Environmental Factors on the Ascorbic Acid Content of Tomatoes. *J Nutr.* 29: 85-97.
- Holden, J.M., Eldridge, A.L., Beecher, G.R., Marilyn Buzzard, I., Bhagwat, S., Davis, C.S., Douglass, L.W., Gebhardt, S., Haytowitz, D., Schakel, S.** 1999. Carotenoid Content of U.S. Foods: An Update of the Database. *J Food Compos Anal.* 12: 169-196.
- Ilahy, R., Hdider, C., Lenucci, M.S., Tlili, I., Dalessandro, G.** 2011a. Antioxidant activity and bioactive compound changes during fruit ripening of high-lycopene tomato cultivars. *J Food Compos Anal.* 24: 588-595.
- Ilahy, R., Hdider, C., Lenucci, M.S., Tlili, I., Dalessandro, G.** 2011b. Phytochemical composition and antioxidant activity of high-lycopene tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars grown in Southern Italy. *Sci Hort.* 127: 255-261.

- Kavanaugh, C.J., Trumbo, P.R., Ellwood, K.C.** 2007. The U.S. Food and Drug Administration's Evidence-Based Review for Qualified Health Claims: Tomatoes, Lycopene, and Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 99: 1074-1085.
- Kavitha, P., Shivashankara, K.S., Rao, V.K., Sadashiva, A.T., Ravishankar, K.V., Sathish, G.J.** 2013. Genotypic variability for antioxidant and quality parameters among tomato cultivars, hybrids, cherry tomatoes and wild species. *J Sci Food Agric.* DOI: 10.1002/jsfa.6359.
- Krystallis, A., Maglaras, G., Mamalis, S.** 2008. Motivations and cognitive structures of consumers in their purchasing of functional foods. *Food Qual Prefer.* 19: 525-538.
- Leiva-Brondo, M., Valcárcel, M., Cortés-Olmos, C., Roselló, S., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F.** 2012. Exploring alternative germplasm for the development of stable high vitamin C content in tomato varieties. *Sci Hortic.* 133: 84-88.
- Lenucci, M.S., Cadinu, D., Taurino, M., Piro, G., Dalessandro, G.** 2006. Antioxidant Composition in Cherry and High-Pigment Tomato Cultivars. *J Agric Food Chem.* 54: 2606-2613.
- Lin, J., Cook, N.R., Albert, C., Zaharris, E., Gaziano, J.M., Van Denburgh, M., Buring, J.E., Manson, J.E.** 2009. Vitamins C and E and Beta Carotene Supplementation and Cancer Risk: A Randomized Controlled Trial. *J Natl Cancer Inst.* 101: 14-23.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M.J., Provan, G., Chesson, A.** 2002. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *J Sci Food Agric.* 82: 323-330.
- Menrad, K.** 2003. Market and marketing of functional food in Europe. *J Food Eng.* 56: 181-188.
- Mente, A., de Koning, L., Shannon, H.S., Anand, S.S.** 2009. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med.* 169: 659-669.
- Mignone, L.I., Giovannucci, E., Newcomb, P.A., Titus-Ernstoff, L., Trentham-Dietz, A., Hampton, J.M., Willett, W.C., Egan, K.M.** 2009. Dietary carotenoids and the risk of invasive breast cancer. *Int J Cancer.* 124: 2929-2937.
- Palace, V.P., Khaper, N., Qin, Q., Singal, P.K.** 1999. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med.* 26: 746-761.
- Raffo, A., Malfa, G.L., Fogliano, V., Maiani, G., Quaglia, G.** 2006. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *J Food Compos Anal.* 19: 11-19.
- Rao, A.V.** 2002. Lycopene, Tomatoes, and the Prevention of Coronary Heart Disease. *Exp Biol Med.* 227: 908-913.
- Roselló, S., Adalid, A.M., Cebolla-Cornejo, J., Nuez, F.** 2011. Evaluation of the genotype, environment and their interaction on carotenoid and ascorbic acid accumulation in tomato germplasm. *J Sci Food Agric.* 91: 1014-1021.

- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F.** 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric.* 76: 270-276.
- Shi, J., Maguer, M.L.** 2000. Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 40: 1-42.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A.** 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 16: 144-158.
- Stevens, M.A., Rick, C.M.** 1986. Genetics and breeding. In: *The tomato crop*, Anonymous Springer. pp. 35-109.
- Stevens, R., Buret, M., Duffé, P., Garchery, C., Baldet, P., Rothan, C., Causse, M.** 2007. Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations. *Plant Physiol.* 143: 1943-1953.
- Sun-Waterhouse, D.** 2011. The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review. *Int J Food Sci Tech.* 46: 899-920.
- Tomes, M.L., Quackenbush, F.W.** 1958. Caro-red, a new provitamin a rich tomato. *Econ Bot.* 12: 256-260.
- Van Poppel, G., Goldbohm, R.A.** 1995. Epidemiologic evidence for beta-carotene and cancer prevention. *Amer J Clin Nutr.* 62: 1393S-1402S.
- Vattem, D.A., Ghaedian, R., Shetty, K.** 2005. Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry. *Asia Pac J Clin Nutr.* 14: 120-130.
- Willits, M.G., Kramer, C.M., Prata, R.T., De Luca, V., Potter, B.G., Steffens, J.C., Graser, G.** 2005. Utilization of the genetic resources of wild species to create a nontransgenic high flavonoid tomato. *J Agric Food Chem.* 53: 1231-1236.
- Ziegler, R.** 1989. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. *J Nutr.* 119: 116-122.

6. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

**Cortés-Olmos, C., Vilanova, S., Pascual, L., Roselló, J.,
Cebolla-Cornejo, J. 2014. SNP markers applied to the
characterization of Spanish tomato (*Solanum lycopersicum*
L.) landraces. (Enviado)**

SNP markers applied to the characterization of Spanish tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces

C. Cortés-Olmos¹, S. Vilanova¹, L. Pascual², J. Roselló³, J. Cebolla-Cornejo^{1*}.

¹*Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV). Universitat Politècnica de València. Cno. de Vera, s.n. 46022. València. Spain.*

²*IRTA, Centre for Research in Agricultural Genomics CSIC-IRTA-UAB-UB. CRAG, Barcelona, Spain.*

³*Estación Experimental Agraria de Carcaixent. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, IVIA. C/ Partida Barranquet, s.n. 46740, Carcaixent, Spain.*

Abstract

The variability present in 14 Spanish tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces has been studied using morpho-agronomical descriptors and molecular markers. For this purpose, a set of 32 polymorphic SNP has been specifically developed. The relation between Spanish landraces has been analysed using the information generated. The cluster analysis using SNP data showed a moderate correlation with morpho-agronomical data, which is rare considering the low level of genetic diversity found in tomato and that few genes control key traits in landrace recognition, as size, shape and external appearance. Compared with previous studies, the set of SNP markers used provides a reliable tool for the analysis of diversity, with high bootstrap values obtained in the cluster analysis. Nevertheless, it seems to exist a strong influence of the specific combination of populations of each landraces analysed, the marker type and set of markers on the analysis of genetic differentiation in tomato landraces. Specific combinations of SNP markers (from two to six markers per landrace) enabled the clear identification of most of the landraces evaluated. Its use would be a useful tool to control the commercial fraud typical of quality niche markets where high yielding modern varieties resembling traditional landraces are sold, taking advantage of the price premium of these materials.

Keywords genetic diversity, SNP, varietal identification, genetic resources, landraces

Introduction

Today it is widely accepted that tomato was domesticated in Mexico (Blanca *et al.*, 2012). From there, the tomato would have arrived in Europe in the first half of the 16th century through Spain (Dondarini, 2010). Ever since, the tomato has been highly appreciated in the Spanish diet and its cultivation became rapidly common. As a consequence a high diversification took place, with the farmers playing an important role in the selection of distinct morphotypes.

These traditional varieties or landraces are today highly appreciated by consumers, which have expressed for a long time their increasing concern on the low organoleptic quality of modern bred tomato varieties (Bruhn *et al.*, 1991). Several factors are involved in this

lack of flavour, including early harvest (Maul *et al.*, 1998), the use of delayed ripening genes (McGlasson *et al.*, 1987) and an excessive focus on high yield, disease resistance and external appearance during the development of breeding programs. On the contrary, Spanish tomato landraces outstand in their organoleptic quality and have consequently found their place in niche market with selective consumers, who are willing to pay up to 4.7 times the price of modern commercial varieties in order to recover the true flavour of vegetables (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007).

Consumers usually identify these landraces using external morphological traits, thus associating certain morphotypes with an increased internal quality (Casals *et al.*, 2011). Consequently, the consolidation of these high quality markets depends on maintaining these links between both set of traits. One of the main problems to keep this association relies on the proliferation of frauds associated with pricey produces. The low market value of agricultural produces, the increase on agricultural costs and the consequent reduction in profit margins, increase the number of producers trying to deviously take advantage of higher prices in quality markets. In this context it is becoming usual the introduction of commercial hybrid varieties with considerable higher yields and similar morphologies as traditional varieties in quality markets (Caramante *et al.*, 2009; Rao *et al.*, 2006). This fact threatens the link between traditional morphotypes and quality, as commercial hybrids may not reach the level of organoleptic quality expected by the consumer. Therefore, it is necessary to develop recognition systems as a tool to counterfeit fraud in quality markets and to preserve traditional varieties.

In this context, several external traits such as the presence and intensity of green shoulders, the presence of radial and concentric fruit cracking or the size of the corky area in the pedicel scar may be used to differentiate some landraces from similar commercial hybrids. Nevertheless, in addition to these indicative characteristics it is necessary to provide clear and validated methodologies to identify traditional varieties and distinguish them from commercial counterfeits. The use of molecular markers may be the solution for varietal identification in traditional quality markets.

This information might also be highly valuable in the characterization of the complex variability present in traditional varieties and their subpopulations, as well as in the management of *ex situ* collections through the identification of duplicates or the definition of core collections.

But this task may not be as easy as expected, as tomato landraces show high morpho-agronomical variability, but their genetic base is extremely narrow as reported long ago (Rick and Fobes, 1975; Miller and Tanksley, 1990; Williams and St. Clair, 1993). Even traditional and vintage varieties show lower diversity than modern hybrids (Sim *et al.*, 2009), probably due to the introgression in the latter of genome fragments from wild species during the development of breeding programs. The use of wild relatives in breeding programs of tomato started in the 50s (Rick and Chetelat, 1995), thus so during that long period of time a higher level of genetic diversity would have been incorporated from wild species.

Following the advances in the use of molecular markers, RFLPs, restriction fragment length polymorphisms (Miller and Tanksley, 1990), RAPDs, random amplified polymorphic DNAs (Archak *et al.*, 2002; Carelli *et al.*, 2006; Villand *et al.*, 1998;

Williams and St. Clair, 1993) and AFLPs, amplified fragment length polymorphisms (Park *et al.*, 2004) have been used in tomato for analysis of diversity or variety identification. However, several factors including the complexity of the techniques, the low polymorphism (Frery *et al.*, 2005; Miller and Tanksley, 1990; Williams and St. Clair, 1993), the dominant nature or the lack of representativeness of the whole genome, have justified their substitution by SSRs (simple sequence repeats), ISSRs (inter-simple sequence repeats) and SNPs (single nucleotide polymorphisms).

SSR and ISSR markers have been commonly used to study genetic variability and variety identification in tomato (Garcia-Martinez *et al.*, 2006; Mazzucato *et al.*, 2008, 2010; Terzopoulos and Bebeli, 2008; Yi *et al.*, 2008). But it seems that SNP markers are called to substitute previous markers following the decrease in the cost of their identification and application. Additionally, these markers seem to avoid the disadvantages of other markers. They are based on single nucleotide changes, widely and evenly distributed in the whole genome, so the appearance of polymorphisms is higher than in other types of markers. Therefore, SNPs are a really potentially helpful for analyzing genetic variation (Chen *et al.*, 2009; Sim *et al.*, 2009; Panthee *et al.*, 2013) and variety identification (Tedeschi *et al.*, 2011).

However, the use of SNP markers in traditional varieties of tomato has been limited. In this context, the main goals of this study consist in the evaluation of SNP markers in the analysis of genetic diversity of traditional varieties of tomato and their application in the identification of traditional varieties targeted to quality markets. Traditional varieties collected on the East coast of Spain were selected as a model, considering the tradition of tomato crop in this area which represents the first step in the diffusion of tomato out of the domestication centre.

Materials and methods

Plant materials

A collection 63 populations of 14 tomato landraces grown on the East coast of Spain was characterized (**table 1**). Populations were selected to represent the range of morpho-agronomical variation of the varieties obtained in previous studies (pending publication).

Table 1. Tomato populations characterized

Population	Figure code	Province	Locality	Landrace	Description
CDP08734	1.1	Valencia	Racó d'Ademús	"Centenares"	Very small sized round fruits with intense red coloration. Inland distribution in Comunidad Valenciana
CDP005349 ¹	1.2	Castellón	Onda		
CDP07243	2.1	Valencia	Chelva	"Cuarenteno"	Intermediate sized flattened ribbed fruits with green persistent shoulders. Semi-determinate plants. Early production. Typical of coastal areas close to Valencia.
CDP07457	2.2	Valencia	Aldaya		
CDP09667	2.3	Valencia	Torrente		
CDP04955	2.4	Alicante	Rojales		
CDP07843	2.5	Valencia	Valencia		

¹Local name "Pequeña de colgar". ²LN: Commercial populations obtained from local nurseries. ³Local name: "Cor de bou".

Table 1 (Cont). Tomato populations characterized

Population	Figure code	Province	Locality	Landrace	Description
CDP05385	3.1	Valencia	Torrebaja		
CDP05079	3.2	Valencia	Liria		
CDP01040	3.3	Valencia	Camporrobles		
CDP04259	3.4	Valencia	Xàtiva		
CDP03190	3.5	Castellón	La PLana	"De colgar"	Small sized round or oblong fruits with two or three locules. Transparent or yellow skin and thick pericarp. With delayed ripening (<i>alc</i>), they are harvested and conserved hanging in fresh places. Wide distribution including Cataluña, Comunidad Valenciana and Islas Baleares
CDP01972	3.6	Alicante	Xàbia		
CDP01025	3.7	LN ²	Viveros Cucala		
CDP001518	3.8	Castellón	Fanzara		
CDP001281	3.9	Valencia	Bicorp		
CDP00906	4.1	Alicante	La Aparecida	"De la pera"	Mid-sized pear shaped fruits with two or three locules. Thick pericarp and hollowness are common. Typical of the South of Comunidad Valenciana
CDP02614	4.2	Valencia	Chelva		
CDP07874	4.3	Alicante	Orihuela		
CDP04299	5.1	Castellón	Hostalet de Benasal		
CDP01280	5.2	Valencia	Ademuz	"De pera"	Small sized round or oblong fruits. Usually used for cooking. Wide indeterminate distribution
CDP00929	5.3	Valencia	PobleNou.Valencia		
CDP06418	5.4	Valencia	Valencia		
CDP07166	6.1	Valencia	Valencia	"Flor de baladre"	Small sized round or oblong fruits. Usually used for cooking. Mainly grown in Murcia.
CDP008737	6.2	Murcia	Campo de Cartagena		
CDP07123	7.1	Valencia	Dos Aguas		
CDP09895	7.2	Castellón	La Jana	"Gordo rojo"	Very large sized flattened and ribbed fruits. Wide indeterminate distribution. Typical of inland areas
CDP08786	7.3	Castellón	Arañuel		
CDP02182	7.4	Castellón	Todolella		
CDP000138	8.1		San Pablo de los Montes		
CDP004039	8.2	Albacete	La Gineta	"Moruno"	Large sized flattened fruits with dark purple coloration. Grown in Castilla La Mancha
CDP000384	8.3		Ciudad Real		
CDP02195	9.1	Alicante	Muchamiel		
CDP04512	9.2	Alicante	Muchamiel		
CDP03096	9.3	Alicante	Orihuela		
CDP05938	9.4	Valencia	Alboraya	"Muchamiel"	Large sized flattened and strongly ribbed fruits. With numerous locules, big peduncular scar and corky area and thick pericarp. Persistent green shoulders, orange-red ripe color. It is a late variety. Typical of Alicante
CDP09344	9.5	Alicante	Muchamiel		
CDP00700	9.6	Alicante	Muchamiel		
CDP08091	9.7	Alicante	Campello		
CDP07582	9.8	Alicante	San Juan		
CDP02095	10.1	Valencia	Torrent	"Negre"	Large sized flattened fruits with dark purple coloration. Grown in Comunidad Valenciana
CDP08320	11.1	Valencia	Massamagrell		
CDP06083	11.2	Valencia	Venta del Moro		
CDP06446	11.3	Valencia	Fontanares		
CDP01712	11.4	Valencia	Alborache	"Pimiento"	Mid-sized elongated fruits (similar to "Italian" peppers) with intense red color and green persistent shoulders, two to four locules and moderate radial cracking. Used for cooking. Wide indeterminate distribution
CDP04056	11.5	Valencia	Catarroja		
CDP02785	11.6	Valencia	Jaraco		
CDP07194	11.7	Valencia	Moncada		
CDP08690	12.1	Valencia	Fontanares		
CDP04904	12.2	Valencia	Alboraya		
CDP07661	12.3	Castellón	Todolella	"Rosa"	Very large sized flat fruits with variable levels of ribbing. Transparent skin and pink color. Typical of inland areas Wide indeterminate distribution
CDP03526	12.4	Valencia	Sellent		
CDP04303	12.5	Valencia	Valencia		
CDP05729	13.1	Valencia	El Pereió		
CDP04640	13.2	Valencia	Vinalesa		
CDP06747	13.3	Valencia	Paterna		
CDP04829	13.4	Valencia	Pobla de Vallbona		
CDP01649	13.5	Valencia	Picassent	"Valenciano"	Mid to large sized heart shaped fruits. Two subtypes: "Masclat" (conventional "Valenciano" type) with smaller size and pronounced pointed shape and "Blanca" with a larger size and more flattened shape and paler color in immature fruits. Variable green vertical stripes, orange-red ripe color and numerous locules. Grown in València.
CDP00074	13.6	Valencia	Casas Altas		
CDP01197	13.7	Valencia	Valencia		
CDP04915 ³	13.8	Valencia	Carcaixent		
CDP06753	13.9	LN ²	Viveros Peris		
CDP008517	14.1	Galicia	-	"Tomaca gallega"	Mid-sized heart shaped tomatoes similar to "Valenciano" but with pinkish color. Grown in Galicia.

¹Local name "Pequeña de colgar". ²LN: Commercial populations obtained from local nurseries. ³Local name: "Cor de bou".

These populations were provided by the germplasm bank of the Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV). Two populations were purchased from local nurseries as controls. Population CDP008517 of "Tomaca gallega" was included in the study representing a morphology similar to "Valenciano", one of the main landraces of the area, but a completely different geographical origin. The landrace "Moruno" from the Center of Spain was included to study its relation with the landrace "Negre".

Morpho-agronomical characterization

A set of 56 of the 63 populations that were characterized molecularly was selected to evaluate morpho-agronomical variation. The assay was carried out in Carcaixent (+39° 6' 37.13", -0° 26' 45.05", Valencia, Spain). A spacing of 1.2 m x 0.4 m (2.1 plants m⁻²) was applied. Plants were drip-irrigated, with the same doses and fertilization that are typically applied in tomato commercial plantations in the area of Valencia. Two replications of 20 plants per population were randomly distributed in two blocks.

A group of tomato descriptors from International Plant Genetic Resources Institute's (IPGRI, 1997) guidelines (marked I-) and other ones added considering previous experience (marked A-) were used to study the morpho-agronomical variation, including 1 quantitative agronomical descriptor, 5 qualitative agronomical descriptors, 9 quantitative morphological descriptors and 23 qualitative morphological descriptors. A quantitative approximation was used for qualitative traits, so these descriptors were classified in the maximum possible classes, ranging from 0 (lowest) to 7 (highest) depending on the trait intensity. The only quantitative agronomical descriptor was I-fruit weight (g). The qualitative agronomical descriptors included A-fruit conservation (conventional/long), I-plant growth type, A-plant vigour, I-radial cracking and I-concentric cracking. The quantitative morphological descriptors were A- Hunter a/b ratio (external ripe fruit colour), I- number of locules, I-fruit width (mm) and I-fruit height (mm), A-fruit width/fruit height ratio, A-core width (mm), A-core height (mm), A-core width/fruit width ratio, I-pericarp thickness (mm). Qualitative morphological descriptors used were: I-fruit cross-sectional shape, I-external ripe fruit colour, I-skin colour of ripe fruit, I-intensity of fruit ribbing, I-fruit shape, I-leaf type, I-stem pubescence, I-leaves attitude, I-foliage density, I-inflorescence type, A-presence of vegetative shoots in the inflorescence, A-flower fasciation, I-style position, I-external colour of immature fruits, A-presence of green shoulders in mature fruits, I-intensity of greenback, I-fruit shoulder shape, A-presence of green stripes in immature fruits, A-presence of green stripes in mature fruits, I-presence/absence of jointless pedicel, I-fruit blossom end shape, I-width of pedicel scar and I-shape of pistil scar.

Molecular characterization

SNPs selection

The SNPs markers employed in these study were developed by Blanca *et al.* (2011) from all public tomato Sanger EST reads, available at the SGN and GenBank databases (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>, <ftp://ftp.solgenomics.net/>) with known tomato accession origins, and from an additional set of sequences, 14.2 million Illumina reads were obtained from a normalized cDNA library. A total of 384 SNPs were genotyped in 30 Spanish tomato landraces (data not shown). A subset of 32 SNPs was selected considering their polymorphism and genome position (**table 2**). Polymorphism information content (PIC) was calculated as described by Botstein *et al.* (1980).

DNA extraction and HRM analysis

DNAs were extracted using the CTAB protocol (Dellaporta *et al.*, 1983), from young leaves of one plant by landrace.

The PCR primers used to amplify the SNP-containing regions (**table 2**) were designed with the Primer3 program (Rozen and Skaletsky 2000; <http://frodo.wi.mit.edu/>). The primer pairs were selected for their annealing temperature (from 53 to 62 °C) and their expected amplicon size (from 75 to 150 nucleotides). High Resolution Melting (HRM) PCR reactions (Gundry *et al.*, 2003) were carried out on a LightCycler 480 instrument (Roche Basel, Schweiz) employing the LC480 HRM master mix kit (Roche Basel, Schweiz). Melting curve analysis was performed using LightCycler 480 Gene Scanning Software.

Table 2. SNP markers (primers and characteristics) used for the molecular characterization (Chr., chromosome; PS, primer size; T_m – melting temperature in °C at 50mM NaCl; F, forward; R, reverse; AN, number of alleles; AS, amplicon size; PIC, polymorphic information content).

SNP	Chr.	Primer Sequences (5' - 3')		PS		T _m		
		Forward	Reverse	F / R	F / R	AN	AS	PIC
8459	1	CTGCTGTAAACTCTGCTGGTG	GGATGAACCTTTTAGAGTGAGAAG	21/25	56/53.5	3	78	0,416
1125	1	GCAGAAGTACCGGTGAAAGC	GCAGAAGGTGTCACATCACC	20/20	56.2/56	2	109	0,197
745	1	AGTGCCAGAGAACAAGAGACG	CAACTCCAGCCACAAGTCTTC	21/21	56.8/56	2	112	0,366
3635	1	TGGTGGATTCAGAAATCTTTTAC	AGACTGGATATACCAGAAGAAGGATGA	24/27	57.6/61.9	2	85	0,364
9796	2	CAAGAGATTGGGTACTGATTGG	TGGACCACTGCGTCAAATG	23/19	53.5/55.7	2	117	0,274
1244	3	GATTGTTTGCTCCGTGGTG	GCCCTAGCAATGTGAGACTTG	19/21	54.4/55.8	2	90	0,158
3243	4	TCACCCATTTGCAGGGTCAT	ACTAGCATATTGATCAGGAAAGTATTGC	20/28	57.3/60.7	3	103	0,382
959	4	TTTCACCTTCCTTCTCTGAGC	GAGATCCTTCCAAGTGCAAAA	21/21	54.5/53.1	2	112	0,060
1345	4	TGATGTGTGTGCCCAAAGG	TGAATGCCTTCGAGTTGATG	20/20	55.2/53	3	96	0,432
1003	4	TTGGGCCTTACAATATTTGAGTTAC	CCTTTTGACAGTCCATGTC	25/20	53.4/54.3	2	85	0,206
411	4	GCTTGATTCCAAACTCATCG	GGTTCGGTTTTGAAGTCTCAG	20/20	51.8/53.9	2	111	0,349
184	4	CGGAAGTGAAGAACTCAAGG	CGAAATCATGACTCGTGGTG	21/20	53.5/53.7	2	92	0,197
5498	5	AGACATGATCAGGTGCGTGTTT	TCTCCTTAACAACATAACCCTTTTTCTT	22/27	60.3/58.9	2	78	0,374
4714	6	GTTTTGCTGCTTTCAATTAATTTCC	ACATCAAATACCCCAAAAAGTTTAAA	25/27	56.4/55.9	2	103	0,375
9207	6	CAGAAATGGCAACTACCAACC	CAGGCCATGGAAAAATCAAC	21/20	54.2/52.4	3	88	0,366
5300	6	TGCTGGTGACATGATTCTTGCT	TGTCAATCCAACCTTCAGTCCAA	22/23	58.4/57.1	2	75	0,374
410	6	GCGAATATCAAACGCGAGAT	CGCCTCCTTAACAAATTC	20/20	53.3/51.8	3	126	0,333
1597	7	GTTTTCTGATCCGGCTTTTG	ATCCACCAGCCACAATTCTC	20/20	52.3/55.1	2	112	0,135
9794	7	TTCTGGCTAGTTTCGATTGC	CATAATTTGCTGTCCAATTGCT	21/22	53.3/52.1	2	82	0,325
2264	7	AAATGAAGGTAGCCCAAAAAG	AAGGTTGGATTTAGGGTTTGG	21/21	53.2/53	2	103	0,286
9494	8	GCAGGACGAATCTAAATCTGG	TTGCCACAGGTCTACACAC	21/20	53.2/57.3	2	89	0,316
2360	8	GGTAACGAAGCATCGATCAAG	CAAGTTCTAGCAGCACTGAACG	21/22	53.6/56.1	2	85	0,178
6135	8	GGGAGAGGGAAACAGTGTAG	AGCACTCCAACGTGAAGAGG	21/20	56.8/57.2	2	82	0,045
2352	9	GATTCTCAAGAAGGGGCACA	CCATTGACAACCTCAGAAGTACC	20/23	54.8/55.4	2	112	0,087
1462	10	GGAGCCAAGACTGGAACCTC	TCAGGTGATTGAACCTGCAC	20/20	57.7/55.2	2	99	0,286
589	10	GAAGCACGTACACAGCTCTCC	TCGGGGCTCTTATCAGTCAG	21/20	57.8/56.1	3	101	0,242
9318	10	CCTCAGAAAAAGGTGTTGGTC	CCCCCTCAAATGAACCAAG	21/19	53.8/53.5	2	150	0,349
3171	11	AATCCACGAACCCACTTG	AGCGGTGGGTTCAATCTTC	19/19	55.2/55.3	3	95	0,325
948	11	CCAAAGTATGGGTGGAGGTC	CCTGACCGGTGGTAACTCTC	20/20	55.1/57	2	97	0,135
726	11	CCGATGAGACGACCTGTCTAC	TCTCGACCGTGAAGATAGC	20/20	57.2/56.2	2	102	0,178
832	11	GGACGAGAGGCAATTTTGG	GCGAAAACCATAACCAGAGTTC	19/22	54/54.2	2	112	0,112
8245	12	CGTAGTCGAGGAGGAGGATTG	ATAGCCCCGTGGCACATAC	21/19	56.5/57.4	2	117	0,373

Statistical analysis

The analysis of morpho-agronomical data was performed as in Cebolla-Cornejo *et al.* (2013a). A principal component analysis (PCA) was carried out using the means of the whole set of morpho-agronomical variables. The number of principal components to be included in the analysis of the results was determined following the criterion described by Krzanowski (2000).

Morpho-agronomical data were transformed using a range transformation ($x_i = [x_i - \min(x)] / [\max(x) - \min(x)]$), then a distance matrix was obtained using Euclidean distance. With this distance matrix, a cluster analysis was performed using the unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA).

For the molecular data, the percentage of polymorphism, P, observed heterozygosity, Ho, Nei's genetic diversity, D (Nei, 1973) and mean Nei's genetic identity, d (Nei, 1972), were calculated for each landrace. Two cluster analysis were performed using Dice's similarity coefficients (Dice, 1945). The first one included only the populations characterized morpho-agronomically and the second included the whole set of populations. In this analysis, stable clusters were identified using bootstrap resampling (1000 repetitions, 30% substitution) and considering stability values for the nodes higher than 40%. A principal coordinate analysis was also performed.

A geographical distance matrix was calculated using linear distances between collection sites. The correlation between morpho-agronomical, geographical and molecular data was studied using Mantel tests with 1000 permutations.

The statistical software used for the different analysis included S-PLUS v. 8.01 for windows (Insightful Corp., Seattle), NTSYSpc v.2.02 (Applied Biostatistics Inc., Setautek). Popgene software v. 1.32 (Yeh *et al.* 1999), Phylip (Felsenstein, 2004) and Phyltools (Buntjer, 2001).

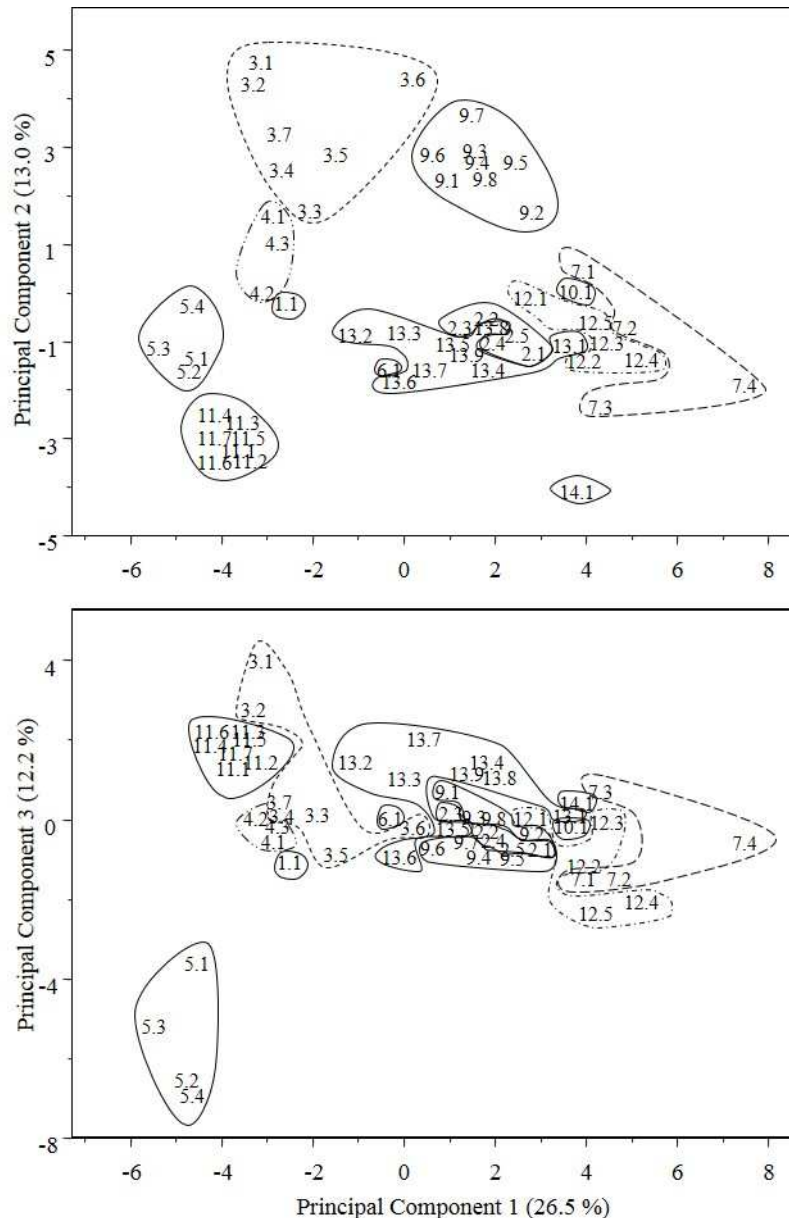
Results

Morpho-agronomical variation

The principal component (PC) analysis enabled an easy interpretation of the morpho-agronomical variation present in the collection of tomato landraces analysed. The first three PC were selected following the criterion described by Krzanowski (2000), considering the inflection point in the scree plot obtained with the eigenvalues. These components explained almost a 50% of the variation (26.5% PC1, 13.0% PC2 and 12.2% PC3). The populations of each landrace appeared grouped in different degrees in the graphical representation of the first three PC (**figure 1**), though different levels of variation could be identified. Among the different landraces evaluated, only "Pimiento" and "De pera" could be clearly identified, being differentiated from the rest considering the first three PC. For the rest of the landraces, certain general characteristics enabled some level of grouping of the populations in the PCA, but the area of distribution of each landrace overlapped with the area of another one.

The landrace “Centenares” displayed a phenotype similar to a standard cherry variety, although with irregular inflorescences. In fact it is not clear if this landrace could have been originated by farmers’ selections of obsolete cherry varieties. The population CDP08734 (figure code 1.1) that effectively belongs to this landrace plotted in the PCA near the landraces “De colgar” and “De la pera”, despite the great differences in fruit size. The population CDP005349 (figure code 1.2) displayed similar features in previous assays (unpublished data) and was ascribed to “Centenares”, but it was not characterized morphologically in this assay. Its local name was “Pequeña de colgar” (*small hanging tomato*) and it was included in the molecular characterization to check its relationship with “Centenares”.

Figure 1. Principal component analysis using morpho-agronomical data (representation of the first three components). The first figure indicates the landrace: 1: “Centenares”; 2: “Cuarenteno”; 3: “De Colgar”; 4: “De la pera”; 5: “De pera”; 6: “Flor de baladre”; 7: “Gordo rojo”; 9: “Muchamiel”; 10: “Negre”; 11: “Pimiento”; 12: “Rosa”; 13: “Valenciano”; 14: “Tomaca gallega”.



The landrace “Cuarenteno” could be an obsolete variety instead of a real landrace (though it has never been registered as a commercial variety in Spain). It has mid-sized flat fruits and is characterized by semi-determinate growth and early production. The landrace was quite uniform and its populations plotted together in the PCA, but in an area shared with populations of “Flor de baladre”, “Valenciano”, “Cuarenteno”, “Rosa”, “Negre” and “Gordo rojo”. All these landraces appeared intermixed in the PCA with similar values of PC2 (mainly related to fruit shape traits) and PC3 (mainly related to fruit shoulders and cracking) and some level of differentiation in PC1 (mainly related to fruit size traits).

The landrace “De colgar” also known as “De penjar” has typically different shapes and colours. The populations used in this study only represented a part of this variation. All the characterized populations shared the common traits of the landrace: long term conservation, pale colors and a rather small fruit size. The area of distribution of the populations of this landrace in the PCA was quite wide, confirming its great variability.

The landrace “De la pera” appeared to be quite uniform with all the populations characterized plotting together in the PCA. In the case of the landrace “De pera” it usually remains unclear if some of the populations derive from farmers’ selections of processing varieties, as the main characteristics of the landrace are related with its use for cooking sauces. Despite this consideration, the populations plotted together in the PCA and close to the populations of “Pimiento”, also used for cooking (although considerable differences were found in PC3).

The landrace “Flor de baladre” was characterized by large and slightly flattened fruits with pink color. The representative population characterized plotted mixed with the “Valenciano” populations. “Gordo rojo” is a landrace typical of inland areas with very large and red fruits. The denomination is quite unclear as it can also be referred simply as “tomato”. In the PCA the populations plotted quite separately, but with high values in the first PC.

The characterized population of “Negre” also known as “Negro” had the typical large fruits and purple color of the landrace. It plotted in the PCA mixed with the populations of “Rosa” and “Gordo rojo”. A similar morphology is found in the landrace “Moruno”, although this one is typical of “Castilla la Mancha” in the center of Spain. This landrace was not morphologically characterized but it was included in the molecular characterization to evaluate its relation with the landrace “Negre”.

The populations of “Muchamiel” showed the typical mid-sized, flat fruits with strong ribbing and deep green shoulders. They plotted relatively close in the PCA, with moderate levels of variability, but they were mixed with other landraces (especially “Valenciano” and “Rosa”) in the first and third PC. The landrace “Pimiento”, characterized by long fruits resembling Italian peppers was quite uniform and its populations plotted closely in the PCA. This landrace could be clearly differentiated considering PC1 and PC2. The populations of “Rosa” showed the typical characteristics of the landrace: large fruits with transparent skin and pinkish external color. As expected, the populations of “Rosa” resembled those of “Gordo rojo” and the two landraces plotted closely in the PCA. Although the level of variation of “Rosa” was lower than in the case of “Gordo rojo”, still a considerable level of variability was observed.

The populations of “Valenciano” showed the typical heart shaped fruits, but with variable elongation and sizes. The populations that could be visually ascribed to the “Mascllet” sub-type (figure codes 13.2, 13.3, 13.4 and 13.7) could not be clearly differentiated in the PCA from those ascribed to the “Blanca” sub-type (13.1, 13.5, 13.6 and 13.9). The population CDP04915 (figure code 13.8), with a local name “Cor de bou” and showing the “Blanca” characteristics was ascribed to “Valenciano” in previous assays. As in the case of CDP005349 in “Centenares”, this population was included to study if the local name corresponded to a synonym of “Valenciano”. At the level of morpho-agronomical characterization this population plotted with the others of the landrace. In “Valenciano” the population CDP05729 (figure code 13.1) showed a higher value in the first PC.

The landrace “Tomaca gallega” was included in the study, as it showed in previous characterizations some resemblance to “Valenciano” but with transparent fruit skin color and pink fruit external color. It plotted close to the population CDP05729 (figure code 13.1) of Valenciano.

Molecular characterization

As expected, considering the selection of the SNPs, none of the markers were monomorphic. The majority of the markers (25 out of 32) showed two alleles and 7 of them 3 alleles. Variable levels of polymorphic information content (PIC), ranging from 0.045 to 0.432, were detected with a mean value of 0.268 (**table 2**). The most informative markers were the SNPs 1345, 8459, 3243, 4714, 5498, 5300, 8245, 745 and 9207 with PIC values ranging between 0.432 and 0.366.

Some levels of observed heterozygosity were detected in all the landraces with exception of “Cuarenteno” (**table 3**). The higher levels of observed heterozygosity were detected in the landraces “Centenares”, “De la pera”, “Rosa” and “Tomaca gallega”. The highest percentage of heterozygous loci were detected in the populations CDP08734 of “Centenares” (15.6%), CDP00906 of “De la pera” (9.4%), CDP06418 of “De pera” (6.3%), CDP07582 of “Muchamiel” (6.3%), CDP08690 of “Rosa” (6.3%), CDP04904 of “Rosa” (12.5%) and CDP008517 of “Tomaca gallega” (6.3%). In the rest of the populations no heterozygous loci or only one heterozygous locus were detected. The proportion of polymorphic loci was also variable (**table 3**), with very low levels in “Negre” (0.03), “Tomaca gallega” (0.06) and “Flor de baladre” (0.06) and the highest values in “De colgar” (0.72), “Rosa” (0.72), “De pera” (0.56), “Gordo rojo” (0.53) and “Centenares” (0.41). The highest Nei’s genetic diversity values were detected in “De colgar” (0.27), “Rosa” (0.26), “Gordo rojo” (0.24) and “De pera” (0.24). The highest mean genetic distances within landrace were detected in “Centenares”, “Rosa”, “De pera”, “Gordo rojo” and “De colgar”, with values higher than 0.35.

Some level of genetic differentiation was observed in the multivariate analysis using the SNP data, as the populations of several landraces showed some level of aggregation both in the principal coordinate analysis (PCoA) and in the cluster analysis (**figures 2 and 3**). The populations of “Valenciano” appeared relatively grouped in the PCoA (**figure 3**) and in the same node in the cluster analysis (**figure 4**). As in the case of morpho-agronomical data, the populations ascribed to the sub-types “Blanca” and “Mascllet” were not grouped. The population CDP04915 (figure code 13.8) with local name “Cor de bou” appeared grouped with the “Valenciano” populations. This population was appeared in PCA mixed

with other “Valenciano” populations, suggesting that either its designation is a synonym of “Valenciano” or it represents a new sub-type. In both analysis a relative level of similarity was detected between this landrace and one population of “Moruno” (CDP000384, figure code 8.3), with the populations CDP03190 (figure code 3.5), CDP01972 (figure code 3.6) and CDP01025 (figure code 3.7) of “De colgar” and with all the “Cuarenteno” populations, which clustered in an adjacent node. The population CDP008517 (figure code 14.1) of “Tomaca gallega” appeared clearly differentiated from the “Valenciano” populations, ruling out any relationship. The population CDP05729 (figure code 13.1) of “Valenciano” that showed higher values of the first PC in the morphological analysis appeared mixed with the other populations of the landrace both in the PCoA and cluster analysis, discarding a wrong ascription.

Table 3. Parameters of genetic variability obtained with the molecular characterization (32 SNP markers). *n*: number of populations; *P*: Proportion of loci in which the most frequent allele is under a frequency of 0.95; *Ho*: observed heterozygosity and its standard deviation (in parentheses); *D*: Nei’s genetic diversity and its standard deviation (in parentheses); *d*: mean Nei’s genetic distance and its standard deviation (in parentheses).

Landrace	n	P	Ho	D	d
“Centenares”	2	0.41	0.09 (0.24)	0.19 (0.23)	0.38 (0.00)
“Cuarenteno”	5	0.25	0.00 (0.00)	0.10 (0.17)	0.13 (0.07)
“De colgar”	9	0.72	0.02 (0.14)	0.27 (0.20)	0.35 (0.11)
“De la pera”	3	0.31	0.05 (0.19)	0.14 (0.22)	0.22 (0.04)
“De pera”	4	0.56	0.02 (0.10)	0.24 (0.22)	0.37 (0.16)
“Flor de baladre”	2	0.06	0.03 (0.18)	0.03 (0.12)	0.03 (0.00)
“Gordo rojo”	4	0.53	0.03 (0.18)	0.24 (0.23)	0.37 (0.15)
“Moruno”	3	0.34	0.02 (0.12)	0.15 (0.21)	0.25 (0.20)
“Muchamiel”	8	0.34	0.03 (0.18)	0.12 (0.18)	0.13 (0.06)
“Negre”	1	0.03	0.03 (0.18)	0.02 (0.09)	-
“Pimiento”	7	0.16	0.03 (0.18)	0.05 (0.12)	0.04 (0.02)
“Rosa”	5	0.72	0.05 (0.12)	0.26 (0.18)	0.38 (0.13)
“Valenciano”	9	0.28	0.01 (0.03)	0.08 (0.14)	0.09 (0.04)
“Tomaca gallega”	1	0.06	0.06 (0.25)	0.03 (0.12)	-

Figure 2. Principal coordinate analysis (SNP markers) with the expanded set of populations (representation of the first three coordinates). The first figure indicates the landrace: 1: “Centenares”; 2: “Cuarenteno”; 3: “De Colgar”; 4: “De la pera”; 5: “De pera”; 6: “Flor de baladre”; 7: “Gordo rojo”; 8: “Moruno”; 9: “Muchamiel”; 10: “Negre”; 11: “Pimiento”; 12: “Rosa”; 13: “Valenciano”; 14: “Tomaca gallega”.

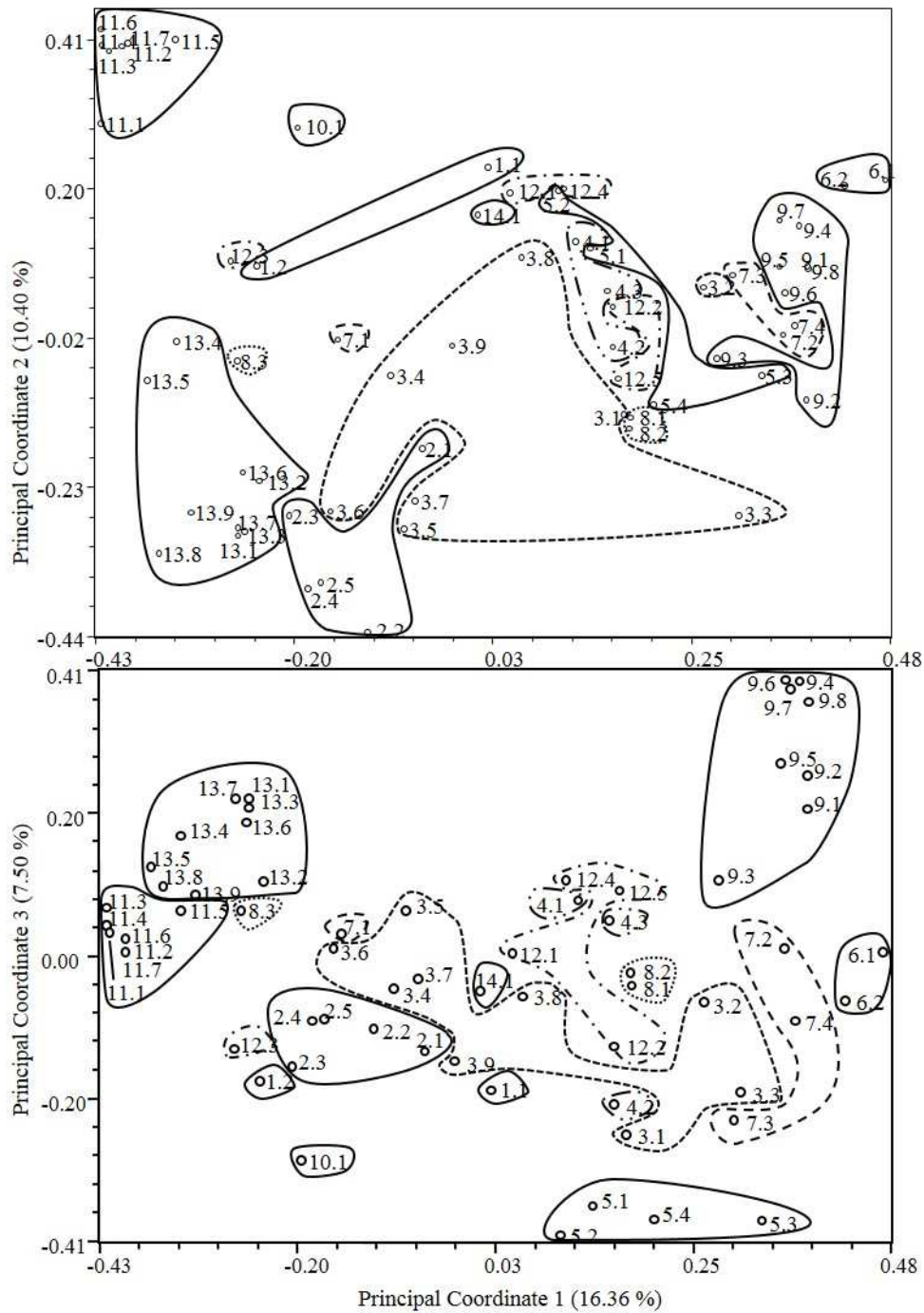
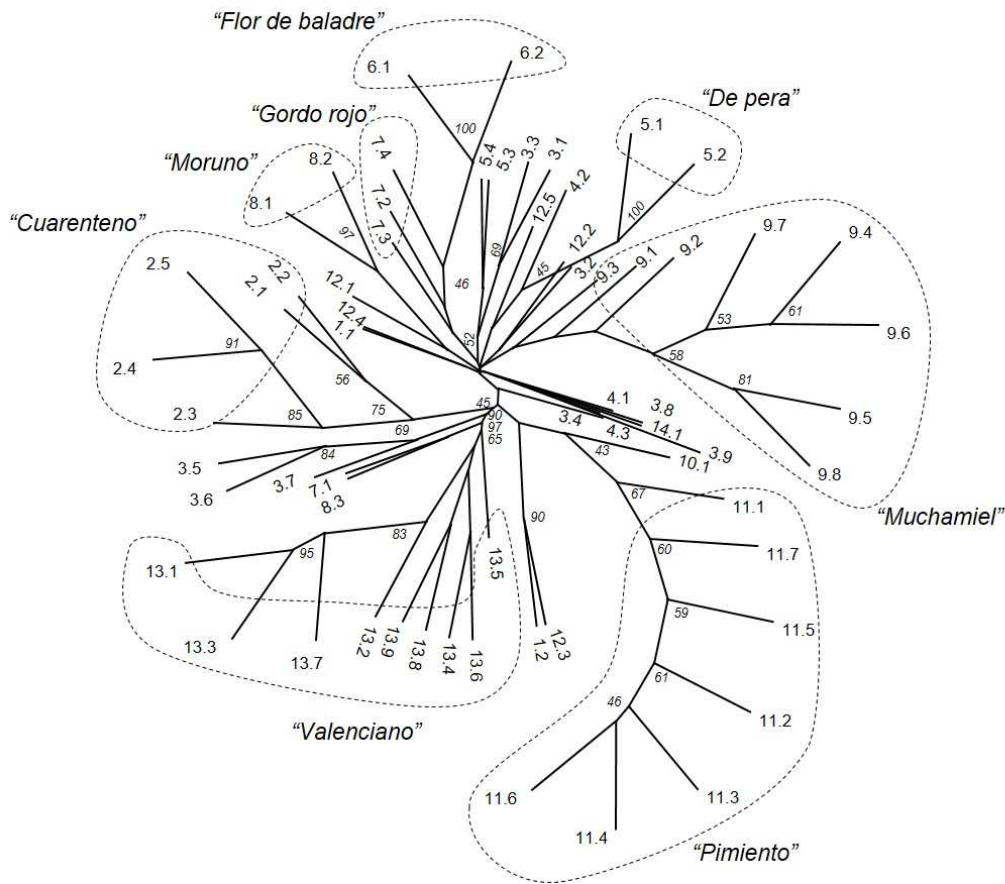


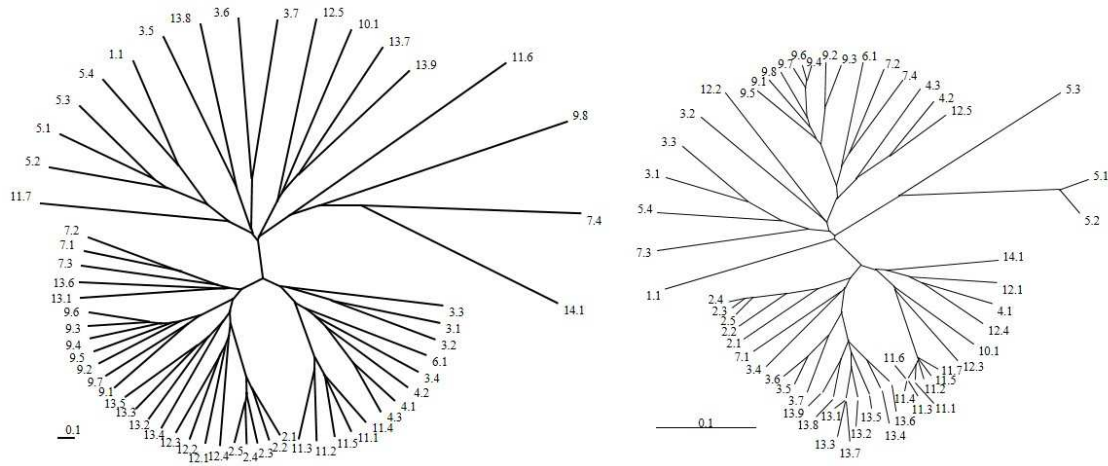
Figure 3. Cluster analysis (UPGMA) performed using the Dice similarity coefficient with the molecular data and the expanded set of populations. The first figure indicates the landrace: 1: “Centenares”; 2: “Cuarenteno”; 3: “De Colgar”; 4: “De la pera”; 5: “De pera”; 6: “Flor de baladre”; 7: “Gordo rojo”; 8: “Moruno”; 9: “Muchamiel”; 10: “Negre”; 11: “Pimiento”; 12: “Rosa”; 13: “Valenciano”; 14: “Tomaca gallega”.



The populations of “Pimiento” appeared clearly differentiated in the PCoA (first and second coordinates) and grouped in the same node of the cluster analysis. In the last analysis, some populations of other landraces were associated with the populations of “Pimiento”, though with low bootstrap values. This node was associated to the ones corresponding to “Valenciano” and “Cuarenteno”. A strong association could be identified in one of the branches associated with the node of “Pimiento” populations, as population CDP005349 (figure code 1.2) of “Centenares” and population CDP07661 (figure code 12.3) of “Rosa” appeared grouped with high bootstrap values. The two populations of “Centenares” were quite distant in the PCoA and appeared in different nodes in the cluster analysis. Probably, the previous adscription of population CDP005349 to the landrace “Centenares” was wrong.

The populations of “Muchamiel” appeared grouped in the cluster analysis, although 3 of them (CDP03096, figure code 9.3, CDP04512, figure code 9.2 and CDP02195, figure code 9.1) with low bootstrap values. In the PCoA the populations CDP03096 and CDP04512 also appeared at some distance from the rest of the group. The cluster of “Muchamiel” was related with clusters of “De pera”, “De colgar”, “Flor de baladre”, “Gordo rojo”, “Moruno” and “Rosa”.

Figure 4. Cluster analysis (UPGMA) using the Euclidean distance in the case of morpho-agronomical data (left) and Dice similarity coefficient in the case of the molecular data (right). The first figure indicates the landrace: 1: “Centenares”; 2: “Cuarenteno”; 3: “De Colgar”; 4: “De la pera”; 5: “De pera”; 6: “Flor de baladre”; 7: “Gordo rojo”; 9: “Muchamiel”; 10: “Negre”; 11: “Pimiento”; 12: “Rosa”; 13: “Valenciano”; 14: “Tomaca gallega”.



A considerable level of variation was observed in “De colgar”, “Centenares”, “Rosa”, “De pera”, “De la pera” and “Gordo rojo”. Though in the case of “Rosa”, “De pera”, and “Gordo rojo” some level of grouping was observed and two differentiated groups could be distinguished in each landrace. These groups did not correspond to clear morpho-agronomical differences. In the case of “Moruno”, that was not previously characterized morpho-agronomically, the populations CDP000138 (figure code 8.1) and CDP004039 (figure code 8.2) were clearly grouped together at some distance of the population CDP000384 (figure code 8.3). In any case, the populations of “Moruno” showed no relation with the population “Negre”, with similar characteristics but a different area of cultivation.

For all the landraces but for “De colgar” and “Rosa” it was possible to identify a unique combination of markers. This two landraces had previously shown a high degree of variability in the morpho-agronomical characterization. The number of SNPs required for landrace identification was variable. The landraces “Cuarenteno”, “De pera”, “Muchamiel” and “Negre” required just two markers for their identification. “Flor de baladre”, “Tomaca gallega” and “Pimiento” required three markers, “Moruno” and “Centenares” four markers, “De la pera” and “Valenciano” five markers and “Gordo rojo” six markers (table 4).

Table 4 Specific SNP combinations proposed for the identification of landraces

Landrace	SNP combination
“Centenares”	SNP-3635 (AA) + SNP-5499 (AA) + SNP-8245 (AA) + SNP-8459 (TT)
“Cuarenteno”	SNP-1125 (TT) + SNP-8245 (AA)
“De colgar”	No Found
“De la pera”	SNP-3635 (CC) + SNP-5301 (AA) + SNP-3244 (TT) + SNP-8245 (CC) + SNP-8459 (CC)
“De pera”	SNP-589 (AA) + SNP-726 (TT)
“Flor de baladre”	SNP-745 (AA) + SNP-1462 (TT) + SNP-1244 (AA)
“Gordo rojo”	SNP-3635 (CC) + SNP-745 (GG) + SNP-411 (CC) + SNP-184 (AA) + SNP-2360 (AA) + SNP-1003 (TT)
“Moruno”	SNP-3635 (CC) + SNP-745 (GG) + SNP-9494 (TT) + SNP-8459 (TT)
“Muchamiel”	SNP-411 (AA) + SNP-9796 (GG)
“Negre”	SNP-5301 (GG) + SNP-2360 (CC)
“Pimiento”	SNP-410 (GG) + SNP-9207 (CC) + SNP-9794 (TT)
“Rosa”	No Found
“Valenciano”	SNP-5301 (GG) + SNP-745 (GG) + SNP-1462 (CC) + SNP-411 (AA) + SNP-8459 (TT)
“Tomaca gallega”	SNP-3635 (AA) + SNP-3244 (CC)+SNP-3171 (GG)

Twenty two markers were required for the identification of landraces. Among them, the most usual were SNP-3635 used for five landraces, SNP-8459 and SNP-745 for four landraces, SNP-411, SNP-5301 and SNP-8245 for three landraces and SNP-1462, SNP-3244 and SNP-2360 for two landraces. There was not a clear relationship among the landraces sharing the same marker. For example, SNP-3565 identified “Centenares” and “Tomaca gallega” with the A allele and “De la pera”, “Gordo rojo” and “Moruno” with the C allele. In the same sense, SNP-8459 identified “Centenares”, “Moruno” and “Valenciano” with the T allele and “De la pera” with the C allele. Although these groups of accessions plotted relatively close in some cases in the PCoA, other populations of other landraces showed a higher relationship.

Relation between morpho-agronomic and molecular characterization

The relation between morpho-agronomic and molecular data was evaluated considering the Euclidean distance in the case of morpho-agronomic data and the Dice similarity coefficient in the case of molecular data. The matrix correlation coefficient obtained was $r=-0.45$ with a $p<10^{-4}$. Thus, a moderate correlation was obtained between morpho-agronomic and molecular data. Despite this correlation, the analysis of the dendrograms obtained with the cluster analysis (**figure 4**) did not offer a clear correspondence between the groupings of populations within landrace nor among landraces.

The correlation between the molecular similarity matrix and a geographical distance obtained using the linear distance between collection coordinates was also evaluated. The value obtained, $r=-0.03$ with $p=0.38$, discarded a clear connection between genetic similarity and spatial distance. On the other hand, the correlation between the Euclidean distance matrix of morpho-agronomic data and geographical distance was also not significant ($r=0.10$; $p=0.89$).

Discussion

During the last years several groups have been working in the evaluation of tomato landraces from different perspectives including molecular and morpho-agronomical diversity, breeding, quality analysis or market analysis among others. Most of this work is related with the common objective of promoting an *on-farm* conservation that would complement the *ex situ* conservation already made in seedbanks. It would be the case of the varieties “De la pera” and “Muchamiel” among others from Spain (Brugarolas *et al.*, 2009), “San Marzano”, “Sorrento” and “Vesubio” or “Abruzzese” among others from Italy (Ercolano *et al.*, 2008; Mazzucato *et al.*, 2010) or “Santorini” and “Pastra” among others from Greece (Terzopoulos and Bebeli, 2010). The consumer usually finds in these materials the true flavour of tomato, and is willing to pay up to 4.7 times the price of standard varieties (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007).

Traditional varieties or landraces are usually made up as population varieties consisting on mixes of genotypes with similar external features. But in the case of those species in which the farmer may have enough seeds from one or few individuals, such as tomato, the expected within population variability would be low (Zeven, 2002). These materials are also variable in a within landrace perspective. In this sense, each farmer applied a different selection to his or her own population, thus for each landrace there would exist as many different populations as different farmers growing it. In the case of tomato landraces, important traits as fruit weight seem to be highly variable within landrace while other traits related to fruit shape seem to be more conserved (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a). More importantly, from a conservation point of view, the high level of variation of yield within population has highlighted the necessity to make within landrace and within population selections to improve mean yield and thus economic feasibility of cultivation.

The results obtained in this work regarding the variability in morpho-agronomical traits confirm previous experiences with similar Spanish landraces, where, despite the existence of some common general patterns, the range of variation in these traits overlaps between different landraces (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a). Seed mixing and pollen contamination have been proposed as an explanation to justify the level of variation found within landraces (Casals *et al.*, 2011). In our work, the molecular analysis revealed relatively high levels of heterozygosity in several populations. Considering the low level of heterozygosity observed in the majority of the germplasm analyzed, it could be supposed that recent spontaneous crossings might have occurred in these populations. Although tomato is an autogamous species, up to 4% of spontaneous cross-pollinations in normal conditions may occur (Lesley, 1924). This rate of cross-pollination can even be increased in high temperature conditions, which favour style exertion (Levy *et al.*, 1978). Taking into account that tomato landraces in Spain are usually associated with smallholdings in which retired farmers grow different crops and varieties (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007), spontaneous cross-pollination between different landraces grown at the same time may not be rare and may indeed represent an important factor increasing within landrace diversity.

The existence of a wide variability within a landrace complicates its recognition by consumers. In quality niche markets, the link between external appearance and internal

quality is a key element required to consolidate the high prices that the consumer is willing to pay. In fact, farmers or dealers might take advantage of the high variability found within landrace to try to sell similar commercial varieties with higher yield but lower organoleptic quality. In addition, previous studies dealing with the variability in organoleptic quality parameters have shown that not all the populations of the same landrace might offer a high organoleptic value (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a).

In this context, the molecular characterization of tomato landraces might be targeted to landrace recognition in order to avoid market fraud, or to landrace depuration or more aggressive breeding programs. In the first case, the commercialization of tomato landraces might be considered as an alternative for European farmers willing to focus in quality markets. In this case, the advantage of local markets would involve the promotion of local production systems. It has been assumed that local food systems imply reduced food miles and lower carbon emissions, thus giving an added value to the commercialization of local landraces in local markets. But it should also be considered that recent research has showed that purchasing the most geographically local produce *per se* does not necessarily mean the lowest carbon impact, and that the impact of local vs. global production retailing systems should be revisited (Coley *et al.*, 2009). Additionally, landraces are also tightly linked to the organic agricultural sector. It is estimated that 95% of the organic production is performed with varieties bred for conventional high input agriculture (Lammerts van Bueren *et al.*, 2011). But these materials do not seem to represent the ideal germplasm for a low input agriculture. On the other hand, consumers of produces grown under organic parameters value a high organoleptic quality that is difficult to achieve with conventional varieties, among other reasons due to their high production levels. In this context tomato landraces offer both high organoleptic quality and adaptation to low input agriculture, and its use could be fostered in organic production. But these varieties still have other problems. For example, it is necessary to depurate populations by eliminating contaminant genotypes (Caramante *et al.*, 2009) and to increase intra-population uniformity (in terms of yield). Indeed, it has been proposed that the depuration of tomato landraces should be considered in order to select the materials offering the highest yields to the farmer and the highest internal quality to the consumer (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a).

In depuration programs, one of the limitations in the case of tomato resides in the low molecular variability previously found in the species, which limits the differences found between populations and landraces. Thus, it is difficult to identify if a certain population or sub-type of a landrace should be discarded as it does not belong to the major pattern of variation of the landrace or not. In this sense, the molecular characterization of tomato landraces could help to determine which populations effectively belong to a certain landrace or to revisit the concept of each landrace. It would then help to establish an ideotype as a starting point, to be continued with the selection of the best populations and the best individuals within populations. In this sense, the relation of populations with a presumed relation with a certain landrace has been successfully studied in our work, confirming the ascription of one population in one case and rejecting it in the other. The possible relation of similar landraces has also been studied, in this case discarding any relationship between “Moruno” grown in the center of Spain and “Negre” grown in the East coast. The same would apply to “Muchamiel” and “Cuarenteno”. Both varieties are

show flat shape, ribbing and strong green shoulders and both are used for salads. Nevertheless both can be differentiated in other traits and in fact appeared separated in the PCA, but the molecular analysis completely discards any relationship.

Even after small selection processes within landrace there would be still remaining defects. The main one would be their susceptibility to viral diseases. In fact, it has been proved that one of the main factors conditioning the recovery of these materials is the losses caused by viruses such as tomato mosaic virus (ToMV), tomato spotted wilt virus (TSWV) or the tomato yellow leaf curl disease TYLCD (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007). Today most commercial F₁ varieties carry several genes for resistance to these diseases among others and their incorporation in the varieties targeted to organic systems is demanded (Lammerts van Bueren *et al.*, 2011). It would be of great interest to introgress some of these genes while maintaining the intrinsic value of the traditional varieties. For this purpose, SNP markers would be of great interest. Their high level of polymorphism compared to other markers, their repeatability and their distribution throughout the genome would enable their use to recover more efficiently the traditional genome in backcrossing programs. In fact the strategy of introducing virus resistance genes into traditional varieties of tomato via conventional backcrossing programs has been proved to be feasible and organoleptic quality of the bred lines has proved to be similar to the original materials (Alonso *et al.*, 2009). Nonetheless, the development of intense breeding programs should be considered only as an additional tool to promote the use of these materials, and lines developed using only within landrace selection programs should be prioritized.

Either the development of low profile selection programs, discarding those materials that would not be economically reliable for farmers due to their worse performance or by high profile selection and breeding programs, the tomato landraces might be a good alternative to satisfy the demands of consumers in quality markets. Other added values such as the functional value have been also found in tomato landraces, helping to consolidate a price premium required to compensate the lower yield of these materials (Cortés-Olmos *et al.*, 2014). In any case, in this complex and competitive context, landrace fingerprinting systems would be required to counterfeit the frauds that arise when high prices are paid for vegetable produces.

With this and other objectives, several studies have been performed during the last decade targeted to the molecular characterization of prominent tomato landraces. Terzopoulos and Bebeli (2008) used inter simple sequence repeats (ISSR) for the molecular characterization of Greek landraces. The used of these markers enabled the aggrupation of morphotypes of the same landrace, showing diversity levels similar to those of modern cultivars. In the case of Italian landraces, Mazzucato *et al.* (2010) used simple sequence repeats (SSR). In this case, the use of SSRs enabled the distinction between “A pera Abruzesse” from “Canestrino di Lucca”, though they failed to distinguish between “A pera Abruzesse” and “Cuore di bue di Albenga”. In this particular case, previous studies proposed the use of a CAPS marker for the *ovate* gene as a mean to distinguish both landraces, though in one case a population of “A pera Abruzzese” carried the allele typical of “Cuori di bue di Albenga” (Sabatini *et al.*, 2006). García-Martínez *et al.* (2006) characterized molecularly a collection of Spanish landraces using SSR and AFLP markers. Among the landraces analysed, the authors included “Muchamiel”, “De la pera”,

“Moruno”, “Valenciano” and “Flor de Bbaladre”, though for the last two landraces only one population was analysed. Using one type of marker it was not possible to develop accession-specific marker combinations, but it was possible using a combination of both SSR and AFLP markers. Nevertheless, in a later study using (GATA)₄ oligonucleotide probes and including “De la pera” and “Muchamiel” materials and Italian landraces Garcia-Martínez *et al.* (2013) identified cultivar and accession specific combinations using a single type of marker. In our case, the use of SNP markers has proved to be an efficient tool for the identification of most landraces. The high number of SNPs required and the diversity observed in the landrace “Gordo rojo” as in the case of “Rosa” (with no unique combination) suggests that more analysis would be required. In the case of the landrace “De colgar”, the lack of a unique combination of SNP markers was expected considering the proposed origin of this landrace. Nevertheless, the *alcobaça* (*alç*) allele of the *non-ripening* (*nor*) gene and the small size of fruits can be used to fingerprint a true “De colgar” population (Casals *et al.*, 2012).

Regarding the genetic relations within and among Spanish landraces, in the SSR/AFLP study of Garcia-Martinez (2006) the populations of “De la pera” and “Muchamiel” appeared grouped to some extent, while the aggrupation of “Moruno” was more diffuse. As a landrace, “Moruno” appeared closely related with “De la pera” using SSR markers and with “Muchamiel” using AFLP markers. “Valenciano” seemed not to be clearly related with any of the mentioned landraces, while “Flor de baladre” appeared grouped with “Muchamiel” using AFLP data. It was clear, though, that the efficiency of grouping of each marker varied with the landrace considered. A similar conclusion was reported in a previous work with SSR and SRAP markers (Ruiz *et al.*, 2005), though in that case, the relation of “Flor de baladre” and “Valenciano” varied. In a later study, using the (GATA)₄ fingerprinting, two sub-populations of “De la pera” were identified by Garcia-Martinez *et al.* (2013); a structure not found before with SRAP, SSR, AFLP or SNP markers (García-Gusano *et al.*, 2004; Ruiz *et al.*, 2005; Garcia-Martinez *et al.*, 2006).

In our case, the populations of “De la pera” appeared grouped in the PCoA and scattered in the cluster analysis, while the populations of “Moruno” were divided in two groups in both analysis. Ruiz *et al.* (2005) suggested that the denomination “Moruno” is ambiguous and not based on real genetic similarity, which would explain the clear differentiation of the two groups obtained in our work. The close relation between two of the populations would not be explained by their geographical origin, as the populations CDP000138 (figure code 8.1) and CDP004039 (figure code 8.2) showed a high similarity while their geographical collection sites were more distant (91 km vs. 261 km). On the other hand “Muchamiel” populations appeared grouped in both cluster and PCoA analysis, at a certain distance of “Valenciano” populations and relatively related to some of the “Moruno” and the “Flor de baladre” populations.

In our previous attempt to analyze genetic diversity with Eastern Spanish landraces using AFLPs, a lower proportion of polymorphic loci and Nei’s genetic diversity was detected in “Valenciano” compared with “Muchamiel” (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a). But in the present work, using SNP markers, the difference in the diversity parameters found between both landraces was small. On the other hand, using SSR, AFLP or (GATA)₄ probes Garcia Martinez *et al.* (2006, 2013) found more genetic diversity within “Muchamiel” than within “De la pera” landraces. However, our results considering Nei’s

genetic diversity, and polymorphic loci proportion showed similar values, while the mean genetic distance was lower in “Muchamiel. Comparing the results obtained by different groups with different markers it is obvious that there is a strong influence of the set of populations and landraces analyzed, the type of marker and the specific subset of markers used on the analysis of genetic differentiation of tomato landraces.

The highest values of genetic diversity found in our work corresponded to “De colgar”, “Rosa”, “De pera”, “Gordo rojo” and “Centenares”. In the case of “De colgar” and “Gordo rojo” this result agrees with the higher diversity found in the PCA analysis using morpho-agronomical data. In the case of the “De colgar” landrace, it has been concluded that it is identified mainly by its long term storage capacity, which, as it has been already mentioned, is related to the presence of the *alç* allele of the *nor* gene (Casals *et al.*, 2012). It was suggested then, that this gene might have been introgressed by spontaneous crossings in different genetic backgrounds and that the selection for long term conservation by farmers would have led to the development of long term conservation variants with different shapes or colors. In the same study an 18.07% of polymorphic loci was obtained using AFLP markers, a high value in comparison with previous AFLP studies. In the present work, a much higher value has been obtained (0.72), though it should be considered that the markers had been previously selected for their polymorphism. Nevertheless, in this landrace we found the highest value for polymorphic loci, Nei’s genetic diversity and one of the highest mean genetic distance, confirming its high variability.

In the case of the landraces “Rosa” or “Gordo rojo” their high genetic diversity might be related with the ambiguous denomination of the landrace which makes reference to the color (*rosa* means pink and *rojo* means red) or size (*gordo* means large) of the fruits. As previously stated for the “Moruno” landrace, this generalization in the denomination would enable populations of distinct origin (geographical and phylogenetic) to share the same name. Comparing these results with other landraces with a specific designation, Spanish tomato landraces could be differentiated in two groups. Some of them, might show a relatively high morpho-agronomical diversity, but a common molecular background (as in the case of “Valenciano”, “Muchamiel”, “Flor de baladre” or “Cuarenteno”), while others, with ambiguous designations referring external appearance (“Rosa”, “Gordo rojo”, “De pera”), would show both high levels of morpho-agronomical and molecular variation. In the last case it would be extremely complicated to decide which should be considered the true ideotype of the landrace. For this purpose, the use of the SNP markers used in this work applied separately to a higher number of populations of each landrace would be a useful tool to complete this task.

Apart from the ability to differentiate tomato landraces, the set of SNP markers used in this work has shown two interesting characteristics in the analysis of molecular variation of tomato landraces. In the first place, the bootstrap values obtained in the cluster analysis with SNP data were higher than those previously reported with other markers in similar materials. For example, in the AFLP analysis in the study by Garcia-Martinez *et al.* (2006) a 37% of the nodes were supported with bootstrap values higher than 50% in the SSR analysis and 32% and in the analysis performed by Cebolla-Cornejo *et al.* (2013a) with AFLPs even lower bootstrap values were obtained.

Additionally, the use of this set of SNPs in the molecular characterization of these landraces also generated an unexpected result. A moderate correlation between molecular and morpho-agronomical distance/similarity matrices was obtained, while previous attempts with AFLP data failed to identify significant correlations (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a). No relation had been previously observed in Greek landraces (Terzopoulos and Bebeli, 2008) nor in the Italian “A pera Abbruzzese” landrace (Mazzucato *et al.*, 2010). Indeed, these correlations are unexpected in a species with very low genetic diversity and in which key traits involved in landrace recognition such as fruit size, external color and shape are controlled by few genes (Tanksley, 2004; Brewer *et al.*, 2007; Cebolla-Cornejo *et al.* 2013b). In fact, this situation justifies the aggrupation observed among a population of the cherry type “Centenares” and a large pinkish “Rosa” population.

Conclusions

The high diversity present in the Spanish tomato landraces has been confirmed in the agronomic characterization. Despite showing some general characteristics, a high degree of variation is observed within population. The heterozygosity detected in some populations, indicates that spontaneous crossings might be one of the main forces generating variation, together with differential selections performed by farmers and adaptation to local agroclimatic conditions. The set of SNP markers developed for this work have proved to be an efficient tool for the molecular characterization of tomato landraces. Nevertheless, the results must be carefully considered. The low genetic diversity present in tomato, and the simple genetic control of key traits defining landraces imply that the results obtained with different sets of populations or landraces or with different markers might be different. Nonetheless, in this case specific SNP marker combinations have been identify for the genetic fingerprinting of Spanish tomato landraces, a required step to defend the quality markets associated with these varieties, which represent their only alternative for *in situ* conservation.

Acknowledgements

The funds for development of this research were provided by Fundación de la Comunidad Valenciana Para la Investigación Agroalimentaria (AGROALIMED). Carles Cortes-Olmos thanks Universitat Politècnica de València for the funding of a PhD grant.

References

- Alonso, A., Vázquez-Araújo, L., García-Martínez, S., Ruiz, J.J., Carbonell-Barrachina, Á.A.** 2009. Volatile compounds of traditional and virus-resistant breeding lines of Muchamiel tomatoes. *Eur Food Res Technol.* 230(2): 315-323.
- Archak, S., Karihaloo, J.L., Jain, A.** 2002. RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars. *CurrSci.* 82(9): 1139-1143.
- Blanca, J.M., Pascual, L., Ziarsolo, P., Nuez, F., Cañizares, J.** 2011. Ngs_backbone: a pipeline for read cleaning, mapping and SNP calling using Next Generation Sequence. *BMC genomics.* 12(1): 285.
- Blanca, J.M., Cañizares, J., Cordero, L., Pascual, L., Diez, M.J., Nuez, F.** 2012. Variation revealed by SNP genotyping and morphology provides insight into the origin of the tomato. *PloS one.* 7(10): e48198.
- Botstein, D., White, R.L., Skalnick, M.H., Davies, R.W.** 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- Brewer, M.T., Moyseenko, J.B., Monforte, A.J., van der Knaap, E.** 2007. Morphological variation in tomato: a comprehensive study of quantitative trait loci controlling fruit shape and development. *J Exp Bot.* 58(6): 1339-1349.
- Bruhn, C.M., Feldman, N., Garlitz, C., Harwood, J., Ivans, E., Marshall, M., Riley, A., Thurber, D., Williamson, E.** 1991. Consumer perceptions of quality : apricots, cantaloupes, peaches, pears, strawberries, and tomatoes. *J Food Qual.* 14: 187-195.
- Brugarolas, M., Martínez-Carrasco, L., Martínez-Poveda, A., Ruiz, J.J.** 2009. A competitive strategy for vegetable products: traditional varieties of tomato in the local market. *Span J Agric Research.* 7(2): 294-304.
- Buntjer, J.B.** 2001. PhylTools; Phylogenetic Computer Tools V.1.32. Wageningen University and Research Centre, The Netherlands.
- Caramante, M., Rao, R., Monti, L.M., Corrado, G.** 2009. Discrimination of `San Marzano´ accessions: A comparison of minisatellite, CAPS and SSR markers in relation to morphological traits. *SciHortic.* 120: 560-564.
- Carelli, B.P., Gerald, L.T.S., Grazziotin, F.G., Echeverrigaray, S.** 2006. Genetic diversity among Brazilian cultivars and landraces of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. revealed by RAPD markers. *Genet Resour Crop Evol.* 53: 395-400.
- 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. *SciHort.* 130: 78-84.
- Casals, J., Pascual, L., Cañizares, J., Cebolla-Cornejo, J., Casañas, F., Nuez, F.** 2012. Genetic basis of long shelf life and variability into Penjar tomato. *Genet Resour Crop Evol.* 59(2): 219-229.

- Cebolla-Cornejo, J., Soler, S., Nuez, F.** 2007. Genetic erosion of traditional varieties of vegetable crops in Europe: tomato cultivation in Valencia (Spain) as a case Study. *Int J Plant Prod.* 1: 113-128.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F.** 2013a. Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *SciHortic.* 162: 150-164.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F.** 2013b. Selection of tomato rich in nutritional terpenes. In: Ramawat KG, Mérillon JM (eds) *Natural Products*, Springer, Heidelberg, pp. 2853-2881.
- Chen, J., Wang, H., Shen, H., Chai, M., Li, J., Qi, M., Yang, W.** 2009. Genetic variation in tomato populations from four breeding programs revealed by single nucleotide polymorphism and simple sequence repeat markers. *SciHortic.* 122(1): 6-16.
- Coley, D., Howard, M., Winter, M.** 2009. Local food, food miles and carbon emissions: A comparison of farm shop and mass distribution approaches. *Food Policy.* 34(2): 150-155.
- Cortés-Olmos, C., Leiva-Brondo, M., Roselló, J., Raigón, M.D., Cebolla-Cornejo, J.** 2014. The role of traditional varieties of tomato as sources of functional compounds. *J Sci Food Agric.* doi: 10.1002/jsfa.6629.
- Dellaporta, S.L., Wood, J., Hicks, J.B.** 1983. A plant DNA minipreparation: version II. *Plant MolBiol Rep1.* (4): 19-21.
- Dice, L.R.** 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecol.* 26(3): 297-302.
- Dondarini, R.** 2010. Storia e arte: Aspettistorici. In: Angelini R (ed) *Ilpomodoro*. Art ServiziEditoriali, Bologna, pp. 19-45.
- Ercolano, M.R., Carli, P., Soria, A., Cascone, A., Fogliano, V., Frusciante, L., Barone, A.** 2008. Biochemical, sensorial and genomic profiling of traditional Italian tomato varieties. *Euphytica.* 164(2): 571-582.
- Felsenstein, J.** 2004. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Frary, A., Xu, Y., Liu, J., Mitchell, S., Tedeschi, E., Tanksley, S.D.** 2005. Development of a set of PCR-based anchor markers encompassing the tomato genome and evaluation of their usefulness for genetics and breeding experiments. *Theor Appl Genet.* 111: 291-312.
- García-Gusano, M., Garcia-Martinez, S., Ruiz, J.J.** 2004. Caracterización de variedades de tomate mediante marcadores SNP. *Actas de Horticultura.* 41: 123-126.
- Garcia-Martinez, S., Andreani, L., Garcia-Gusano, M., Geuna, F., Ruiz, J.J.** 2006. Evaluation of amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm fingerprinting: utility for grouping closely related traditional cultivars. *Genome.* 49: 648-656.

- García-Martínez, S., Corrado, G., Ruiz, J.J., Rao, R.** 2013. Diversity and structure of a sample of traditional Italian and Spanish tomato accessions. *Genet Resour Crop Evol.* 60(2): 789-798.
- Gundry, C.N., Vandersteen, J.G., Reed, G.H., Pryor, R.J., Chen, J., Wittwer, C.T.** 2003. Amplicon melting analysis with labeled primers: a closed-tube method for differentiating homozygotes and heterozygotes. *ClinChem.* 49(3): 396-406.
- IPGRI, International Plant Genetic Resources Institute.** 1997. Descriptors for tomato (*Lycopersicon* spp.). IPGRI (Bioversity Int.), Rome.
- Krzanowski, W.J.** 2000. Principles of multivariate analysis: a user's perspective. Oxford University Press, Oxford.
- Lammerts van Bueren, E.T., Jones, S.S., Tamm, L., Murphy, K.M., Myers, J.R., Leifert, C., Messmer, M.M.** 2011. The need to breed crop varieties suitable for organic farming, using wheat, tomato and broccoli as examples: A review. *NJAS-Wageningen J Life Sci.* 58(3): 193-205.
- Lesley, J.W.** 1924. Cross pollination of tomatoes. Varietal differences in amount of natural cross-pollination important factor in selection. *J. Heredity.* 15(5): 233-235.
- Levy, A., Rabinowitch, H.D., Kedar, N.** 1978. Morphological and physiological characters affecting flower drop and fruit set of tomatoes at high temperatures. *Euphytica.* 27(1): 211-218.
- Maul, F., Sargent, S.A., Balaban, M.O., Baldwin, E.A., Huber, D.J., Sims, C.A.** 1998. Aroma volatile profiles from ripe tomatoes are influenced by physiological maturity at harvest: an application for electronic nose technology. *J Am SocHortSci.* 123(6): 1094-1101.
- Mazzucato, A., Papa, R., Bitocchi, E., Mosconi, P., Nanni, L., Negri, V., Picarella, M.E., Siligato, F., Soressi, G.P., Tiranti, B., Veronesi, F.** 2008. Genetic diversity, structure and marker-trait associations in a collection of Italian tomato (*Solanumlycopersicum* L.) landraces. *Theor Appl Genet.* 116: 657-669.
- Mazzucato, A., Ficcadenti, N., Caioni, M., Mosconi, P., Piccinini, E., Sanampudi, V.R.R., Sestili, S., Ferrari, V.** 2010. Genetic diversity and distinctiveness in tomato (*Solanumlycopersicum* L.) landraces: the Italian case study of 'A peraAbruzzese'. *SciHortic.* 125: 55-62.
- McGlasson, W.B., Last, J.H., Shaw, K.J., Meldrum, S.K.** 1987. Influence of the non-ripening mutants *rin* and *nor* or the aroma of tomato fruit. *HortScience.* 2-2(4): 632-634.
- Miller, J.C., Tanksley, S.D.** 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor Appl Genet.* 80: 437-448.
- Nei, M.** 1972. Genetic distance between populations. *Am Nat.* 106: 283-292.
- Nei, M.** 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *ProcNatlAcadSci.* 70(12): 3321-3323.

- Panthee, D.R., Labate, J.A., McGrath, M.T., Breksa III, A.P., Robertson, L.D.** 2013. Genotype and environmental interaction for fruit quality traits in vintage tomato varieties. *Euphytica*. 193(2): 169-182.
- Park, Y.H., West, M.A.L., St Clair, D.A.** 2004. Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome*. 47: 510-518.
- Rao, R., Corrado, G., Bianchi, M., Di Mauro, A.** 2006. (GATA)₄ DNA fingerprinting identifies morphologically characterized 'San Marzano' tomato plants. *Plant Breed*. 125: 173-176.
- Rick, C.M., Chetelat, R.T.** 1995. Utilization of related wild species for tomato improvement. *Acta Horticulturae*. 412: 21-38.
- Rick, C.M., Fobes, J.F.** 1975. Allozyme Variation in the Cultivated Tomato and Closely Related Species. *Bull Torrey Bot Club*. 102: 376-384.
- Rozen, S., Skaletsky, H.J.** 2000. Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. In: Krawetz S, Misener S (Eds.). pp. 365-386.
- Ruiz, J.J., García-Martínez, S., Picó, B., Gao, M., Quiros, C.F.** 2005. Genetic variability and relationship of closely related Spanish traditional cultivars of tomato as detected by SRAP and SSR markers. *J Am Soc HortSci*. 130(1): 88-94.
- Sabatini, E., Rotino, G.L., Voltattorni, S., Acciarri, N.** 2006. A novel CAPS marker derived from the Ovate gene in tomato (*L. esculentum* Mill.) is useful to distinguish two Italian ecotypes and to recover pear shape in marker assisted selection. *Eur J HortSci*. 71: 193-198.
- Sim, S.C., Robbins, M.D., Chilcott, C., Zhu, T., Francis, D.M.** 2009. Oligonucleotide array discovery of polymorphisms in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) reveals patterns of SNP variation associated with breeding. *Bmc Genomics*. 10(1): 466.
- Tanksley, S.D.** 2004. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *Plant Cell Online*. 16(S1): S181-S189.
- Tedeschi, T., Calabretta, A., Bencivenni, M., Manicardi, A., Corrado, G., Caramante, M., Corradini, R., Rao, R., Sforza, S., Marchelli, R.** 2011. A PNA microarray for tomato genotyping. *Mol BioSystems*. 7: 1902-1907.
- Terzopoulos, P.J., Bebeli, P.J.** 2008. DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *SciHortic*. 116: 354-361.
- Terzopoulos, P.J., Bebeli, P.J.** 2010. Phenotypic diversity in Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *SciHortic*. 126: 138-144.
- Villand, J., Skroch, P.W., Lai, T., Hanson, P., Kuo, C.G., Nienhuis, J.** 1998. Genetic variation among tomato accessions from primary and secondary centers of diversity. *Crop Sci*. 38: 1339-1347.
- Williams, C.E., St. Clair, D.A.** 1993. Phenetic relationships and levels of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified

polymorphic DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon esculentum*. *Genome*. 36: 619-630.

Yeh, F.C., Yang, R.C., Boyle, T., Ye, Z.H., Mao, J.X. 1999. POPGENE, version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada.

Yi, S.S., Jatoi, S.A., Fujimura, T., Yamanaka, S., Watanabe, J., Watanabe, K.N. 2008. Potential loss of unique genetic diversity in tomato landraces by genetic colonization of modern cultivars at a non-center of origin. *Plant Breed.* 127: 189-196.

Zeven, A.C. 2002. Traditional maintenance breeding of landraces: 2. Practical and theoretical considerations on maintenance of variation of landraces by farmers and gardeners. *Euphytica*. 123(2): 147-158.

7. DISCUSIÓN GENERAL

7. DISCUSIÓN GENERAL

El tomate es una de las especies hortícolas de mayor valor económico en el mercado agrícola mundial. Como ejemplo, en Estados Unidos, la producción de tomate en el comercio de hortalizas frescas representa casi el 15% del valor económico total y más del 50% en el comercio de hortalizas procesadas (Robertson y Labate, 2007). A la par que el valor de la producción sigue el valor de insumos básicos como el de la semilla, que en el caso del tomate representa el 11% del comercio de semilla de hortalizas a nivel mundial (Kapur, 2013). No es por tanto extraño el interés que genera para las casas de semillas el poder controlar una parte tan suculenta de las ventas mundiales.

En este contexto, el acervo genético disponible para el desarrollo de nuevas variedades tiene un valor incalculable. Bien es cierto que la variación presente en la especie cultivada supuso el material básico empleado en los programas de mejora genética hasta la primera mitad del siglo XX. Pero desde que en los años 30 se iniciara el aprovechamiento de las especies silvestres relacionadas (Rick, 1986), la mayor parte del germoplasma empleado en el desarrollo de nuevas variedades ha sido el silvestre (Rick y Chetelat, 1995). De alguna forma, parece que las variedades tradicionales de tomate hayan quedado relegadas desde entonces a un papel secundario en los programas de mejora.

Aunque el proceso de erosión genética ha reducido notablemente la diversidad generada a lo largo de siglos de cultivo, en el caso del tomate todavía es posible encontrar algunas variedades tradicionales de tomate en cultivo que no han sido desplazadas por variedades híbridas mejoradas. Éstas subsisten gracias al aprecio de los consumidores (INIA, 1995). Esta situación se entiende considerando la destacable pérdida de sabor observada por los consumidores desde finales del siglo XX en las variedades mejoradas (Kader *et al.*, 1977; Bruhn *et al.*, 1991; Janse y Schols, 1995; Decoene, 1995; Ratanachinakorn *et al.*, 1997). En este contexto, los consumidores pueden llegar a pagar hasta 4,7 veces mayor precio por las variedades tradicionales, que por las variedades modernas. De esta forma se compensa la menor producción de estos materiales y el mayor riesgo que corre el agricultor al no contar con genes de resistencia a enfermedades.

Esta escenario, lógicamente ha motivado el desarrollo de un creciente interés por distintos colectivos. Por un lado de agricultores, que considerando el aumento de los costes de producción y el estancamiento de los precios de venta (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007) se ven incapaces de competir con grandes productores, que pueden minimizar costes deslocalizando o mecanizando la producción. Así, estos agricultores verían en las variedades tradicionales y en los mercados de calidad, una alternativa razonable para continuar su actividad.

Por otro lado, algunos agricultores verían la posibilidad de alcanzar el *premium* de precio de estas variedades tradicionales tratando de introducir en el mercado variedades con una morfología exterior similar, pero con las características agronómicas de las variedades modernas. Esta situación no se ciñe únicamente al caso de las variedades tradicionales, y se amplía en realidad a cualquier caso de éxito comercial. Por ejemplo, el excelente sabor de los tomates “raf”, fruto de la utilización de una variedad obsoleta en condiciones de salinidad, genera diferenciales de precio de hasta 4 veces (Flores *et al.*, 2009). Esto ha dado lugar a la utilización de variedades híbridas semejantes en morfología y cultivadas

en condiciones convencionales que, lógicamente, no satisfacen al consumidor y perjudican al propio mercado de calidad.

Además de los propios agricultores, entre los mejoradores también ha aumentado el interés por los materiales tradicionales. Durante la segunda mitad del siglo XX, el hincapié realizado en los procesos de selección sobre la producción, la resistencia a enfermedades y la introgresión de fondo genético silvestre y el desarrollo de “larga vida”, han contribuido sin duda a la merma de sabor de muchas de las variedades modernas (ver introducción). El creciente interés del consumidor, y por tanto también de los comercializadores, por productos de mejor sabor ha acabado por despertar la necesidad de atender esta nueva demanda, y por tanto, de prestar mayor atención a los parámetros de calidad interna. Así, el papel de las variedades tradicionales de tomate como un recurso más para ser empleado como fuente de variación en programas de mejora, ha vuelto a despertar un siglo después del inicio de los programas de mejora genética modernos.

En esta situación de renovado interés por parte de consumidores, agricultores, comercializadores y casas de semillas, desde mediados de la primera década del siglo XXI se han sucedido estudios encaminados a conocer las características de las variedades tradicionales de tomate. Destacan entre otros muchos los trabajos realizados con materiales españoles (Ruiz *et al.*, 2005a; García-Martínez *et al.*, 2006; Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007; Casals *et al.*, 2011a y 2011b; Cebolla-Cornejo *et al.*, 2011; Casals *et al.*, 2012; Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a; García-Martínez *et al.*, 2013; Bota *et al.*, 2014...), italianos (Andreakis *et al.*, 2004; Ercolano *et al.*, 2008; Mazzucato *et al.*, 2008, 2010; García-Martínez *et al.*, 2013; Sardaro *et al.*, 2013; Corrado *et al.*, 2013, 2014...) y griegos (Terzopoulos y Bebeli, 2008, 2010...).

En estos trabajos se abordan fundamentalmente dos aspectos básicos: la descripción morfológica de estas variedades y la diversidad genética presente en ellas. Otros aspectos como la calidad organoléptica han recibido menos atención y pocas veces se ha evaluado la calidad funcional de los materiales. Desde el punto de vista del material evaluado, la mayor parte de los estudios se basan o en el estudio en mayor profundidad de una única variedad, o en el estudio de unas pocas variedades pero incluyendo pocas poblaciones de cada una de ellas.

La información aportada es de gran interés, ya que nos permite entender cómo se estructuran las variedades tradicionales de tomate y, de esta forma, ayuda a optimizar los procesos de conservación y utilización de estos valiosos recursos fitogenéticos. Por otra parte, facilitan el establecimiento de cuáles son los perfiles de calidad a perseguir en programas de mejora encaminados a recuperar la calidad organoléptica. Con lo cual, sería interesante poder contar con estudios más complejos que abordaran el uso conjunto de mayor diversidad de materiales.

Bajo estas circunstancias se enmarca la presente tesis doctoral, que ha tratado de abordar el análisis de la variación morfoagronómica, organoléptica, funcional y genética, empleando un amplio abanico de variedades tradicionales españolas representadas por un número importante de poblaciones de cada una.

Una de las primeras series de preguntas a las que se ha tratado de responder en los diferentes trabajos que la conforman es: ¿cómo es una variedad tradicional?, ¿se trata de una unidad claramente reconocible y uniforme? Para responde a estas preguntas es

necesario estudiar la variación presente entre las distintas poblaciones (o selecciones procedentes de los agricultores) que configuran la variedad, así como dentro de cada población.

Popularmente a las variedades tradicionales se les ha considerado variedades población (Cubero, 2002), ya que se encuentran constituidas por mezclas de genotipos. Esta composición supone la existencia de una destacable heterogeneidad, que se manifestaría en un amplio gradiente de variación incluso entre poblaciones de una misma variedad.

La variación presente en las variedades tradicionales debería ser por tanto considerable, situación que contrasta con la de las variedades comerciales. En estas últimas se establece una relación unívoca entre las características morfo-agronómicas establecidas en el análisis técnico previo a su registro (distinción, homogeneidad, estabilidad) y la denominación varietal. Una variedad comercial concreta ha sido obtenida por un único seleccionador, que se ha preocupado de fijar las características de la misma para evitar la segregación. Se trata por tanto de una única población. Por el contrario, una variedad tradicional no es un ente único, ya que es mantenida por tantos seleccionadores como agricultores la cultivan. Por tanto, cabe hablar de diferencias entre poblaciones de la misma variedad, ya que los procesos de selección en cada población son distintos.

Por otro lado, si bien dentro de un lote de semillas de variedades comerciales no esperamos variación, en el caso de las variedades tradicionales se espera encontrar mezclas de genotipos. De hecho, la estructura de las variedades tradicionales hace precisamente que se amplíen los límites de variación detectados en el análisis técnico (homogeneidad y estabilidad) durante su registro como variedades de conservación (Bocci, 2009), que normalmente se hace a partir de una única población representativa de la variedad.

En este contexto, en el desarrollo de la tesis se ha podido comprobar que la variación presente dentro de cada variedad tradicional a nivel morfo-agronómico es muy elevada, tanto a nivel intra-poblacional como inter-poblacional. El origen de la variación intra-poblacional se debería al método de selección de la semilla para el ciclo siguiente, que se obtiene mezclando la descendencia de distintos individuos, y que por tanto perpetúa la variación. Ya en estudios anteriores se comprobó que, aún hoy en día, se mantienen métodos de selección por parte de los agricultores basados en la creencia de una transmisión de fruto a semilla, de forma que a partir de frutos con la mejores características procedentes de distintas plantas, se esperará obtener descendencias similares independientemente de la variación presente entre plantas (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007).

Obviamente, además de la posible mezcla de genotipos, la variación intra-poblacional puede deberse a efectos medioambientales. Esta componente no es nada despreciable. De hecho, al analizar la variación en el contenido en compuestos relacionados con la calidad organoléptica o funcional, se han observado niveles de variación en las variedades híbridas empleadas como control similares a los observados en los materiales tradicionales. A pesar de la posible existencia de interacción genotipo-ambiente, parece evidente que el micro-ambiente estaría jugando un papel más importante de lo esperado cuando se emplean parcelas de cultivo aparentemente uniformes con sistemas de cultivo basados en la fertirrigación.

En el caso de la variación interpoblacional, su origen dependería de más factores. En primer lugar, cada agricultor realiza una selección independiente y los criterios de selección pueden ser distintos. Se añade que, a pesar de contar con un cultivo más o menos localizado, las condiciones agroclimáticas de cada agricultor pueden variar. Sin duda, ambos efectos contribuyen a generar diversidad entre poblaciones. A pesar de esta evolución diferencial, algunos caracteres deberían priorizarse en selección, puesto que las variedades tradicionales suelen ser reconocibles por unos rasgos característicos. Sería previsible que precisamente en estos rasgos que definen la variedad, la variación fuera menor, pero hemos podido constatar que esto no siempre es así.

Además de la selección y adaptación, las variedades tradicionales también se pueden ver afectadas por la migración. Por un lado, existe un más o menos frecuente intercambio de semillas entre agricultores que no sólo se da en el caso las variedades tradicionales españolas de tomate (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2007), sino que se ha sugerido como factor generador variación en variedades griegas (Terzopoulos y Bebeli, 2010). Este intercambio de semillas también se da en otros cultivos, y muchas veces va asociado a la idea de que la semilla degenera tras varias generaciones de cultivo seguidas (Zeven, 1999). En algunas ocasiones, la semilla de distinta procedencia podía mezclarse, dando lugar a la identificación de sub-poblaciones claramente distinguibles dentro de una misma población o selección de agricultor.

Por otro lado, a pesar de que el tomate es una especie autógama, se han constatado porcentajes de polinización cruzada que oscilan entre el 2 y el 4% en condiciones de cultivo normales, pero que podrían aumentar en determinados genotipos o en condiciones de elevada temperatura que tienden a pronunciar la ejerción del estilo (Lesley, 1924; Levy *et al.*, 1978, Dorais *et al.*, 2001). En estas condiciones, el cultivo de distintas poblaciones o subpoblaciones, o incluso variedades en un mismo huerto, podría dar lugar a descendencias segregantes como las encontradas en esta tesis. Unas descendencias que en principio se caracterizarían por un gradiente continuo de variación. Tras uno de estos cruces espontáneos sería previsible que el agricultor ejerciera una elevada presión de selección sobre los caracteres distintivos de la variedad para tratar de recuperarla, pero la variación subyacente ya se habría generado.

En ocasiones, tras un cruce espontáneo, en vez de encontrar un gradiente continuo de variación se podría obtener sub-poblaciones diferenciadas. Sería el caso de cruces como los que se podrían haber dado entre la variedad “Rosa” y “Gordo rojo”, que fundamentalmente presentan una morfología similar y se diferencian en el color de la piel (amarilla o incolora) dando lugar a color exterior distinto (rojo o rosado). En este caso, dado que el carácter está controlado por un único gen: *y yellow*, (Ballester *et al.*, 2010), el cruce entre ambas variedades generaría aparentemente dos subpoblaciones diferenciadas que podrían confundirse con mezclas de semillas de las dos variedades.

El cruce espontáneo y la presión de selección del agricultor, ya ha sido propuesto como la forma de explicar la gran variabilidad morfológica presente en la variedad “De colgar” (sinónimo de “De penjar”). En este caso, el carácter distintivo de la variedad es la larga vida postcosecha y está controlado por el alelo *alcobaça, alc*, del gen *non-ripening, nor* (Casals *et al.*, 2012). El cruce espontáneo entre una población “De colgar” y una población de otra variedad generaría segregantes, entre los que el agricultor aplicaría

presión de selección sobre el carácter de conservación postcosecha, resultando en distintos morfotipos con el alelo *alc* fijado y de tamaño más bien reducido (ya que este carácter contribuye a maximizar la larga vida).

Mazzucato *et al.* (2010) también propusieron la existencia de cruces entre las variedades “A pera Abruzzese” y “Cuore di bue di Albenga” y posterior selección para explicar la presencia de la morfología típica de “Cuore di bue di Albenga” entre el germoplasma de “A pera Abruzzese”.

En conjunto, la selección diferencial del agricultor, la adaptación a las condiciones agroclimáticas locales, la mezcla de semillas de distintas poblaciones, o el cruce espontáneo entre ellas, acabaría generando una considerable variación entre poblaciones de la misma variedad.

¿Cómo se trasladarían todas estas circunstancias a la variación observada en las variedades tradicionales estudiadas? En primer lugar, a nivel morfológico, la variación dentro de variedad es considerable para la mayor parte de variedades estudiadas. Sólo en variedades muy diferenciadas es posible encontrar agrupaciones mucho más estables. Sería el caso de la variedad pimiento. La forma alargada de la variedad es completamente distinta a la de cualquier otro material. A pesar de existir cierta variación interpoblacional, el espectro de variación de la variedad no se solapa con ninguna otra.

Existen otros casos en los que la morfología de la variedad está más o menos diferenciada del resto de variedades. Sería el caso de las variedades “De pera” o “De la Pera”, que con formas alargadas se distinguen bastante bien del resto de variedades, y en las que a pesar de que la variación interpoblacional está bastante contenida, lo cierto es que la distribución de las entradas en el ACP se solapaba completamente en la componente principal 1 y parcialmente en la 2.

Para el resto de morfologías, tipo redondo o achatado en distinto grado, con diversos niveles de asurcado y diferentes tamaños, el espectro de variación de cada variedad se acaba solapando con el de otra similar. Aunque se pueda observar cierto grado de agrupamiento entre las poblaciones de la misma variedad, en muchos casos la variación interpoblacional es considerable. Este sería el caso de variedades como “Valenciano”, “Rosa”, “Gordo Rojo”, “Muchamiel”, “Cuarenteno”. En las variedades “Gordo rojo” y “Rosa”, un nivel especialmente elevado de variación podría deberse al origen difuso de las mismas y su mayor amplitud de ámbito de cultivo. El hecho de referirse el nombre local a una característica exterior, como el tamaño o el color, puede hacer que se incluyan como materiales de la misma variedad tradicional poblaciones de origen muy distinto.

En otros casos como “Valenciano”, la variación interpoblacional podría deberse a la existencia de subtipos. En esta variedad, el tipo “Masclat” corresponde a frutos de tamaño intermedio con forma acorazonada más alargada y apuntada, mientras que el tipo “Blanca” corresponde a frutos también acorazonados pero más achatados, menos apuntados y generalmente de mayor tamaño. Sin embargo, la variación en ambos grupos es tan elevada que sus rangos de variación acaban entremezclándose.

El elevado nivel de variación interpoblacional en variedades tradicionales de tomate también se ha determinado en variedades circunscritas a otras áreas de cultivo, donde diversas variedades tradicionales españolas (Casals *et al.*, 2011a y 2011b), italianas

(Ercolano *et al.*, 2008; Mazzucato *et al.*, 2010) y griegas (Terzopoulos y Bebeli, 2008, 2010) también muestran unos niveles de variación importantes. Incluso cuando se estudian poblaciones tradicionales pertenecientes a otros cultivos hortícolas, como se ha observado para la berenjena (Prohens *et al.*, 2004), el pepino (Esteras *et al.*, 2008), el melón (Escribano y Lázaro, 2009), la lechuga (Cebolla-Cornejo, 2008) o la calabaza (Ferriol *et al.*, 2004), se observan estructuras poblacionales similares.

Aunque la variación morfoagronómica se detecta en muchos caracteres, hay que tener en cuenta que no todos ellos tienen el mismo peso específico en el reconocimiento o definición de una variedad. Así, aquellos atributos relacionados con las características externas del fruto (el peso, la altura del fruto y la relación entre la anchura y la altura del fruto) parecen tener mayor peso en los análisis multivariante para explicar la separación de las diferentes variedades. Un resultado similar obtuvieron Casals *et al.* (2011a) en las variedades tradicionales catalanas de tomate “Montserrat” y “Pera Girona”, que se diferencian en apenas cuatro caracteres: peso, número de lóculos, longitud y ratio anchura/longitud.

Atendiendo a la experiencia conseguida en el trabajo con estos materiales, en “Cuarenteno” se valoraría la forma achata, el asurcado moderado y, sobre todo, la precocidad y la acumulación de cosecha en los primeros racimos. En Muchamiel, un mayor grado de achatado y asurcado y una coloración característica. En “De colgar, la aptitud para la conservación. En “Valenciano” tipo “Masclat”, el tamaño contenido, la presencia de rayas verdes verticales y el mayor grado de apuntamiento. En “valenciano tipo “Blanca”, la forma ligeramente acorazonada y el mayor tamaño. En “gordo rojo” y “Rosa”, el tamaño grande, la forma achatada y el color exterior rojo o rosado (según el caso). En “Pimiento”, la forma alargada, el color rojo intenso y la poca presencia de gel y semillas en los lóculos.

En definitiva, algunos caracteres han debido priorizarse en los continuos procesos de selección, especialmente aquellos reconocibles y preferidos por los consumidores. Y probablemente, éstos hayan sufrido una intensa presión de selección por parte de los agricultores para fijarlos. Por tanto, debería esperarse que estos caracteres mostraran un menor rango de variación, pero esto no siempre es así. Algunos caracteres como la relación entre la anchura y la altura del fruto, el grado de acostillado y el peso (muy relacionados con el aspecto externo del fruto), mostraron un elevado grado de variación tanto entre poblaciones como dentro de las mismas, lo cual dificulta en ocasiones la asignación de las poblaciones a los distintos tipos varietales.

La existencia de variantes distintas dentro de una misma variedad, así como de gradientes continuos de variación, complica enormemente el establecimiento de una relación inequívoca entre un morfotipo de fruto concreto y una determinada denominación varietal. Esta situación plantea un dilema serio a la hora de recuperar y conservar estas variedades: ¿deben conservarse todos los morfotipos encontrados, o cuál es el morfotipo que realmente se debe conservar?

Como ya se ha comentado, las variedades tradicionales se caracterizan por su heterogeneidad, estructura poblacional que por otra parte les confiere una elevada plasticidad frente a condiciones de estrés. Resulta evidente que el mantenimiento de esta heterogeneidad es fundamental para estas variedades, ya que la reducción de la variación

podría provocar consecuencias importantes de cara a su funcionamiento como sistemas homeostáticos. Sin embargo, la conservación de todas y cada una de las poblaciones existentes es muy costosa, lo cual obliga a cuestionarse: ¿qué materiales deberían conservarse? y ¿hasta cuándo sería conveniente seguir colectando y conservando para optimizar al máximo los recursos de los bancos de germoplasma? Además, la enorme diversidad observada provocada principalmente por los intercambios de semillas y las hibridaciones espontáneas no controladas, están desembocando en una degeneración varietal que debe frenarse. En este contexto, la selección y cribado de material parecería ser una solución adecuada, pero no obstante, presenta también una serie de conflictos o matices: ¿cuán intensa ha de ser la selección para que la reducción de la variación no afecte al comportamiento de las poblaciones?, ¿sobre qué caracteres debe aplicarse una mayor presión de selección?, o ¿qué morfotipo debe establecerse como ideotipo?

Lógicamente, el establecimiento de un ideotipo por cada tipo varietal resultaría necesario para poder abordar la problemática relacionada con la conservación y la selección de los materiales de manera más sencilla. Sin embargo, la enorme variación, así como la presencia de gradientes de variación continuos en muchos de los caracteres evaluados, hace tremendamente difícil su definición.

Más allá de los objetivos de conservación y selección, el establecimiento de ideotipos para las distintas variedades tradicionales podría resultar fundamental a la hora de registrar estos materiales como variedades de conservación. Actualmente, los niveles de variación detectados en el ensayo imposibilitan dicho registro en la Oficina Española de Variedades Vegetales, cuyos requisitos son demasiado estrictos en este aspecto. Así, la obtención de poblaciones más homogéneas y estables, se revela como una solución al problema y permitiría la inclusión de dichos materiales como variedades de conservación, consiguiendo a su vez legalizar su intercambio y comercio.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que cualquier selección de las poblaciones con el objetivo de homogeneizarlas podría perjudicar sensiblemente su integridad. Con lo cual, parece ser que la normativa oficial no se ajusta a la realidad varietal, o al menos en el caso de las variedades evaluadas de tomate. De hecho, los resultados iniciales del proyecto europeo *Farm Seed Opportunities* ya destacaron la desprotección de numerosas variedades población incapaces de cumplir los requisitos establecidos para las variedades de conservación (Chable *et al.*, 2009). De modo que sería necesario encontrar un punto de encuentro entre los requisitos exigidos por la Oficina Española de Variedades Vegetales, flexibilizándolos para el registro de variedades de conservación, y la enorme variación observada dentro de las variedades tradicionales, que en un contexto competitivo de algún modo debería reducirse.

Además, en la protección legal de las variedades tradicionales sigue existiendo un problema adicional, ya que en el Registro Español de Variedades Comerciales ya aparecen variedades registradas por casas de semillas con la denominación “Valenciano” o “Muchamiel”, con lo cual no podría registrarse ninguna variedad tradicional en el Registro de Variedades de Conservación con dicha denominación. A esta paradójica situación no debería haberse llegado si se hubiera entendido en la inscripción inicial del Registro de Variedades Comerciales, que dicha denominación no podría establecerse por ya existir en el estado del conocimiento.

El elevado grado de variación detectado entre poblaciones de la misma variedad y el solapamiento del espectro de variación entre distintas variedades, no sólo afecta a aspectos morfo-agronómicos, sino que también se observa para otros caracteres internos no fácilmente reconocibles, como el contenido en compuestos que contribuyen al valor funcional (carotenoides, vitamina C, polifenoles) e incluso para compuestos relacionados con la calidad organoléptica (azúcares y ácidos orgánicos). La considerable variabilidad detectada en aspectos relacionados con la calidad organoléptica hace que surja una nueva pregunta: ¿realmente las variedades tradicionales destacan objetivamente por su calidad organoléptica?

Como se ha comentado anteriormente, la supervivencia de las variedades tradicionales se basa en el aprecio de los consumidores hacia estos materiales, en los que reencuentran el verdadero sabor del tomate y por los que están dispuestos a pagar un mayor precio que compense su menor producción (Brugarolas *et al.*, 2009). Además, como ha pasado en otros cultivos, podría estar influyendo que los consumidores también valoraran la componente tradicional o de patrimonio que representan este tipo de variedades (Dinis *et al.*, 2011). Lógicamente, la compra recurrente de variedades tradicionales se debe basar en un estándar de calidad elevado en cada compra, pues de otra forma, la desconfianza del consumidor le llevaría a reducir el diferencial de precio que está dispuesto a pagar por estas variedades.

El estudio llevado a cabo por Sinesio *et al.* (2007), comparando el perfil sensorial de variedades tradicionales con variedades híbridas similares, puso de manifiesto las *a priori* mejores características de las primeras. Sin embargo, en este estudio no se evaluaron diferentes poblaciones de cada variedad. Ercolano *et al.* (2008) estudiaron la variación incluyendo dos ecotipos de cada variedad tradicional evaluada y encontraron alguna característica peculiar para alguna variedad, aunque en otros casos la variación en compuestos relacionados con aspectos sensoriales fue elevada.

Casals *et al.* (2011a) analizaron la variabilidad existente en las variedades tradicionales “Montserrat” y “Pera Girona”, en este caso empleando bastantes más poblaciones de cada variedad. En su estudio, ya apuntaron que si bien las variedades son reconocibles en base a determinados caracteres morfológicos, la variación existente en cuanto a sus atributos sensoriales realmente impedía definir un perfil típico para cada una. Además, propusieron que la presencia de cruces espontáneos seguidos por una fuerte presión de selección sobre los atributos externos más típicos de la variedad, conllevarían la existencia de perfiles sensoriales variables dentro de variedad.

Los resultados presentados en esta tesis, aunque son preliminares, parecen corroborar la existencia de un gran nivel de variación organoléptica, no sólo entre distintas variedades sino dentro de variedad. En línea con los resultados aportados por Casals *et al.* (2011a) y Cebolla-Cornejo *et al.* (2013a y 2013b), parece que los factores que introducen variación interpoblacional (mezcla de semillas, cruzamientos espontáneos, selección diferencial...) si bien se controlan en caracteres morfológicos exteriores típicos de la variedad, no llegan a reducir la variabilidad existente en aspectos relacionados con la calidad organoléptica. De hecho, en el estudio mencionado, el nivel de variación entre poblaciones de la misma variedad era similar al encontrado entre variedades. No obstante, sí que se podrían encontrar “tendencias generales” respecto al espectro de variación organoléptica de cada

variedad. En aquel caso, ya se observó que en general las poblaciones de “Muchamiel” tendían a presentar valores bajos de sólidos solubles, mientras que otras de tipo “Pimiento”, tendían a acumular altos niveles. Un comportamiento que también se comprueba cuando se analizan compuestos relacionados con la calidad organoléptica de forma individual.

La misma tendencia se ha observado en los resultados preliminares que se presentan en esta tesis. De forma adicional, se plantea que la variación dentro de población en las variedades tradicionales para los compuestos analizados, es similar a la de los híbridos empleados como control. Puesto que éstos son genéticamente uniformes, al igual que ocurría en el análisis de la variación morfo-agronómica, cabría pensar que existe un efecto muy pronunciado del micro ambiente, o por otra parte, de poca variación genotípica dentro de población. Por otro lado, la variación intrapoblacional en compuestos relacionados con la calidad organoléptica es inferior a la observada en cuanto a la calidad funcional. Esto podría deberse a que, o bien los primeros se ven menos influenciados por las variaciones micro ambientales, o bien que la gran variación de los segundos se debe a la utilización diferencial de los compuestos funcionales en el metabolismo de diferentes plantas por su capacidad antioxidante.

Llama la atención que una variedad tan diversa morfológicamente como “De colgar”, tienda a presentar mayor acumulación de distintos compuestos relacionados con la calidad organoléptica, en general, a pesar de existir gran variación. No obstante, habría que tener en cuenta que esta mayor concentración podría estar condicionada por el normalmente menor tamaño de estos materiales. Como ya se ha comentado, los agricultores ejercerían de forma indirecta una fuerte presión de selección hacia frutos más pequeños, ya que éstos presentan mejor conservación a largo plazo. Y por otra parte, la mayor concentración en compuestos relacionados con el sabor podría deberse a que en tomates de calibre pequeño, suelen encontrarse niveles más elevados en éstos, lo que explicaría la mayor aceptabilidad de los tomates tipo *cherry* (Jones, 1986; Hobson y Bedford, 1989; Baldwin *et al.*, 1998).

Hay que añadir que, aunque en esta tesis no se ha valorado la variación a nivel de aromas, estudios previos también han constatado la existencia de niveles elevados de variabilidad en el perfil aromático y su evolución en variedades tradicionales como “De colgar” (Casals *et al.*, 2011b). Aunque por otra parte, se han detectado diferencias en el perfil de compuestos volátiles de distintas variedades tradicionales (Ruiz *et al.*, 2005b; Carbonell-Barrachina *et al.*, 2006; Alonso *et al.*, 2009a) o que el efecto genotípico sería mucho más importante que el ambiental en la definición del perfil de cada material (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2011). No obstante, el número de poblaciones evaluadas dentro de cada variedad fue muy reducido en todos los estudios.

Si analizamos los perfiles de azúcares y ácidos obtenidos para distintas variedades tradicionales españolas con orígenes geográficos dispares, se puede observar que existe un amplio rango de variación en los perfiles de acumulación de compuestos relacionados con la calidad organoléptica. La gran variación detectada permite identificar materiales que podrían contar con un valor añadido como fuentes de variación en programas de mejora, al destacar por la acumulación de determinados compuestos. De hecho, estas poblaciones serían muy interesantes para desarrollar variedades “a la carta” que

destaquen por matices muy concretos. Es cierto que ahora mismo no existe un mercado especializado en este tipo de matices, pero no se pueden descartar intereses futuros, sobre todo en el marco de la alta cocina.

Por otro lado, al existir tanta variación, es difícil concluir que efectivamente las variedades tradicionales destaquen por un perfil concreto, ya que cada una dispondría de un perfil propio. Esta situación tampoco es extraña, ya que el consumo de estos materiales suele estar bastante localizado y, por tanto, bien los consumidores están habituados a un sabor concreto, o bien las variedades se han seleccionado para responder a las preferencias de esos consumidores. En este contexto, hay que tener en cuenta que la aceptabilidad o preferencia de los consumidores depende de muchos factores y es bastante subjetiva. Así, aunque en Europa se ha observado que las preferencias de los consumidores son bastante homogéneas entre países, dentro de cada país están segmentadas (Causse *et al.*, 2010).

Sin embargo, si bien en un análisis en el que se incluye una única población representativa de cada variedad parece claro que hay una diferenciación en el perfil de calidad, lo cierto es que cuando se incluyen varias poblaciones de distintas variedades, esas diferencias se empiezan a diluir.

Esta situación representa un problema importante, ya que cuando el consumidor identifica una variedad tradicional de su agrado, ya sea por la denominación en el mercado o por la identificación del aspecto exterior, lo cierto es que tiene unas expectativas generadas sobre cómo debe saber el tomate. Si a los posibles efectos ambientales (Petro-Turza, 1986; Cebolla-Cornejo *et al.*, 2011), añadimos que el sabor dependerá de la población precisa que se le esté ofreciendo, las posibilidades de romper la confianza del consumidor se multiplican. En este sentido, cabe preguntarse hasta qué punto deberían seleccionarse ideotipos que realmente respondan la expectativa del consumidor generando una relación unívoca entre aspecto externo y sabor. De esta forma, se ayudaría a reforzar la confianza del consumidor, afianzar el diferencial de precio de las variedades tradicionales y por ende, a consolidar los mercados de calidad.

Siguiendo con la idea de consolidar los mercados de calidad, surge una pregunta adicional: ¿es posible dar un valor añadido a las variedades tradicionales? Tratando de responder a esta pregunta y considerando las tendencias de mercado a valorar aspectos relacionados con la salud del consumidor, surgiría la siguiente: ¿destacan las variedades tradicionales por su valor funcional?

Desde hace algunas décadas, el creciente interés que muestran los consumidores hacia alimentos beneficiosos para la salud o capaces de prevenir determinadas dolencias y enfermedades (Granato *et al.*, 2010) ha permitido el establecimiento y desarrollo de mercados de calidad, especializados en la venta y distribución de alimentos con actividad funcionales. Aunque es cierto que los productos lácteos copan la mayor parte de este mercado, el uso de matrices no lácteas está recibiendo cada vez mayor atención (Sun-Waterhouse, 2011).

Teniendo en cuenta el elevado consumo de tomate a nivel mundial, y tratándose de uno de los cultivos más estudiados por su destacado carácter funcional, no resulta extraño que las empresas de semillas ya hayan vislumbrado el gran nicho de mercado que podrían ocupar variedades mejoradas de tomate que presenten un mayor contenido en compuestos

antioxidantes. De hecho, el interés por este tipo de materiales se remonta a la década de los 70. Desde entonces se han desarrollado cultivares comerciales con contenidos elevados en compuestos antioxidantes, como “*Double Rich*”, cuyos frutos duplican el contenido habitual de vitamina C (Watada *et al.*, 1976; Stevens y Rick, 1986); “*Caro Red*” y “*Caro Rich*”, con contenidos de β -caroteno 10 veces superiores al contenido detectado en variedades de tomate de color rojo (Tomes y Quackenbush, 1958; Tigchelaar y Tomes, 1974); cultivares “*og*”, que presentan incrementos de hasta el 30% en el contenido en licopeno (Vogel *et al.*, 2010); o los cultivares “*High Pigment*”, caracterizados por presentar un mayor contenido global de carotenoides (Cookson *et al.*, 2003). Pese a todo, problemas derivados de la aparición de diversos efectos pleiotrópicos indeseables han limitado su inclusión en el mercado y su éxito comercial. No obstante el interés por este tipo de materiales persiste (Frusciante *et al.*, 2007).

En este contexto, las variedades tradicionales han sido estudiadas con mayor o menor profundidad en cuanto a la variación morfo-agronómica, genética y organoléptica, pero poco se sabe del valor funcional de las mismas. No existen muchos estudios que se hayan centrado en el análisis del contenido en compuestos como la vitamina C, los carotenoides beta-caroteno y licopeno, los polifenoles, o en la capacidad antioxidante; y los que lo han hecho, normalmente se han referido a una o pocas variedades, o a un número limitado de poblaciones por variedad. Sería el caso de la variedad “*Corbarino*” en Italia (Scalfi *et al.*, 2000; Andreakis *et al.*, 2004) de accesiones colectadas en México (Mendez-Infante *et al.*, 2011) o de variedades larga vida tradicionales italianas (Siracusa *et al.*, 2013).

En el caso de las variedades tradicionales evaluadas en la presente tesis, la variación detectada tanto a nivel intrapoblacional como interpoblacional ha sido considerable. Como se ha comentado anteriormente, dentro de población, y comparando con los resultados obtenidos con los controles híbridos genéticamente uniformes, parecería que la mayor parte de la variación se debe más bien a efectos microambientales. Respecto a la variación interpoblacional, además de confirmar la baja integridad de las variedades tradicionales, los niveles detectados abren la posibilidad de identificar dentro de cada variedad, aquellos materiales que destaquen por su contenido en algún compuesto funcional o por su capacidad antioxidante.

De hecho, los niveles obtenidos de vitamina C, licopeno y beta caroteno, en algunas poblaciones llegan a ser elevados comparados incluso con líneas de élite desarrolladas en programas de mejora de la calidad funcional. Por el contrario, los contenidos en polifenoles totales encontrados son más bien intermedios.

Estas poblaciones podrían ser directamente empleadas en programas de mejora genética, con la ventaja de provenir de la propia especie cultivada. Por una parte, al contrario de lo que ocurre al emplear germoplasma silvestre, algo muy habitual en este tipo de caracteres (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a), no requeriría la eliminación del fondo genético silvestre no deseado. Por otra parte, algunos de los contenidos más interesantes se han detectado en materiales de calibre intermedio. De esta forma se descarta que la mayor acumulación se deba al menor tamaño de fruto (Davies y Hobson, 1981; Stevens *et al.*, 2007) y que por tanto, no se trate de una característica transferible a la mayor parte de las variedades comerciales actuales.

Pero además de por su valor como fuentes de variación, estos resultados pueden ser muy útiles para poder aprovechar las poblaciones *per se*. Sin duda, el poder añadir el marchamo de calidad funcional a determinadas variedades tradicionales, podría ayudar a afianzar el diferencial de precios frente a materiales convencionales. Incluso el valor añadido obtenido podría llegar a aumentarlo, como sucede en la comercialización de otros alimentos funcionales en los que se llega a obtener diferenciales de precio entre el 30% y el 50% (Menrad, 2003).

Si bien la existencia de nichos en mercados de calidad en los que se valoran las características de las variedades tradicionales, ha permitido alcanzar un diferencial de precio respecto a materiales convencionales de forma que se pueda compensar la menor producción de las primeras, lo cierto es que puede acabar representando un arma de doble filo.

Muchas de las valoraciones que hace el consumidor respecto a la calidad del tomate dependen del momento del consumo (como en el caso del sabor), pero otras dependen de realizar un “acto de fe”. Así, el consumidor nunca podrá valorar si realmente los frutos de la variedad que está consumiendo destacan por sus elevados contenidos en compuestos funcionales (Martínez-Carrasco *et al.*, 2012). En este sentido, al problema que se genera respecto a la relación entre la denominación varietal o el aspecto exterior que el consumidor observa en el momento de la compra y la experiencia organoléptica durante el consumo, se añade uno nuevo de difícil comprobación. En el primer caso, cuando el consumidor detecte varias veces que no existe tal relación entre apariencia y sabor, dejará de comprar, pero no tiene ninguna defensa respecto a la existencia o no de un valor funcional. Se trata por tanto de una cuestión de crédito o fiabilidad.

En este contexto hay varios aspectos que se deben tener en cuenta. El primero es que, aunque se ha observado que hay ciertas tendencias generales respecto al valor funcional en determinadas variedades tradicionales, lo cierto es que no todas las poblaciones de cada variedad destacan por este aspecto. El segundo es que es difícil que confluyan en un mismo material altos contenidos en todos los compuestos con valor funcional, y más aún que se dé a la vez la mejor calidad organoléptica posible, una morfología apropiada y un buen rendimiento agronómico. En este punto surgiría una pregunta que se tratará de responder más adelante: ¿sería conveniente tratar de combinar en un mismo material las mejores características encontradas dentro de una misma variedad tradicional? Por último, el tercer punto a considerar sería que aun disponiendo de genotipos muy favorables, habría que valorar el considerable efecto que el ambiente ejerce sobre la acumulación de los compuestos evaluados.

En definitiva, es necesario de alguna forma reforzar la credibilidad del consumidor respecto a las variedades tradicionales. A la variabilidad presente dentro de cada una de ellas y los posibles efectos ambientales se añade un problema frecuente en los canales de comercialización españoles, y es que una vez existe un diferencial de precio, surgen iniciativas interesadas en aprovecharlo para colocar materiales similares a las variedades tradicionales pero mejorados y con mayores producciones. Estos materiales, desde luego no responden a las expectativas del consumidor y minan su confianza en la variedad. Es por tanto necesario desarrollar sistemas de protección, lo que llevaría a una nueva pregunta ¿es posible diseñar un sistema de autenticación de una variedad tradicional?

Externamente podría intuirse que un determinado material en el mercado corresponde a una variedad tradicional. En primer lugar, estos materiales destacan por su baja uniformidad, entre otros aspectos. De hecho, dentro de una misma población el coeficiente de variación del peso de fruto puede ser bastante elevado (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a). Por otro, las variedades tradicionales suelen presentar cicatrices del pedicelo grandes, cierto nivel de agrietado radial y concéntrico, hombros verdes y, en algunos casos como en “Valenciano”, rayas verdes verticales. Estas características es prácticamente imposible encontrarlas en variedades comerciales mejoradas, ya que durante su desarrollo se ha primado la uniformidad del aspecto exterior.

De entre todas ellas, el hombro verde es una de las características más destacadas a la hora de identificar un material tradicional. La persistencia de los hombros puede causar decoloraciones en la etapa rojo maduro que pueden restar presencia al fruto, por lo que en cuanto se identificó la mutación *uniform ripening* (*u*) correspondiente a la ausencia de hombros verdes (Butler, 1952), su uso se extendió rápidamente entre todos los materiales comerciales. Sin embargo la expresión del alelo funcional de este gen durante el desarrollo del fruto influye sobre la fotosíntesis, y su anulación conduce a menores contenidos en fotoasimilados y carotenoides (Powell *et al.*, 2012). El hecho de que recientemente se haya destacado a este gen como una de las causas de la pérdida de sabor en los programas de mejora, puede llevar a la reincorporación de los hombros en los programas de mejora. Por otra parte, dotar a variedades mejoradas de hombros no sólo podría mejorar la calidad *per se*, sino que precisamente al parecerse más a las variedades tradicionales podría mejorar su percepción por parte del consumidor o incluso confundirlo, pensando que adquiere un material tradicional.

Teniendo en cuenta esta situación, es necesario desarrollar herramientas moleculares que, más allá de la apariencia exterior, nos permitan detectar casos de fraude en mercados de calidad. El problema más importante en este caso es la baja diversidad genética presente en tomate, que se explica por un efecto fundador, la autogamia y los procesos de selección (Rick, 1958; Rick y Fobes, 1975). La caracterización molecular con marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) y RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) ha confirmado la baja variabilidad presente en esta especie (Williams y St. Clair, 1993; Villand *et al.*, 1998; Archack *et al.*, 2002). No obstante, esta variabilidad es algo superior en las variedades modernas. El uso de germoplasma silvestre como fuente de variación en programas de mejora de los años 30 (Rick, 1986) y la identificación de genes clave en la comercialización de tomate en estos materiales (Hajjar y Hodgkin, 2007), sin duda ha contribuido a aumentar la diversidad genética. Así, cuando se comparan variedades actuales, tanto de consumo en fresco como procesado, respecto a variedades obsoletas o *vintage* y variedades tradicionales, el nivel de diversidad detectado en los primeros es mayor (Sim *et al.*, 2009). Aunque parezca paradójico, al mismo tiempo que las variedades modernas han ganado diversidad proveniente de especies silvestres, también han perdido diversidad respecto a las variedades más antiguas de la propia especie cultivada. Así, se ha comprobado que algunos alelos presentes en las segundas ya no aparecen en los materiales más modernos (Sim *et al.*, 2009).

No sólo el material vegetal puede condicionar los niveles de diversidad detectados, también depende del marcador elegido. En la especie humana ya se demostró que entre los marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) y SSR (*Simple Sequence*

Repeats), los marcadores SNP podían ser más informativos y dar lugar a una mejor inferencia de la estructura poblacional (Liu *et al.*, 2005). No obstante, en el caso del tomate, aunque con SSR parece que se pueda detectar mayor diversidad que con SNP, lo cierto es que ni el tipo de marcador ni su posición en un gen (intron o exón) parece afectar a las conclusiones derivadas respecto a al análisis poblacional (Sim *et al.*, 2011).

Entre los marcadores aplicados a la identificación varietal a lo largo de los últimos años se han incluido AFLPs, SSRs, STMSs y SNPs. Lógicamente los intentos más antiguos corresponden a los AFLP. Park *et al.* (2004) los aplicaron a la obtención de improntas únicas de cultivares de tomate (algunos cultivares de liberación anterior a los 70) obteniendo resultados positivos con combinaciones de 7 cebadores. Respecto a los SSR, He *et al.* (2003) identificaron marcadores polimórficos en tomate aptos para identificación varietal. Por otra parte, Bredemeijer *et al.* (2002) empleando 20 marcadores STMS (*Sequence-tagged microsatellite site*), construyeron una base de datos con el objeto de obtener improntas únicas de más de 500 variedades distintas de tomate, creando un instrumento de identificación muy eficiente. Aunque en el estudio mencionado se emplearon sólo variedades comerciales y líneas de mejora de casas comerciales de semillas, y la constitución genética de éstas puede diferir de la de las variedades tradicionales. En los últimos años, los avances y el abaratamiento de las técnicas moleculares ha favorecido la utilización de marcadores SNP, que parecen mostrar mayor nivel de polimorfismo que el encontrado con marcadores SSR (Chen *et al.*, 2009)

Considerando la menor diversidad genética presente en las variedades tradicionales, sería previsible que la dificultad de encontrar improntas únicas fuera mayor. En este sentido, el anterior intento de aplicar AFLPs a una colección similar de variedades tradicionales españolas fue infructuosa (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013a). No obstante, se han realizado otros intentos con mejores resultados. De hecho, García-Martínez *et al.* (2006) describieron la posibilidad de identificar improntas únicas de accesión empleando una combinación de marcadores SSR y AFLP, ya que con ambos tipos de marcadores por separado no pudieron hacerlo. Aunque ya entonces apuntaron la baja capacidad de discriminación de los AFLP comparada con los estudios de Park *et al.* (2004) y Tam *et al.* (2005). Por otra parte, Terzopoulos y Bebeli (2008), lograron identificar mediante el uso de ISSR hasta 27 morfotipos diferentes de variedades tradicionales, e incluso agrupar los morfotipos de la misma variedad. En este caso, incluso la diversidad detectada en las variedades tradicionales fue similar a la de materiales modernos (aunque el número de representantes de cada grupo fue considerablemente dispar). Por otro lado, Mazzucato *et al.* (2010) empleando marcadores SSR, si bien pudieron discernir la variedad “A pera Abruzesse” de “Canestrino di Lucca”, no pudieron diferenciar entre la primera y “Cuore di bue di Albenga”. En este caso concreto, anteriormente se había propuesto la utilización de un marcador CAPS para el gen *ovate* como medida de diferenciación entre estas dos variedades, aunque se detectó una línea de “A pera Abruzzese” con el alelo correspondiente a “Cuori di bue di Albenga” (Sabatini *et al.*, 2006).

Efectivamente, uno de los problemas que se encuentran a la hora de identificar genéticamente las variedades tradicionales está relacionado con la propia estructura poblacional de estos materiales. La existencia de una considerable variación morfológica, la posible presencia de cruzamientos espontáneos y el desarrollo de selecciones diferenciales, complica en gran medida el poder desarrollar una impronta que permita

identificar a cualquier población como propia de una variedad específica y perfectamente distinguible de cualquier otra. Sin duda, la cantidad de poblaciones de cada variedad incluidas en un estudio molecular y la cantidad de variedades evaluadas condiciona los resultados.

En el desarrollo de esta tesis se ha realizado la caracterización molecular de 14 variedades con 63 poblaciones distintas. De forma adicional, las poblaciones incluidas fueron seleccionadas de forma que representaran la variabilidad morfológica, agronómica y de calidad interna obtenida previamente. Incluso en estas condiciones, empleando marcadores SNP ha sido posible obtener improntas genéticas de todas las variedades evaluadas excepto de las variedades “De colgar” y “Rosa”. Teniendo en cuenta que ambas variedades pueden estar conformadas por diferentes fondos genéticos en los que se han introgresado genes concretos (*alç* en el caso de “De colgar” y probablemente el gen *y* en el de “Rosa”), tampoco extraña que no se hayan podido obtener improntas únicas. Tampoco sorprende que en el caso de la variedad “Gordo rojo” el número de marcadores requerido fuera mayor, ya que la denominación sólo hace referencia a una característica exterior baste común en huertos de autoconsumo de interior, por lo que se pueden incluir materiales de orígenes muy dispares.

Aunque es cierto que la definición de variedad según las leyes de comercialización y protección de las variedades vegetales no reconocen el genotipo como un medio de identificación varietal, sin duda el hecho de disponer de improntas genéticas puede ser un indicio razonable para detectar posibles casos de fraude en mercados de calidad. Por tanto, se abriría la posibilidad de tratar de consolidar este tipo de mercados.

Finalmente, respecto a la posibilidad de ofrecer a los agricultores alternativas rentables a través de la comercialización de variedades tradicionales en mercados de calidad, surge una pregunta final. Una vez comprobado que las variedades tradicionales presentan gran diversidad dentro de variedad para caracteres morfológicos, agronómicos, organolépticos y de calidad funcional, ¿sería interesante desarrollar materiales de élite dentro de variedad tradicional? Es decir, ¿sería conveniente desarrollar programas de mejora para ofrecer la combinación óptima de caracteres dentro de una misma variedad tradicional?

Como se ha comentado anteriormente, se trata sin duda de una pregunta complicada de responder, ya que al fin y al cabo, una vez desarrollada la mejora genética, ¿no dejarían los materiales de ser tradicionales? Por una parte se podría argumentar que, al realizar cruces complementarios entre materiales de la misma variedad, el fondo genético propio no se estaría alterando o “contaminando” con una fuente externa. Sin embargo, si precisamente uno de los principales valores de las variedades tradicionales es la propia existencia de variación, al desarrollar un material con características superiores ¿no se estaría propiciando la desaparición de la diversidad por sustitución?

Hasta el momento se han desarrollado intentos de introgresar genes de resistencia a enfermedades en la variedad tradicional “Muchamiel”, de forma que se reduzca el riesgo que representa cultivar en determinadas zonas materiales sin genes específicos de resistencia a virosis de especial gravedad. Este tipo de mejora basado en programas de retrocruzamiento, conlleva el riesgo de incorporar aspectos indeseables por ligamiento (Haggard *et al.*, 2013). Así, en casos como en las líneas mejoradas para incluir el gen Ty-1 de resistencia al complejo TYLCV, se ha comprobado que la introgresión desde la

especie silvestre puede conllevar una anulación de la recombinación, relacionada en este caso por una inversión (Verlaan *et al.*, 2011), que puede dificultar la eliminación de parte del genoma silvestre asociado. De hecho, en la secuenciación del genoma del tomate, se ha comprobado la baja tasa de recombinación en amplias zonas del genoma (Tomato Genome Consortium, 2012). A pesar de todos estos efectos colaterales, los esfuerzos de mejora destinados a introgresar resistencia a virosis en “Muchamiel”, han permitido obtener incluso perfiles aromáticos similares a los de los materiales de partida (Alonso *et al.*, 2009b).

La propuesta de realizar mejora empleando sólo poblaciones de la misma variedad tradicional implicaría una intervención menor, en tanto que no implica el uso de fondo genético distinto. De hecho, ya se han desarrollado intentos previos en España que han dado lugar a variedades como “Montgrí”, una selección dentro de la variedad “Pera Girona”. En este caso seleccionado para, respetando el ideotipo de la variedad, ofrecer la mejor calidad organoléptica, un buen comportamiento agronómico y una cierta uniformidad atendiendo a los requerimientos del mercado (Casals *et al.*, 2010). Aunque es cierto que esta propuesta conlleva sus ventajas e inconvenientes, tampoco hay que olvidar que la disponibilidad de líneas de variedades tradicionales con una morfología clara, un rendimiento agronómico elevado (dentro de la variación disponible en la variedad), elevada calidad organoléptica y funcional, sin duda contribuiría a desarrollar alternativas viables a la conservación de un patrimonio en vías de desaparición.

Referencias

- Alonso, A., García-Aliaga, R., García-Martínez, S., Ruiz, J. J., Carbonell-Barrachina, A.A.** 2009a. Characterization of Spanish tomatoes using aroma composition and discriminant analysis. *Food Science and Technology International*. 15(1): 47-55.
- Alonso, A., Vázquez-Araújo, L., García-Martínez, S., Ruiz, J. J., Carbonell-Barrachina, Á.A.** 2009b. Volatile compounds of traditional and virus-resistant breeding lines of Muchamiel tomatoes. *European food research and technology*. 230(2): 315-323.
- Andreakis, N., Giordano, I., Pentangelo, A., Fogliano, V., Graziani, G., Monti, L. M., & Rao, R.** 2004. DNA fingerprinting and quality traits of Corbarino cherry-like tomato landraces. *Journal of agricultural and food chemistry*. 52(11): 3366-3371.
- Archak, S., Karihaloo, J.L., Jain, A.** 2002. RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars. *Curr. Sci.* 82: 1139-1143.
- Baldwin, E.A., Scott, J.W., Einstein, M.A., Malundo, T.M.M., Carr, B.T., Shewfelt, R.L., Tandon, K.S.** 1998. Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 123: 906-915.
- Ballester A., Molthoff J., de Vos R., Hekkert B.t.L., Orzaez D., Fernández-Moreno J., Tripodi P., Grandillo S., Martin C., Heldens J., Ykema M., Granell A., Bovy A.** 2010. Biochemical and Molecular Analysis of Pink Tomatoes: Deregulated Expression of the Gene Encoding Transcription Factor SIMYB12 Leads to Pink Tomato Fruit Color. *Plant Physiology*. 152: 71-84.
- Bocci, R.** 2009. Seed legislation and agrobiodiversity: conservation varieties. *Journal of Agriculture and Environment for International Development*. 103(1/2): 31-49.
- Bota, J., Conesa, M. À., Ochogavia, J. M., Medrano, H., Francis, D. M., Cifre, J.** 2014. Characterization of a landrace collection for Tomàtiga de Ramellet (*Solanum lycopersicum* L.) from the Balearic Islands. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 1-16.
- Bredemeijer, G.M.M., Cooke, R.J., Ganal, M.W., Peeters, R., Isaac, P., Noordijk, Y., Rendell, S., Jackson, J., Röder, M.S., Wendehake, K., Dijcks, M., Amelaine, M., Wickaert, V., Bertrand, L., Vosman, B.** 2002. Construction and testing of a microsatellite database containing more than 500 tomato varieties. *TAG Theor. App. Genet.* 105: 1019-1026.
- Brugarolas, M., Martínez-Carrasco, L., Martínez-Poveda, A., Ruiz-Martínez, J.J.** 2009. A competitive strategy for vegetable products: traditional varieties of tomato in the local market. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 7(2): 294-304.
- Bruhn, C.M., Feldman, N., Garlitz, C., Harwood, J., Ivans, E., Marshall, M., Riley, A., Thurber, D., Williamson, E.** 1991. Consumer perceptions of quality: apricots, cantaloupes, peaches, pears, strawberries, and tomatoes. *Journal of Food Quality*. 14: 187-195.
- Butler, L.** 1952. The linkage map of the tomato. *Journal of Heredity*. 43 (1): 25-36.

- Carbonell-Barrachina, A.A., Agustí, A., Ruiz, J.J.** 2006. Analysis of flavor volatile compounds by dynamic headspace in traditional and hybrid cultivars of Spanish tomatoes. *European Food Research and Technology*. 222(5-6): 536-542.
- Casals, J., Bosch, L., Casañas, F., Cebolla, J., Nuez, F.** 2010. Montgrí, a cultivar within the Montserrat tomato type. *HortScience*. 45(12): 1885-1886.
- Casals J., Pascual L., Cañizares J., Cebolla-Cornejo J., Casañas F., Nuez F.** 2011a. 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.
- Casals, J., Cebolla-Cornejo, J., Rosello, S., Beltran, J., Casanas, F., Nuez, F.** 2011b. Long-term postharvest aroma evolution of tomatoes with the alcobaca (alc) mutation. *European Food Research and Technology*. 233 (2): 331-342.
- Casals, J., Pascual, L., Cañizares, J., Cebolla-Cornejo, J., Casañas, F., Nuez, F.** 2012. Genetic basis of long shelf life and variability into Penjar tomato. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 59(2): 219-229.
- Causse, M., Friguier, C., Coiret, C., Lépicier, M., Navez, B., Lee, M., Holthuysen, N., Sinesio, F., Moneta, E., Grandillo, S.** 2010. Consumer preferences for fresh tomato at the European scale: a common segmentation on taste and firmness. *Journal of food science*. 75(9): S531-S541.
- Cebolla-Cornejo, J., 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: 113-128.
- Cebolla Cornejo, J., Carbajosa, A., Raigón, M.D., Nuez, F.** 2008. Characterization and evaluation of tradicional varieties of lettuce grown in organic farming. *Modern Variety Breeding for Present and Future Needs*. pp: 560- 564.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Valcárcel, M., Serrano, E., Beltrán, J., Nuez, F.** 2011. Evaluation of genotype and environment effects on taste and aroma flavor components of Spanish fresh tomato varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*. 59(6): 2440-2450.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F.** 2013a. Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Scientia Horticulturae*. 162: 150-164.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., Nuez, F.** 2013b. Selection of tomato rich in nutritional terpenes. In: *Natural products*. Ed. by Ramawat KG. and Mérillon JM. Springer, Heidelberg. pp: 2853-2881.
- Chable, V., Goldringer, I., Dawson, J., Bocci, R., Van Bueren, E.L., Serpolay, E., González, J.M., Valero, T., Levilla, T.** 2009. Farm Seed Opportunities: a Project to Promote Landrace Use and Renew Biodiversity. In: *European landraces: on-farm conservation, management and use*. Ed by M. Veteläinen, V. Negri and N. Maxted. ECP/GR, Macarese. pp: 266-274.
- Chen, J., Wang, H., Shen, H., Chai, M., Li, J., Qi, M., Yang, W.** 2009. Genetic variation in tomato populations from four breeding programs revealed by single

nucleotide polymorphism and simple sequence repeat markers. *Scientia horticulturae*. 122(1): 6-16.

Cookson, P.J., Kiano, J.W., Shipton, C.A., Fraser, P.D., Romer, S., Schuch, W., Bramley, P.M., Pyke, K.A. 2003. Increases in cell elongation, plastid compartment size and phytoene synthase activity underlie the phenotype of the high pigment-1 mutant of tomato. *Planta*. 217: 896–903.

Corrado, G., Piffanelli, P., Caramante, M., Coppola, M., Rao, R. 2013. SNP genotyping reveals genetic diversity between cultivated landraces and contemporary varieties of tomato. *BMC genomics*. 14(1): 835.

Corrado, G., Caramante, M., Piffanelli, P., Rao, R. 2014. Genetic diversity in Italian tomato landraces: Implications for the development of a core collection. *Scientia Horticulturae*. 168: 138-144.

Cubero, J. I. 2002. Introducción a la mejora genética vegetal. Mundi-Prensa Libros.

Davies, J.N., Hobson, G.E. 1981. The constituents of tomato fruit — the influence of environment, nutrition, and genotype. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 15: 205-280.

Decoene, C. 1995. Tomates, qu'en pensent les consommateurs?. *Infos-Ctifl*. 112: 8–11.

Dinis, I., Simoes, O., Moreira, J. 2011. Using sensory experiments to determine consumers' willingness to pay for traditional apple varieties. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 9(2): 351-362.

Dorais M., Papadopoulos A., Gosselin A. 2001. Greenhouse tomato fruit quality. *Horticultural Reviews*. 26: 239-319.

Ercolano, M.R., Carli, P., Soria, A., Cascone, A., Fogliano, V., Frusciante, L., Barone, A. 2008. Biochemical, sensorial and genomic profiling of traditional Italian tomato varieties. *Euphytica*. 164(2): 571-582.

Escribano, S., Lázaro, A. 2009. Agro-morphological diversity of Spanish traditional melons (*Cucumis melo* L.) of the Madrid provenance. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 56: 481-497.

Esteras, C., Diez, M.J., Picó, B., Sifres, A., Valcarcel, J.V., Nuez, F. 2008. Diversity of Spanish landraces of *Cucumis sativus* and *Cucúrbita ssp.* Cucurbitaceae. Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae (Pitrat, M., ed). INRA, Avignon (France). pp: 67- 76.

Ferriol, M., Picó, B., Nuez, F. 2004. Morphological and molecular diversity of a collection of *Cucurbita maxima* landraces. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 129(1): 60-69.

Flores, K., Sánchez, M.T., Pérez-Marín, D., Guerrero, J.E., Garrido-Varo, A. 2009. Feasibility in NIRS instruments for predicting internal quality in intact tomato. *Journal of food engineering*. 91(2): 311-318.

Frusciante, L., Carli, P., Ercolano, M.R., Pernice, R., Di Matteo, A., Fogliano, V., Pellegrini, N. 2007. Antioxidant nutritional quality of tomato. *Mol Nutr Food Res*. 51: 609-617.

- García-Martínez, S., Andreani, L., Garcia-Gusano, M., Geuna, F., Ruiz, J. J.** 2006. Evaluation of amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm fingerprinting: utility for grouping closely related traditional cultivars. *Genome*. 49(6): 648-656.
- García-Martínez, S., Corrado, G., Ruiz, J. J., Rao, R.** 2013. Diversity and structure of a sample of traditional Italian and Spanish tomato accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 60(2): 789-798.
- Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G., Faria, J.A.F.** 2010. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 9: 292-302.
- Haggard, J.E., Johnson, E.B., Clair, D.A.S.** 2013. Linkage relationships among multiple QTL for horticultural traits and late blight (*P. infestans*) resistance on chromosome 5 introgressed from wild tomato *Solanum habrochaites*. *G3: Genes|Genomes|Genetics*. 3(12): 2131-2146.
- Hajjar, R., Hodgkin, T.** 2007. The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. *Euphytica*. 156: 1-13.
- He, C., Poysa, V., Yu, K.** 2003. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. 106(2): 363-373.
- Hobson, G., Bedford, L.** 1989. The composition of cherry tomatoes and its relation to consumer acceptability. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 64: 321-329.
- INIA.** 1995. Informe nacional para la conferencia técnica internacional de la fao sobre los recursos fitogenéticos. Food and Agriculture Organization, Rome. 41pp.
- Janse, J., Schols, M.** 1995. Une préférence pour un goût sucré et non farineux. *Groenten + Fruit*. 26: 16-17.
- Jones, R.A.** 1986. Breeding for improved post-harvest tomato quality: genetical aspects. *Acta Horticulturae*. 190: 77-87.
- Kader, A., Stevens, M.A., Albright-Holton, M., Morris, L., Algazi, M.** 1977. Effect of fruit ripeness when picked on flavour and composition in fresh market tomatoes. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 102: 724-731.
- Kapur, A.** 2013. Development of Vegetable Hybrids for Climate Change Scenarios. In: *Climate-Resilient Horticulture: Adaptation and Mitigation Strategies*.). Springer India. pp: 103-111.
- Lesley, J.W.** 1924. Cross pollination of tomatoes: Varietal Differences in Amount of Natural Cross-Pollination Important Factor in Selection. *J Hered*. 15: 233-235.
- Levy, A., Rabinowitch, H.D., Kedar, N.** 1978. Morphological and physiological characters affecting flower drop and fruit set of tomatoes at high temperatures. *Euphytica*. 27: 211-218.

- Liu, N., Chen, L., Wang, S., Oh, C., Zhao, H.** 2005. Comparison of single-nucleotide polymorphisms and microsatellites in inference of population structure. *Bmc Genetics*. 6(Suppl 1): S26.
- Martínez-Carrasco, L., Brugarolas, M., Martínez-Poveda, A., Ruiz, J.J., García-Martínez, S.** 2012. Modelling perceived quality of tomato by structural equation analysis. *British Food Journal*. 114(10): 1414-1431.
- Mazzucato, A., Papa, R., Bitocchi, E., Mosconi, P., Nanni, L., Negri, V., ... 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(5): 657-669.
- Mazzucato, A., Ficcadenti, N., Caioni, M., Mosconi, P., Piccinini, E., Reddy Sanampudi, V. R., ... Ferrari, V.** 2010. Genetic diversity and distinctiveness in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces: The Italian case study of 'A pera Abruzzese'. *Scientia horticultrae*. 125(1): 55-62.
- Mendez-Infante, I., Vera-Guzmán, A.M., Chavez-Servia, J.L., Carrillo-Rodríguez, J.C.** 2011. Quality of fruits in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) landraces from Mexico. *Vitae*. 18(1): 26-32.
- Menrad, K.** 2003. Market and marketing of functional food in Europe. *J Food Eng.* 56: 181-188.
- Park, Y.H., West, M.A.L., St Clair, D.A.** 2004. Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome*. 47: 510-518.
- Petro-Turza, M.** 1986. Flavor of tomato and tomato products. *Food Reviews International*. 2(3): 309-351.
- Powell, A.L.T., Nguyen, C.V., Hill, T., Cheng, K.L., Figueroa-Balderas, R., Aktas, H., Ashrafi, H., Pons, C., Fernández-Muñoz, R., Vicente, A., Lopez-Baltazar, J., Barry, C.S., Liu, Y., Chetelat, R., Granell, A., Van Deynze, A., Giovannoni J.J., Bennett, A.B.** 2012. *Uniform ripening* Encodes a *Golden 2-like* Transcription Factor Regulating Tomato Fruit Chloroplast Development. *Science*. 336:1711-1715.
- Prohens, J., Blanca, J.M., Rodríguez Burruezo, A., Nuez, F.** 2004. Spanish traditional varieties of eggplant: diversity and interest for plant breeding. *Proceedings of the XII th Eucarpia meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant*. pp: 38-43.
- Ratanachinakorn, B., Klieber, A., Simons, D.H.** 1997. Effect of shortterm controlled atmospheres and maturity on ripening and eating quality of tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*. 11: 149-154.
- Rick, C.M.** 1958. The role of natural hybridization in the derivation of cultivated tomatoes of western South America. *Econ. Bot.* 12: 346-367.
- Rick, C.M.** 1986. Germplasm resources in the wild tomato species. *Acta Horticulturae*. ISHS. 190: 39-48.
- Rick, C.M., Chetelat R.T.** 1995. Utilization of related wild species for tomato improvement. *Acta Hort.* 412:21-38.

- Rick, C.M., Fobes, J.F.** 1975. Allozyme Variation in the Cultivated Tomato and Closely Related Species. *Bull. Torrey Bot. Club.* 102: 376-384.
- Robertson, L.D., Labate, J.A.** 2007. Genetic resources of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and wild relatives. *Genetic Improvement of Solanaceous Crops. Tomato.* 2: 25-75.
- Ruiz, J.J., Martínez, N., García-Martínez, S., Serrano, M., Valero, M., Moral, R.** 2005a. Micronutrient composition and quality characteristics of traditional tomato cultivars in southeast Spain. *Communications in soil science and plant analysis.* 36(4-6): 649-660.
- Ruiz, J.J., Alonso, A., García-Martínez, S., Valero, M., Blasco, P., Ruiz-Bevia, F.** 2005b. Quantitative analysis of flavour volatiles detects differences among closely related traditional cultivars of tomato. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 85(1): 54-60.
- Sabatini, E., Rotino, G. L., Voltattorni, S., Acciarri, N.** 2006. A novel CAPS marker derived from the Ovate gene in tomato (*L-esculentum* Mill.) is useful to distinguish two Italian ecotypes and to recover pear shape in marker assisted selection. *European Journal of Horticultural Science.* 71(5): 193-198.
- Sardaro, M.L.S., Marmioli, M., Maestri, E., Marmioli, N.** 2013. Genetic characterization of Italian tomato varieties and their traceability in tomato food products. *Food Science & Nutrition.* 1(1): 54-62.
- Scalfi, L., Fogliano, V., Pentangelo, A., Graziani, G., Giordano, I., Ritieni, A.** 2000. Antioxidant activity and general fruit characteristics in different landraces of Corbarini small tomatoes. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1363-1366.
- Sim, S.C., Robbins, M.D., Chilcott, C., Zhu, T., Francis, D.M.** 2009. Oligonucleotide array discovery of polymorphisms in cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) reveals patterns of SNP variation associated with breeding. *Bmc Genomics.* 10(1): 466.
- Sim, S.C., Robbins, M.D., Van Deynze, A., Michel, A.P., Francis, D.M.** 2011. Population structure and genetic differentiation associated with breeding history and selection in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Heredity.* 106(6): 927-935.
- Sinesio, F., Moneta, E., Peperai, M.** 2007. Sensory characteristics of traditional field grown tomato genotypes in Southern Italy. *Journal of Food Quality.* 30(6): 878-895.
- Siracusa, L., Avola, G., Patanè, C., Riggi, E., Ruberto, G.** 2013. Re-evaluation of traditional Mediterranean foods. The local landraces of 'Cipolla di Giarratana' (*Allium cepa* L.) and long-storage tomato (*Lycopersicon esculentum* L.): quality traits and polyphenol content. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 93(14): 3512-3519.
- Stevens, M.A., Rick, C.M.** 1986. Genetics and breeding. In: *The tomato crop.* Anonymous Springer. pp: 35-109.
- Stevens, R., Buret, M., Duffé, P., Garchery, C., Baldet, P., Rothan, C., Causse, M.** 2007. Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations. *Plant Physiol.* 143: 1943-1953.

- Sun-Waterhouse, D.** 2011. The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review. *Int J Food Sci Tech.* 46: 899-920.
- Tam, S.M., Mhiri, C., Vogelaar, A., Kerkveld, M., Pearce, S.R., Grandbastien, M.A.** 2005. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theoretical and applied genetics.* 110(5): 819-831.
- Terzopoulos, P. J., Bebeli, P. J.** 2008. DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia horticulturae.* 116(4): 354-361.
- Terzopoulos, P.J., Bebeli, P.J.** 2010. Phenotypic diversity in Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae.* 126: 138-144.
- Tigchelaar, C.C., Tomes, M.L.** 1974. "Caro-Rich" Tomato. *HortScience.* 9: 82.
- Tomato Genome Consortium.** 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature.* 485(7400): 635-641.
- Tomes, M.L., Quackenbush, F.W.** 1958. Caro-red, a new provitamin a rich tomato. *Econ Bot.* 12: 256-260.
- Verlaan, M.G., Szinay, D., Hutton, S.F., de Jong, H., Kormelink, R., Visser, R.G., Scott, J.W., Bai, Y.** 2011. Chromosomal rearrangements between tomato and *Solanum chilense* hamper mapping and breeding of the TYLCV resistance gene Ty-1. *The Plant Journal.* 68(6): 1093-1103.
- Villand, J. Skroch, P.W., Lai, T., Hanson, P., Kuo, C.G., Nienhuis, J.** 1998. Genetic Variation among Tomato Accessions from Primary and Secondary Centers of Diversity. *Crop Sci.* 38: 1339-1347.
- Vogel, J.T., Tieman, D.M., Sims, C.A., Odabasi, A.Z., Clark, D.G., Klee, H.J.** 2010. Carotenoid content impacts flavor acceptability in tomato (*Solanum lycopersicum*). *J Sci Food Agric.* 90: 2233-2240.
- Watada, A.E., Aulenbach, B.B., Worthington, J.T.** 1976. Vitamins a and c in ripe tomatoes as affected by stage of ripeness at harvest and by supplementary ethylene. *Journal of Food Science.* 41: 856-858.
- Williams, C.E., St. Clair, D.A.** 1993. Phenetic relationships and levels of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon esculentum*. *Genome.* 36: 619-630.
- Zeven, A.C.** 1999. The traditional inexplicable replacement of seed and seed ware of landraces and cultivars: A review. *Euphytica.* 110: 181-191.

8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

La estructura de las variedades tradicionales de tomate evaluadas es compleja, con altos niveles de variación dentro de población y entre poblaciones de la misma variedad. La segregación detectada en la caracterización morfo-agronómica, así como los niveles de heterocigosis observada en algunas poblaciones, indican que los cruces espontáneos y la mezcla de semilla serían relativamente frecuentes.

La variación entre poblaciones es mayor que la encontrada dentro de población, que no es muy superior a la detectada en híbridos control. Esta variación intravarietal podría deberse a la distinta selección realizada por cada agricultor, que podría centrarse en pocos caracteres definitorios de la variedad (como el tamaño, forma, color y acostillado del fruto), aunque seguiría manteniéndose variación incluso en estos caracteres.

La selección dentro de variedad y dentro de población parece necesaria para poder registrar estos materiales como variedades de conservación y para mantener una clara identificación por parte del consumidor en mercados de calidad.

Respecto a la calidad organoléptica, los estudios iniciales desarrollados indican que, aunque parecen darse tendencias generales sobre las características de algunas variedades, la variación dentro de variedad es considerable. Como se preveía a partir de estudios anteriores, la condición de variedad tradicional no implica indefectiblemente una mejor calidad organoléptica. No obstante, dentro de cada variedad es posible seleccionar poblaciones que destaquen por la acumulación de compuestos relacionados con la percepción del gusto.

La evaluación de la calidad funcional en las variedades tradicionales ha permitido identificar poblaciones con niveles moderados a elevados, próximos a los rangos de variación mostrados por cultivares “*high pigment*” y “*Double Rich*”. Con respecto al ácido ascórbico, 10 poblaciones han mostrado contenidos superiores a 200 mg kg⁻¹, destacando la población CDP00142 (“Valenciano”), con un contenido promedio de 308.14 mg kg⁻¹; 8 poblaciones han mostrado contenidos de licopeno superiores a 100 mg kg⁻¹, siendo las poblaciones CDP04303 (“Rosa”) y CDP06083 (“Pimiento”) con 151.9 mg kg⁻¹ y 132.2 mg kg⁻¹ respectivamente, las más destacadas; y 23 poblaciones han mostrado contenidos de β-caroteno superiores a 20 mg kg⁻¹, siendo CDP07064 (“Redondo rojo”) y CDP03774 (“De colgar”) las poblaciones con mayores contenidos (superiores a 30 mg kg⁻¹). Además, los contenidos de algunas de las poblaciones son considerablemente estables tanto dentro de población como entre años de cultivo. Estos materiales pueden resultar potencialmente útiles como fuentes de variación en programas de mejora convencionales orientados al mercado generalista.

Se ha seleccionado y evaluado una colección de 32 marcadores SNP para la caracterización de variedades tradicionales de tomate, obteniéndose correlaciones entre la caracterización morfo-agronómica y molecular y niveles de estabilidad en el remuestreo en el análisis de agrupaciones superiores a lo descrito previamente con otros marcadores. En general las variedades que tienen una designación ambigua o que hacen referencia a un carácter determinado, tienen tendencia a presentar elevada variación molecular (“Rosa”, “Gordo rojo”, “De pera”, “De colgar”). Por otra parte, aquellas

variedades con nombre más específico, tienen elevada variación morfo-agronómica pero relativamente menor variación molecular (“Valenciano”, “Muchamiel”, “Flor de Baladre”, “Cuarenteno”). La caracterización molecular también ha permitido descartar o comprobar relaciones entre distintos materiales. En cualquier caso existe una elevada influencia del tipo de marcador, la colección específica de marcadores empleada y las variedades o poblaciones evaluadas en la diferenciación genética de variedades tradicionales de tomate.

Se han seleccionado 22 marcadores SNP que permiten establecer huellas moleculares para las variedades: “Centenares”, “Cuarenteno”, “De la pera”, “De pera”, “Flor de baladre”, “Gordo rojo”, “Moruno”, “Muchamiel”, “Negre”, “Pimiento”, “Valenciano” y “Tomaca gallega”. Estos marcadores específicos podrían convertirse en una herramienta muy útil para detectar la introducción fraudulenta de materiales no tradicionales en los mercados de calidad.

Habiéndose comprobado la existencia de un potencial organoléptico y funcional excepcional, sería conveniente seleccionar materiales que aglutinen las características morfológicas del ideotipo varietal con la mayor acumulación de compuestos relacionados con el sabor o la prevención de enfermedades. La puesta en valor de las variedades tradicionales, su consolidación en mercados de calidad y la promoción de la conservación *in situ* requiere dotarlas del máximo valor añadido. Para ello, en algunos casos sería necesario abordar programas de depuración varietal, diseñando cruces complementarios intravarietales que permitan explotar todo su potencial.