

# UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

*ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA  
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL (ETSIAMN)*

*GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL  
MEDIO RURAL*



## *Evaluación del valor funcional de germoplasma de la variedad cerasiforme de *Solanum lycopersicum L.**

*Curso académico 2016-2017*

**AUTOR:** CARLOS HUERTA CUENCA

**TUTOR:** JAIME CEBOLLA CORNEJO

**COTUTOR:** MERCEDES VALCÁRCEL GERMES

*VALENCIA, Junio de 2017*

**Título:** Evaluación del valor funcional de germoplasma de la variedad *cerasiforme* de *Solanum lycopersicum* L.

**Resumen:**

El tomate es una de las hortalizas más importantes a nivel mundial y su producción y popularidad ha ido en aumento con el paso de los años. No destaca su valor nutricional y funcional, pero al ser muy consumida representa una importante fuente de compuestos bioactivos, lo que justifica el creciente interés en aumentar los contenidos de los mismos. Esto se debe a que los consumidores cada vez prestan mayor atención al papel de los alimentos en la prevención de enfermedades relacionadas con la edad, para ya no solo alargar la esperanza de vida sino para mejorar la calidad de la misma. Cualquier programa de mejora que pretenda cubrir este objetivo, requiere de una fuente de variación para el valor funcional. Por ello es necesario seguir cribando material vegetal con el objetivo de identificar materiales capaces de ofrecer mayores contenidos de compuestos funcionales. En el caso del tomate destacarían los estudios realizados para mejorar los contenidos en carotenoides, vitamina C y polifenoles. En este contexto, en el presente trabajo se ha evaluado el contenido de los principales carotenoides (por cromatografía líquida de alta resolución, HPLC) y de ácido L-ascórbico (por electroforesis capilar) de una colección de entradas silvestres cedida por la Universidad Mayor de San Simón (UMSS) de Bolivia, clasificadas en origen como la antigua variedad *cerasiforme* de *Solanum lycopersicum* L. Se ha encontrado un elevado rango de variación interpoblacional en la acumulación de los dos tipos de compuestos. Adicionalmente en algunas entradas también se ha encontrado elevada variabilidad intrapoblacional que podría indicar cierto nivel de segregación. Aunque probablemente las temperaturas durante el ensayo hayan podido ser estresantes y condicionar la acumulación de carotenoides, la entrada RMA218 destacó por su elevada concentración de carotenoides totales e individuales, con variación intrapoblacional contenida. La entrada RMA217 destacó por la acumulación de licopeno, pero con elevado nivel de variación intrapoblacional. Por la acumulación de luteína destacaron JDR118 y JGC189, aunque la acumulación de este carotenoide es mucho menor. En cuanto a la acumulación de ácido L-ascórbico destacaron las entradas CH105 y RMA2015, presentando menor variación intrapoblacional la primera. Aunque se precisa de un nuevo ensayo para evaluar el efecto del ambiente, estos materiales podrían suponer una interesante fuente de variación en los programas de mejora de la calidad funcional de tomate.

**Palabras clave:** carotenoides, licopeno,  $\beta$ -caroteno, luteína, ácido L-ascórbico, vitamina C, tomate, mejora genética.

**Title:** Evaluation of the functional value of germplasm of the *cerasiforme* variety of *Solanum lycopersicum* L.

**Abstract:**

The tomato is one of the most important vegetables worldwide and its production and popularity has been increasing over the years. It does not stand out for its nutritional nor functional value, but it is highly consumed and it represents an important source of bioactive compounds. Thus there is an increasing interest in improving the contents in these substances. This is because consumers are increasingly paying attention to the role of food in the prevention of age-related diseases, in order not only to extend life expectancy but also to improve the quality of life. Any breeding program with this objective requires a source of variation for functional value. Therefore it is necessary to continue screening plant material in order to identify materials capable of offering higher contents of functional compounds. In the case of tomato, the main efforts have been targeted to increase the levels of carotenoids, vitamin C and polyphenols.

In this context, the contents of the main carotenoids (by high performance liquid chromatography, HPLC) and L-ascorbic acid (by capillary electrophoresis) have been determined in a collection of wild accessions provided by the Universidad Mayor de San Simón (UMSS) of Bolivia, classified in origin as the ancient *cerasiforme* variety of *Solanum lycopersicum* L. A high range of interpopulation variation has been found in the accumulation of the two types of compounds. Additionally, high intra-population variability has been found in some accessions, which may indicate a certain level of segregation. Although the temperatures during the test were likely to be stressful and to condition the accumulation of carotenoids, accession RMA218 was noted for its high concentration of total and individual carotenoids with contained intrapopulation variation. The accession RMA217 was noted for the accumulation of lycopene but with a high level of intrapopulation variation. Regarding lutein accumulation, accessions JDR118 and JGC189, stood out, although the accumulation of this carotenoid is much smaller. As for the accumulation of L-ascorbic acid accessions CH105 and RMA2015 showed the highest levels, with lower intra-population variation in the first. Although a new assay is needed to evaluate the effect of the environment, these materials could be an interesting source of variation in breeding programs for improvement of the functional quality of tomato.

**Keywords:** Carotenoids, lycopene,  $\beta$ -carotene, lutein, L-ascorbic acid, vitamin C, tomato, genetic improvement.

## **ÍNDICE**

---

---

# ÍNDICE GENERAL

---

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
1.1. EL CULTIVO DEL TOMATE.....	2
1.1.1.IMPORTANCIA ECONOMICA DEL TOMATE .....	2
1.1.2.EL TOMATE EN EL MUNDO.....	3
1.1.3.VALOR ECONOMICO EN ESPAÑA.....	5
1.2. LOS MERCADOS DE CALIDAD.....	8
1.3. LA CALIDAD FUNCIONAL.....	9
1.3.1.VITAMINA C.....	9
1.3.2.CAROTENOIDES.....	10
1.3.3.POLIFENOLES.....	11
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>15</b>
3.1. MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	15
3.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	15
3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	17
3.3.1.CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO EN CAROTENOIDES.....	17
3.3.2.CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO EN ACIDO L-ASCÓRBICO .....	18
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	19
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
4.1. EVALUACIÓN DEL CONTENIDO EN CAROTENOIDES .....	21
4.1.1. $\beta$ -CAROTENO.....	23
4.1.2. LICOPENO .....	23
4.1.3. LUTEÍNA.....	24
4.1.4. CAROTENOIDES CUANTIFICADOS TOTALES.....	25
4.2. CONTENIDO EN VITAMINA-C.....	28
4.3. ANÁLISIS DE CORRELACIONES.....	29
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>32</b>
<b>6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>34</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

---

## 1. INTRODUCCIÓN

<b>Figura 1.</b> Evolución de la superficie cultivada y de la producción mundial de tomates (FAO, 2017).....	3
<b>Figura 2.</b> Proporción de la producción mundial en los diferentes continentes (Fuente: FAO, 2017).....	4
<b>Figura 3.</b> Proporción de la producción mundial en los distintos países (Fuente: FAO, 2017).....	4
<b>Figura 4.</b> Evolución del valor económico de las importaciones y las exportaciones de tomate a nivel mundial (Fuente: FAO, 2017).....	5
<b>Figura 5.</b> Evolución de la superficie cultivada y de la producción española de tomates (Fuente: FAO, 2017).....	6
<b>Figura 6.</b> Evolución de las importaciones y las exportaciones en toneladas a nivel español (Fuente: FAO, 2017).....	7
<b>Figura 7.</b> Evolución del valor económico de las importaciones y las exportaciones de tomate a nivel español (Fuente: FAO, 2017).....	7

# ÍNDICE DE TABLAS

---

## 3. MATERIAL Y MÉTODOS.

<b>Tabla 1.</b> Procedencia de los materiales evaluados. ....	16
---	----

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

<b>Tabla 2.</b> Contenidos (mg kg <sup>-1</sup> peso fresco) y nivel de variación en los principales carotenoides de las entradas evaluadas (medias ± e.s.). Letras distintas implican diferencias significativas (Tukey, p<0,05).....	22
--	----

<b>Tabla 3.</b> Contenido en carotenoides cuantificados totales (mg kg <sup>-1</sup> peso fresco) incluyendo licopeno, β-caroteno y luteína (medias ± e.s.). Letras distintas implican diferencias significativas (Tukey, p<0,05).....	26
--	----

<b>Tabla 4.</b> Distribución relativa del contenido en carotenoides cuantificados totales .....	27
---	----

<b>Tabla 5.</b> Acumulación de ácido L-ascórbico en las entradas evaluadas, mg kg <sup>-1</sup> peso fresco (medias mg kg <sup>-1</sup> error estándar). Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, p<0,05). n.c.: < límite de cuantificación).....	29
--	----

<b>Tabla 6.</b> Correlaciones entre los distintos compuestos cuantificados. ns: no significativo p>0,05.....	30
--	----

# **INTRODUCCIÓN**



# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 EL CULTIVO DEL TOMATE**

### **1.1.1 IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL TOMATE**

Originario de América, en concreto, de la región andina que hoy comparten Ecuador, Perú y norte de Chile; el tomate, *Solanum lycopersicum L.*, sufrió una doble domesticación (Blanca et al., 2015). La primera en la zona andina daría lugar a la antigua variedad cerasiforme partiendo de poblaciones de *Solanum pimpinellifolium L.* Algunas de estas formas pre-domesticadas llegarían a la zona de Méjico, donde se llevaría a cabo la segunda domesticación que daría lugar al tomate tal y como lo conocemos hoy.

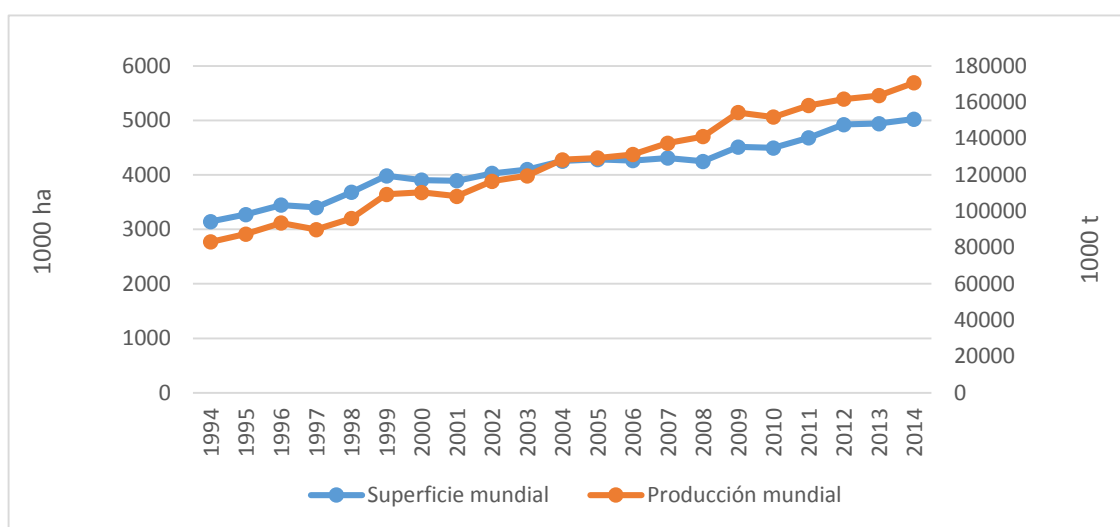
Desde allí, tuvieron que ser los españoles quienes lo llevaron a Europa, aunque la primera cita del tomate es de Italia, en una descripción botánica realizada por Matthiolus en 1544. En algunos casos se ha dicho que el tomate tardó en considerarse una hortaliza comestible, ya que las solanáceas que conocían los europeos hasta aquel entonces se caracterizaban por sus efectos tóxicos e incluso mortales. (Nuez, 1995). No obstante, parece que en el sur de Europa se aceptó rápidamente, mientras que en el norte tardaría en introducirse en la dieta por la dificultad del cultivo en climas más fríos.

Actualmente el tomate es una de las hortalizas más importantes en todo el mundo, llegando a ser la más importante en numerosos países. Su popularidad ha ido aumentando con el paso de los años. Este cultivo ha adquirido una elevada importancia económica en todo el mundo y una gran difusión (Nuez, 1995), llegando en la actualidad a ser la primera hortaliza de consumo humano, clasificación en la que aportó el 14,6% de la producción en 2014 (FAO, 2017).

El valor nutricional del tomate no es demasiado elevado, sin embargo, su elevada popularidad y consumo alrededor de todo el mundo lo han llevado a ser una de las principales fuentes de vitaminas y minerales (Nuez, 1995). Se ha de remarcar que el consumo (datos de 2013) de este fruto es notablemente más elevado en España, 41,6 kg/persona y año, en comparación con la población mundial, 20,59 kg/persona y año, y europea 26,74 kg/persona y año (FAO, 2017). En cualquier caso, el consumo medio mundial es muy elevado, siendo actualmente la hortaliza más consumida en el mundo.

## 1.1.2 EL TOMATE EN EL MUNDO

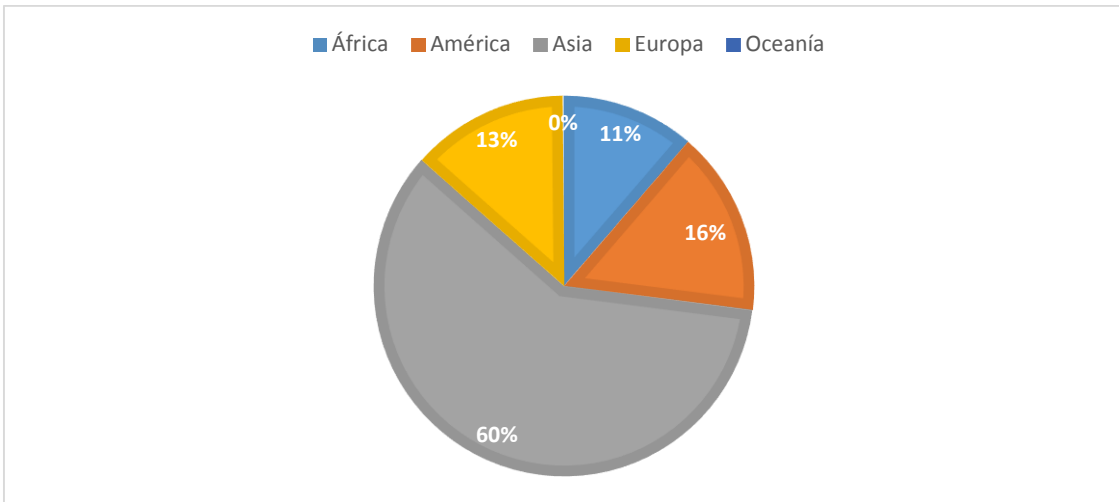
Tanto la producción como la superficie cultivada (Figura 1) de tomate han seguido una continua tendencia al alza durante los últimos 20 años. El avance ha sido tan espectacular que la producción actual (datos de 2014) prácticamente dobla a la de hace 20 años (FAO, 2017). En superficie cultivada el aumento ha sido similar. No obstante hay que tener en cuenta que la pendiente del alza de producción es mayor que la de superficie, poniendo de manifiesto un aumento considerable del rendimiento en el mismo periodo.



**Figura 1.** Evolución de la superficie cultivada y de la producción mundial de tomates (FAO, 2017).

En el último año con datos consolidados disponibles, el 2014, se dedicaron más de 5 millones de hectáreas al cultivo de esta especie, que dieron una producción de alrededor de 170 millones de toneladas (FAO, 2017).

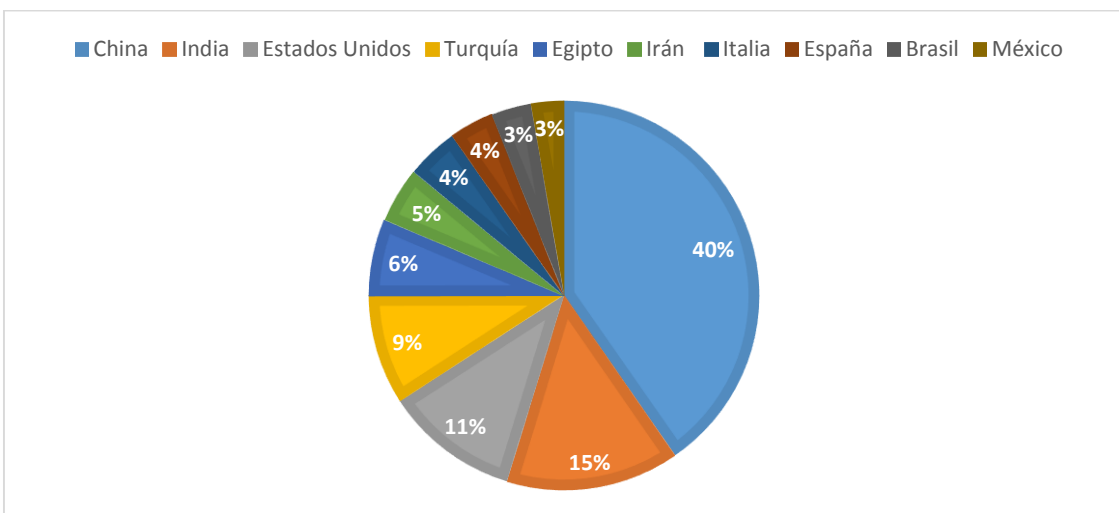
De toda esta producción mundial, el principal continente productor es Asia, representando un 60 % del total. A notable distancia le siguen América, con un 16%, Europa, con un 13%, y África, con un 11 % (Figura 2). Esta superproducción del continente asiático se debe fundamentalmente a la extensa superficie cultivada en China.



**Figura 2.** Proporción de la producción mundial en los diferentes continentes (Fuente: FAO, 2017).

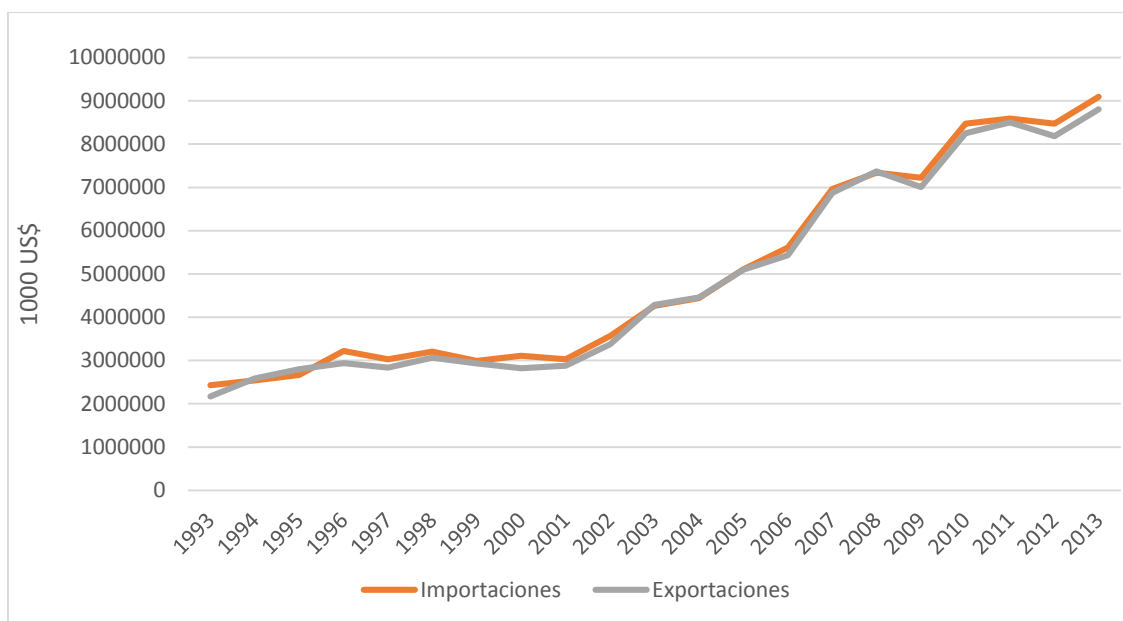
De hecho, China es el máximo productor con casi la mitad de la producción mundial (52.586.860 toneladas), detrás de éste se sitúa India (15 %) y Estados Unidos (11%). Destacar que en el continente Europeo, España ocupa el segundo lugar con una producción de casi 5 millones de toneladas, solo superada por Italia (Figura 3).

La elevada producción China se debe a la superficie cultivada y no tanto al rendimiento obtenido. De hecho, el rendimiento del cultivo en China, de 52,6 t ha<sup>-1</sup>, es mucho menor que la correspondiente a productores occidentales como Estados Unidos, con 88,8 t ha<sup>-1</sup> o España, con 89,3 t ha<sup>-1</sup>, y es prácticamente diez veces menor que el país más tecnificado, Holanda, que presenta un rendimiento de 505,6 t ha<sup>-1</sup> (FAO, 2017).



**Figura 3.** Proporción de la producción mundial en los distintos países (Fuente: FAO, 2017).

El valor económico (en dólares americanos, US\$) del comercio de tomate, considerando importaciones y exportaciones, también ha crecido durante este periodo, en el que el volumen monetario en ambas transacciones se ha llegado a cuadruplicar (FAO, 2017). Este incremento es especialmente notable desde el inicio del siglo XXI. Si bien es cierto que el aumento del valor se ve influenciado por posibles inflaciones, lo cierto es que más bien parece constatar que el comercio del tomate se ha desarrollado notablemente durante la última década.



**Figura 4.** Evolución del valor económico de las importaciones y las exportaciones de tomate a nivel mundial (Fuente: FAO, 2017).

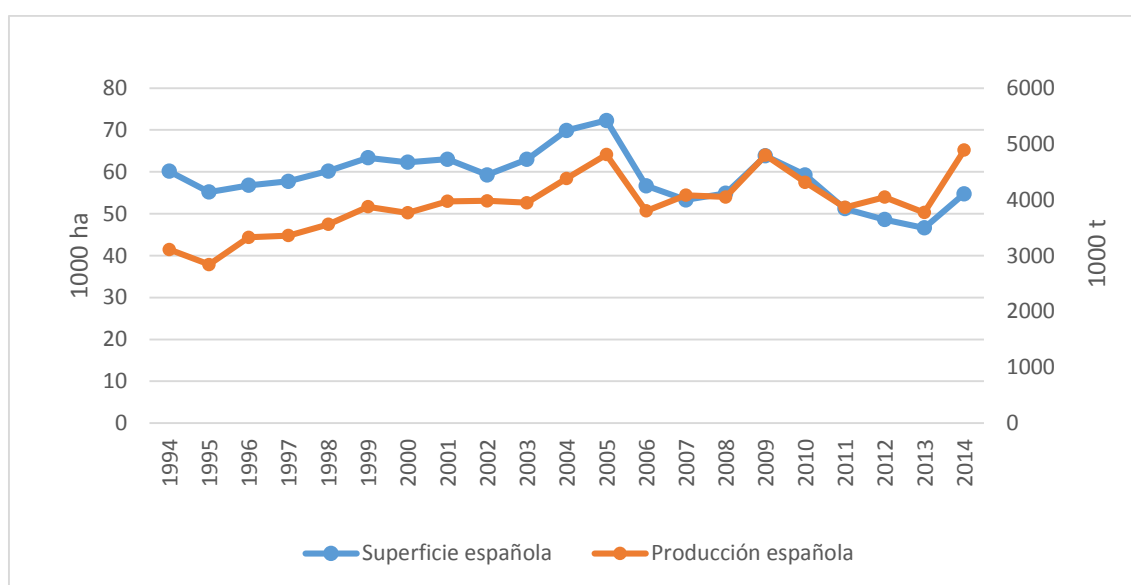
### 1.1.3 VALOR ECONOMICO EN ESPAÑA

En España la producción de tomate abarca un amplio abanico de posibilidades. Se usa tanto para la obtención de producto en fresco (70%), como para uso de materia prima industrial (30%). Estos dos usos satisfacen la demanda de la población y tienen una importante proyección internacional, un 25% de la producción en fresco se destina a la exportación y este porcentaje se duplica cuando se habla de tomate transformado (Nuez, 1995).

La producción de tomate en España se concentra en las regiones del sur-este peninsular (Valencia, Alicante, Murcia y Almería), el Ebro (Navarra, Rioja y Zaragoza), Extremadura y Canarias, hasta llegar a comprender el 73% de la producción. La zona del Ebro y Extremadura se han especializado en la producción de tomate cuyo destino es la industria, el resto de regiones se enfocan en el mercado en fresco. (Nuez, 1995)

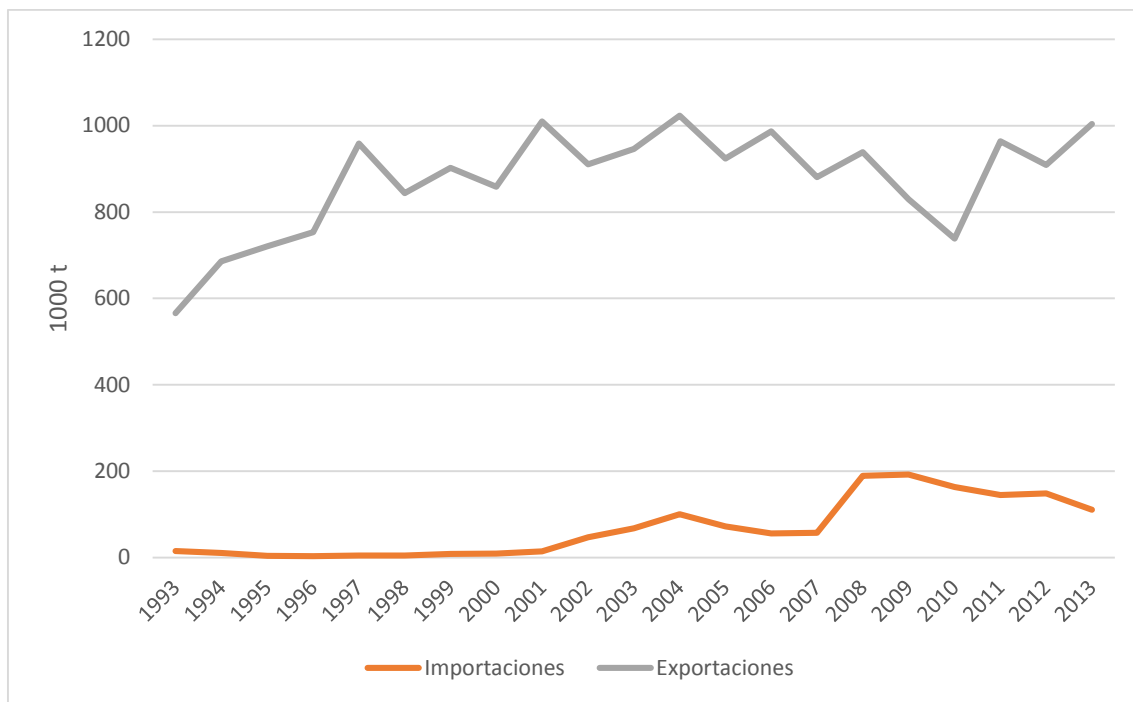
El tomate es un producto importantísimo en la horticultura española. Aunque ocupa el 14% de la superficie de cultivo hortícola, lo cierto es que representa el 23% del valor de la producción del sector.

Analizando de forma detallada la evolución en cuanto a superficie (ha) y producción (toneladas) en España de los últimos 20 años (Figura 5) se puede apreciar cierta irregularidad en su comportamiento. Hasta el año 2006 se produjo un incremento constante fundamentalmente explicado por el auge del tomate de industria. Sin embargo, en el año 2006 se produjo una brusca contracción y una cierta estabilización de la superficie cultivada, debido a la regularización del sector industrial (MAPAMA, 2017). Por ello, los incrementos en producción observados se deben más al aumento del rendimiento que a la evolución de la superficie cultivada.



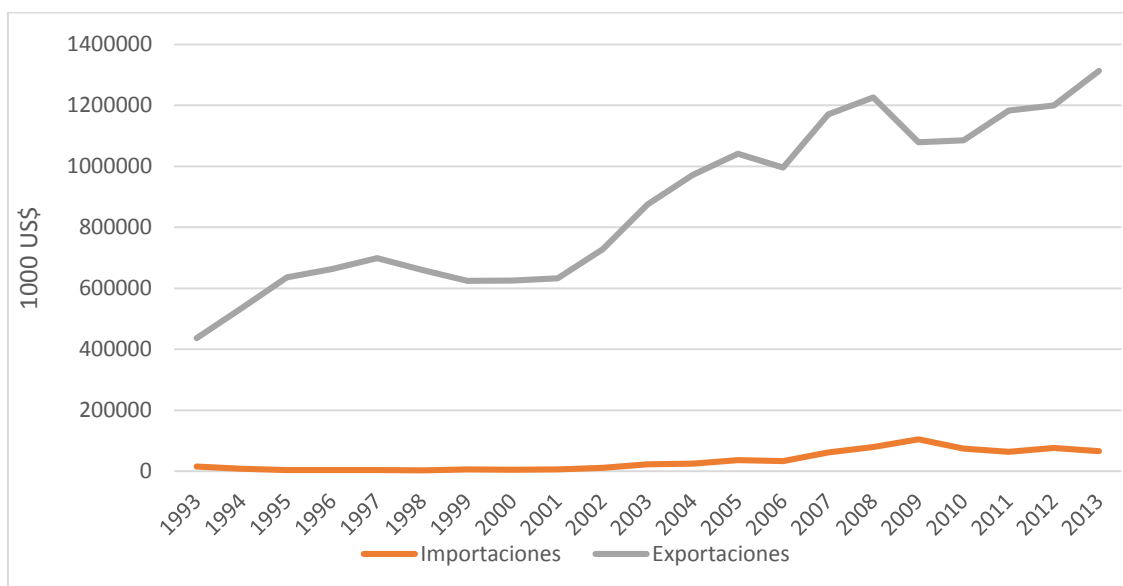
**Figura 5.** Evolución de la superficie cultivada y de la producción española de tomates (Fuente: FAO, 2017).

España es fundamentalmente exportador de tomate. Así, destaca el volumen de tomate exportado frente al importado (Figura 6). Si bien el volumen exportado ha aumentado significativamente desde el año 1993, lo cierto es que se ha estancado en la última década de la que se dispone datos consolidados, 2003-2013.



**Figura 6.** Evolución de las importaciones y las exportaciones en toneladas a nivel español (Fuente: FAO, 2017).

Considerando la diferencia de volúmenes importados y exportados era previsible que el saldo de la balanza comercial fuera positivo y notable (Figura 7). El alza de los precios de venta ha permitido que los ingresos por exportación si hayan continuado su ascenso a pesar del cierto estancamiento observado en el volumen exportado.



**Figura 7.** Evolución del valor económico de las importaciones y las exportaciones de tomate a nivel español (Fuente: FAO, 2017).

## 1.2 LOS MERCADOS DE CALIDAD

Hoy en día, la calidad en el sector hortícola representa un concepto complejo y multifactorial, que varía desde el ángulo en que se analiza. Así, en la actualidad, la calidad se suele dividir en tres conceptos en función de la perspectiva abordada. Se habla de calidad organoléptica si nos referimos a cómo se percibe desde los sentidos, calidad funcional si analizamos cómo puede ayudar a prevenir enfermedades o a mantener la salud y calidad medioambiental si estudiamos cómo impacta la producción sobre el medioambiente o el producto en sí.

Tradicionalmente, en el sector agrícola se ha prestado más atención a la cantidad que a la calidad, una tendencia que se rompió hace un par de décadas (Bouma et al., 1998). En aquel momento, al hablar de calidad en tomate se hacía referencia fundamentalmente al aspecto exterior.

Esto se debía a que la apariencia del fruto era el factor que condicionaba la decisión de compra (Weaver y Luloff, 1992), y por tanto era muy importante para el comercializador. Se habla entonces de una calidad dirigida por el producto, que se adapta mejor a las preferencias del comercializador, y que se centra en enfatizar la apariencia, vida postcosecha y bajo precio aún a costa del sabor (Shewfelt, 1999). Este concepto de calidad fue abrazado mayoritariamente por el mercado americano en los 90. Por el contrario, la calidad dirigida por el consumidor tuvo una menor cabida en el sector (aunque hoy en día está en aumento), ya que enfatiza el sabor a costa de la apariencia, una vida postcosecha más corta y precios más altos.

No es de extrañar pues que los programas de mejora genética del tomate se basaran en cuidar el aspecto externo, buscando frutos uniformes, de colores llamativos (aunque primando el rojo intenso) y brillantes, la ausencia de defectos como agrietamiento o cicatrices y la mayor vida útil posible. A la vez, se buscaba maximizar el potencial productivo y minimizar las pérdidas de producción, fundamentalmente introgresando genes de resistencia a enfermedades.

Pero todo tuvo un precio, y a principios de los años 90 el consumidor se empezó a rebelar por la notable pérdida del sabor de muchos productos hortícolas, y especialmente en tomate (Bruhn et al., 1991). Desde entonces se empieza a abordar la consideración de la calidad organoléptica interna: textura, estructura y, fundamentalmente, sabor. Esta tendencia se ha consolidado, siguiendo el auge que han tenido los mercados de calidad basados en el comercio de variedades tradicionales (Cebolla-Cornejo et al., 2012).

Pero en la última década, ya no sólo se aborda el sabor del tomate. La preocupación de una sociedad envejecida por la prevención de enfermedades degenerativas y por la salud en general ha generado expectativas por una dieta saludable que ayude a prevenir enfermedades (Granato et al., 2010). Así, cada vez es más frecuente hablar de la calidad funcional de los alimentos. Siguiendo esta tendencia, se han desarrollado numerosas iniciativas en la mejora del tomate

destinadas a aumentar el contenido en compuestos bioactivos en tomate como vía para incrementar su calidad funcional.

También durante las dos últimas décadas el consumidor se ha visto cada vez más preocupado por el impacto de la agricultura sobre el medio ambiente y por la presencia de residuos de fitosanitarios en los productos agrícolas. Esta tendencia a valorar la calidad medioambiental se ha consolidado en Europa, especialmente en el norte. Aunque en España, desde el punto de vista del consumo, no está tan desarrollada, lo cierto es que un volumen importante de la producción se exporta y por tanto debe cumplir con estrictos estándares de calidad, especialmente en lo que se refiere a presencia de residuos. Por otro lado, la agricultura ecológica y la producción integrada han experimentado un notable auge. De hecho, se estableció el objetivo de que en Europa, a partir de 2014, se empleara el manejo integrado de plagas en el sistema productivo profesional (Lefebvre et al., 2015).

## **1.3 LA CALIDAD FUNCIONAL**

La calidad funcional, en el caso del tomate se fundamenta en la concentración de tres tipos de compuestos: vitamina C, carotenoides y polifenoles. Desde el punto de vista de la mejora genética vegetal, se puso el énfasis inicialmente en incrementar el contenido en vitamina C, durante la década de los 90 se primó el contenido en carotenoides y actualmente el interés empieza a centrarse en los polifenoles.

### **1.3.1 VITAMINA C**

El ácido L-ascórbico, forma reducida de la vitamina C, es un cofactor enzimático que interviene en distintas reacciones fisiológicas vitales, como son la síntesis de colágeno, de los glóbulos rojos y el correcto funcionamiento del sistema inmunitario. También actúa en nuestro cuerpo como un potente antioxidante. El tomate no destaca especialmente por los contenidos en esta vitamina, pero su elevado nivel de consumo hace que ocupe el segundo lugar como fuente de vitamina C en la dieta (García-Closas et al., 2004).

Se han empleado distintas especies silvestres en la mejora del contenido en esta vitamina en tomate, incluyendo *Solanum peruvianum* L., *Solanum pennellii* Correll o *Solanum pimpinellifolium* L. (Stevens and Rick, 1986; Di Matteo et al., 2010; Roselló et al., 2011). A partir de la primera se desarrollaron cultivares como Doublerich, aunque con un éxito limitado. Entre otras cosas, uno de los problemas es que el contenido en vitamina C es inestable por emplearse



en las propias plantas como antioxidante y es muy sensible a las condiciones ambientales (Hamner et al., 1945; Hanson et al., 2004)

### **1.3.2 CAROTENOIDES**

Los carotenoides son los compuestos responsables de la coloración de los alimentos vegetales y animales, como pueden ser naranjas, zanahorias, salmón, yema de huevo o, por supuesto, el tomate. Estudios relativamente recientes han manifestado las propiedades positivas de estos pigmentos. Actúan como antioxidantes y pueden llegar a prevenir enfermedades del ser humano, como algunos cánceres. Es por esta razón que el interés por estos compuestos se ha disparado en los programas de mejora. (Martí et al., 2016).

En el tomate se pueden encontrar principalmente dos tipos de carotenoides,  $\beta$ -caroteno y licopeno, ambos con unas excelentes cualidades antioxidantes.

El licopeno es el encargado de otorgar la coloración roja al tomate y es el que se encuentra en mayor concentración. Su concentración en 100 mg de peso fresco de tomate rojo maduro va desde los 7,8 mg hasta los 18,1 mg (Cebolla-Cornejo et al., 2013).

En cuanto al  $\beta$ -caroteno (provitamina A), es el responsable de las coloraciones naranjas. Su concentración es notablemente menor que la de licopeno, encontrándose entre 0,1 mg hasta un máximo de 1,2 mg por 100 gramos de peso fresco (Cebolla-Cornejo et al., 2013).

En el tomate existen también otros carotenoides incoloros en concentraciones importantes, como fitoeno (1,0-2,9 mg/100g) y fitoflueno (0,2-1,6 mg/100g). Mientras que otros carotenoides coloreados, como el  $\gamma$ -caroteno, el  $\delta$ -caroteno, la luteína, el neurosporeno y el  $\alpha$ -caroteno se encuentran en menor concentración (Martí et al., 2016). Se ha de tener en cuenta que el valor de esta concentración dependerá en gran medida tanto del material genético como de las condiciones ambientales en las que se desarrolle el fruto. La distribución de la concentración no es regular a lo largo del fruto, el licopeno se concentra en mayor medida en el pericarpio mientras que el  $\beta$ -caroteno tiene más concentración en los lóculos de éste. (Cebolla-Cornejo et al., 2013)

En cuanto a la prevención de enfermedades, gracias a su actividad antioxidante, ayudan en la prevención de distintos tipos de cánceres, como por ejemplo el cáncer de próstata u otros, como pueden ser, cánceres de boca, faringe, laringe o pulmón. El  $\beta$ -caroteno en concreto protege contra el cáncer de esófago. (Martí et al., 2016)

### 1.3.3 POLIFENOLES

Los polifenoles son compuestos presentes en vegetales cuya característica principal es la presencia de más de un grupo fenol en su molécula. Se sabe por diferentes estudios que existe relación entre estos polifenoles y la prevención del cáncer, actuando sobre la iniciación y progreso de esta enfermedad (Martí et al., 2016). En tomate, los polifenoles se encuentran en el fruto en menor concentración con respecto a los carotenoides, presentando también una importante actividad antioxidante.

Los principales polifenoles presentes en tomate son los ácidos hidroxicinámicos, los flavanones, los flavonoles y las antocianinas. El polifenol que se encuentra en mayor concentración es la naringenin chalcona, pudiéndose encontrar en elevada concentración en tomate (hasta 18,2 mg/100 mg de peso fresco) (Slimestad et al., 2008). La quercetina es el principal flavonoide, pudiéndose encontrar concentraciones entre 0,7 y 4,4 mg/100g (Martínez-Valverde et al., 2002). Su forma glicosilada es la rutina que se encuentra en concentraciones muy similares al anterior (Slimestad et al., 2008) y se encarga de dar al tomate la coloración amarilla de la piel. Dentro de los ácidos hidroxicinámicos, el más importante en tomate es el clorogénico (1,4 mg-3,3 mg/100mg) (Martínez-Valverde et al., 2002).

Es importante tener en cuenta que, en tomate, la acumulación de los polifenoles depende del tejido (acumulándose principalmente en la piel) y del estado de madurez en el que se encuentre el fruto. (Muir et al., 2001; Stewart et al., 2000)

Al igual que en el caso de los carotenoides, la acumulación de estos compuestos se ve influenciada tanto por el genotipo como por las condiciones ambientales. También hay estudios que demuestran que esta concentración varía con la aplicación de distintos tratamientos o procesos que la podrán aumentar o disminuir. Además, en el caso de alimentos procesados, se ha observado que el contenido de estos compuestos se puede ver afectado, tanto favorable como desfavorablemente, dependiendo del método de procesado utilizado (revisado por Nicoli et al., 1999).

## **OBJETIVOS**

## **2. OBJETIVOS**

Inicialmente la mejora de la calidad de frutas y hortalizas iba encaminada a conseguir variedades más resistentes y productivas, sin importar el detrimento en calidad organoléptica que esto pudiera suponer. Cuando se hicieron oír las quejas de los consumidores por el escaso sabor y aroma que presentaban estos productos, la mejora de la calidad organoléptica tuvo un papel importante en los programas de mejora. Los importantes avances conseguidos en este campo, junto con la creciente preocupación del consumidor por mantener una alimentación sana que ayude a prevenir enfermedades relacionadas con el envejecimiento y el estrés oxidativo, ha convertido a la calidad funcional en objetivo de muchos de estos programas de mejora.

En el desarrollo de este tipo de programas es fundamental contar con una fuente de variación en la que se identifiquen contenidos elevados de los compuestos involucrados en el valor funcional. Este es el objetivo fundamental de este proyecto, identificar materiales promisorios entre una colección de materiales silvestres de *S. lycopersicum* (catalogados inicialmente como variedad *cerasiforme*) colectados y mantenidos en la Universidad Mayor de San Simón (UMSS) de Bolivia. Para ello se abordarán los siguientes objetivos parciales:

- Evaluación del contenido en los principales carotenoides de la colección de la UMSS de tomate *cerasiforme* mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Evaluación del contenido en ácido L-ascórbico de la colección de la UMSS de tomate *cerasiforme* mediante electroforesis capilar (CE).

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1 MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

En el ensayo se han utilizado un total de 22 entradas de *Solanum lycopersicum*. (Tabla 1), clasificadas como variedad *cerasiforme* por la Universidad Mayor de San Simón (UMSS). De estas entradas cuatro fueron cedidas por el Centro Nacional de Producción de Semillas de Hortalizas (CNSPH) de Bolivia y el resto fueron colectadas por la UMSS, manteniéndose todas ellas en la colección de dicha universidad. Además, se han incluido cuatro controles. La variedad Galilea, híbrido comercial de la casa *Hazera Latin America*, se utilizó como control comercial por su aceptación en la zona de Bolivia de procedencia del resto de materiales. La entrada CDP4777 es una entrada silvestre de la variedad *cerasiforme* que destaca por su alto contenido en vitamina C (Roselló et al., 2011). La entrada LA3538 se empleó como control por ser portadora del gen *high pigment*, *hp<sup>1</sup>*, (TGRC, 2017) relacionado con la mayor acumulación de carotenoides y vitamina C (Jarret et al., 1984; Long et al., 2006). La línea de mejora Fortuna C se empleó como control de contenido estándar en tomate de estos compuestos en España.

Las entradas fueron cultivadas al aire libre en la parcela de cultivo de la Universitat Jaume I de Castellón (España) en ciclo de primavera-verano. Las plantas se fertirrigaron siguiendo las prácticas habituales para el cultivo del tomate en la zona. No hubo incidencia reseñable de enfermedades. Se empleó un diseño de parcelas elementales de cuatro plantas por entrada distribuidas al azar.

#### **3.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS**

Se recolectaron entre tres y diez frutos (dependiendo del tamaño del fruto que presentaba cada entrada) por planta en estado rojo maduro. Para minimizar las variaciones dentro de la planta, la recolección se hizo únicamente del segundo al tercer racimo.

Los frutos recolectados fueron triturados a baja temperatura en un homogeneizador SilentCrusher M (Heidolph Instruments GmbH y Co. KG, Alemania), obteniéndose una muestra homogénea por planta. Las muestras fueron almacenadas a -80°C hasta su posterior análisis.

**Tabla 1.** Procedencia de los materiales evaluados.

<b>Entrada</b>	<b>Departamento</b>	<b>Provincia</b>	<b>Sitio colecta</b>
CH36		CNSPH <sup>1</sup>	
CH50		CNSPH <sup>1</sup>	
CH56		CNSPH <sup>1</sup>	
CH105		CNSPH <sup>1</sup>	
JGC189	La Paz	Nor Yungas	Carmenpampa
JGC195	La Paz	Sud Yungas	Chulumani
JGC202	La Paz	Sud Yungas	Chicaloma
RMA205	La Paz	Sud Yungas	Irupana
JGC196	La Paz	Sud Yungas	Chulumani
JGC201	La Paz	Sud Yungas	Chicaloma
RMA208	La Paz	Sud yungas	Irupana
RMA218	La Paz	Sud yungas	Chicachorapata
JDR122	La Paz	Nor Yungas	Coroico
RMA217	La Paz	Sud Yungas	Chicachoropata
JDR101	Beni	Ballivian	Rio Colorado
HMR110	La Paz	Sud Yungas	Tucupi
JDR111	La Paz	Nor Yungas	Coroico
JDR114	La Paz	Sud Yungas	Covendo
JDR118	La Paz	Nor Yungas	Carmenpampa
HMR131	La Paz	Nor Yungas	Cruz Loma
HMR105	Beni	Ballivian	25 de Julio
JGC182	La Paz	Nor Yungas	Coroico
Galilea F1		<i>Hazera Latin America</i>	
CDP4777		COMAV <sup>2</sup>	
LA3538		TGRC <sup>3</sup>	
Fortuna C		COMAV <sup>2</sup>	

<sup>1</sup> Semilla donada por el Centro Nacional de Producción de Semillas de Hortalizas (CNSPH) de Bolivia a la UMSS

<sup>2</sup> Banco de Germoplasma del Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), España

<sup>3</sup> Tomato genetics Resource Center (TGRC), EE.UU.

### 3.3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS

#### 3.3.1 CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO EN CAROTENOIDES

La extracción de los carotenoides se llevó a cabo mediante la metodología descrita por Olives et al., 2006, con algunas modificaciones. Se pesaron 500 mg de muestra en un tubo de vidrio de 15 mL y se le añadieron 8 mL de etanol y 6 mL de hexano con 0.1% de BHT (p/v). A continuación, y en oscuridad para evitar la degradación de los carotenoides, se introdujeron los tubos en un baño de ultrasonidos Elmasonic S30H (Elma Electronics AG, Wetzikon, Suiza) a una frecuencia de 60 Hz durante 15 minutos. Una vez transcurrido ese tiempo, se agitaron los tubos en un agitador horizontal STR6 (Bibby Sterlin LTD, Stone, Staffordshire, UK) durante otros 30 minutos a 4°C en oscuridad. A continuación, se añadió 1 mL de agua mili-Q y se dejó reposar en oscuridad durante 10 minutos para ayudar a que se separaran las fases. Seguidamente se recogió la fase orgánica superior (carotenoides en hexano) con una micropipeta y se transvasaron a un tubo de vidrio. Finalmente, los extractos recogidos se evaporaron a sequedad en un evaporador SpeedVac RVT4104 (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EEUU) y se guardaron a -18°C. Con el fin de asegurar la completa extracción de los carotenoides se repitió la extracción, volviéndose a añadir 6 mL de hexano con 0.1% BHT al tubo de vidrio con la muestra. Se introdujeron durante 15 minutos en el baño de ultrasonidos y a continuación se mantuvieron 24 horas en agitación horizontal a 4°C en oscuridad. Pasadas estas 24 horas se volvió a recoger el hexano de la fase superior siguiendo el mismo procedimiento. Sin embargo, esta vez el hexano se recogió en el tubo de vidrio guardado a -18°C con los carotenoides a sequedad de la primera parte de la extracción y se volvió a evaporar a sequedad en el SpeedVac. Finalmente, los carotenoides se redisolviéron en 0.5 mL de hexano con 0.1% BHT y se guardaron en viales opacos a -18°C hasta su análisis. Previo al análisis por HPLC se filtraron las muestras a través de filtros de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0.2µm de tamaño de poro.

La separación y cuantificación de los carotenoides se llevó a cabo con un HPLC serie 1200 de Agilent (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania), equipado con un desgasificador, una bomba cuaternaria, un muestreador automático, un compartimento de columna termostatazado y un detector de matriz de diodos (DAD). Se utilizó una columna cromatográfica Kinetex-XB C18 de núcleo fundido (150 mm de longitud x 4,6 mm de diámetro interno) y tamaño de partícula de 2,6µm de Phenomenex (Torrance, CA, EE.UU.). El análisis cromatográfico se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Olives et al., 2006, con algunas modificaciones. El flujo utilizado fue de 1.2ml/min y el volumen de inyección de la muestra fue de 10µl. La temperatura de la columna se mantuvo durante todo el análisis a 30°C. Las fases móviles utilizadas fueron acetonitrilo (ACN), metanol (MeOH) y hexano (Hx). Las concentraciones de ACN y MeOH (10%



y 90% respectivamente) se mantuvieron isocráticas hasta el minuto 20. En el minuto 21 se aumentó la concentración de Hx al 100% y se mantuvo hasta el minuto 26 en el que se recuperaron las condiciones iniciales (10% ACN y 90% MeOH) y se mantuvieron hasta el minuto 30. De esta forma, se preparan las condiciones del equipo para la inyección de la siguiente muestra. Cada muestra se inyectó por duplicado para así obtener un valor medio de cada determinación analítica. Finalmente, la detección y cuantificación de los carotenoides se realizó usando el detector DAD a diferentes longitudes de onda en función de cada carotenoide. En ese sentido, se utilizó 470nm para el licopeno y 445nm para el  $\beta$ -caroteno y la luteína.

### **3.3.2 CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO EN ACIDO L-ASCÓRBICO.**

La extracción de ácido L-ascórbico (vitamina-C) se llevó a cabo siguiendo el método de Electroforesis Capilar Zonal propuesto por Galiana-Balaguer et al. (2001) con ciertas modificaciones.

Las muestras homogeneizadas fueron centrifugadas a 13200rpm durante 5 minutos usando una centrífuga 5415R (Eppendorf, Hauppauge, NY, USA). El sobrenadante obtenido se diluyó a la mitad añadiendo 200 $\mu$ L de ácido metafosfórico y 300 $\mu$ L de ácido benzoico. El ácido metafosfórico se añadió para evitar la oxidación de la vitamina C, mientras que el ácido benzoico se utilizó como patrón interno para corregir posibles variaciones en la concentración debidas a errores analíticos. La muestra obtenida fue filtrada utilizando un filtro de acetato de celulosa de 0.2 $\mu$ m de poro antes de ser analizada.

La cuantificación del ácido L-ascórbico se llevó a cabo utilizando un equipo de Electroforesis Capilar Agilent Technologies 7100 (Waldronn, Alemania) equipado con un detector de matriz de diodos. Se utilizó capilar de sílice fundida con una longitud total de 68cm (60cm de longitud efectiva), un diámetro externo de 375 $\mu$ m y 50 $\mu$ m de diámetro interno, de la marca Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA). Antes de ser utilizado por primera vez, el capilar fue acondicionado a 50°C con NaOH 1M durante 5 minutos seguido de 5 minutos de NaOH 0.1M y, por último, agua durante 10 minutos. Antes de cada secuencia de trabajo, el capilar fue lavado a 25°C con NaOH 0.1M durante 10 minutos seguido de tampón de carrera durante 30 minutos. Entre muestras, el capilar fue lavado con SDS durante 3 minutos, seguido de agua milli-Q (1 minuto) y tampón de carrera (3 minutos).

El tampón de carrera consistió en una disolución de 600mM de ácido bórico con 1g/L de HDM, ajustada a pH 8. Este tampón se preparó diariamente. Todos los reactivos y preparaciones fueron

filtrados por medio de un filtro de acetato de celulosa de 0.2 $\mu$ m de poro antes de ser inyectados en el equipo.

La inyección se llevó a cabo hidrodinamicamente a una presión de 34 mbar durante 10 segundos. Se aplicó un voltaje de -20kV a 25°C. La detección y cuantificación se realizó a una longitud de onda de 265nm.

La cuantificación del ácido L-ascórbico se realizó utilizando una recta de regresión lineal obtenida por medio del análisis de seis niveles de concentración de vitamina C, comprendidos entre 5 y 200ppm (coeficiente de determinación superior a 0.99). Con la integración de los electroferogramas de cada muestra y la ayuda de la recta patrón de referencia se obtuvieron los contenidos de vitamina C de las distintas entradas. Cada muestra se analizó dos veces, obteniéndose el promedio de los valores obtenidos. Los resultados se expresaron como mg por 100g de peso fresco.

### **3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El efecto del genotipo en el contenido de cada uno de los compuestos estudiados se realizó por medio de ANOVAs individuales con el programa StatGraphics Centurion XVI (Statgraphics.Net, Madrid, España). Cuando se observó la presencia de diferencias significativas, se aplicó el test de separación de medias de Tuckey ( $p=0,05$ ). Las correlaciones entre variables se calcularon empleando el mismo software.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El ensayo se desarrolló con normalidad sin incidencias reseñables, pudiéndose cuantificar los contenidos en los principales carotenoides, licopeno,  $\beta$ -caroteno y luteína y en el componente mayoritario de la vitamina C, el ácido L-ascórbico. Aunque inicialmente se consideró analizar los contenidos en los principales polifenoles, finalmente se decidió no esperar a incluir estas determinaciones en el presente proyecto, al haberse cumplido las exigencias formativas del trabajo final de grado.

### **4.1. EVALUACIÓN DEL CONTENIDO EN CAROTENOIDES**

Entre las entradas evaluadas se observó un elevado grado de variación entre entradas para el contenido en carotenoides, llegando a obtenerse diferencias de casi 10 veces en el contenido. Así, el licopeno, con contenidos entre 9,3 y 97,8 mg kg<sup>-1</sup>, seguido del  $\beta$ -caroteno, con concentraciones entre 5,7 y 33,7 8 mg kg<sup>-1</sup> y la luteína, con contenidos entre 0,2 y 1,8 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla 2). El efecto del genotipo, fue claramente significativo en los tres carotenoides (ANOVA,  $p < 0.05$ ).

El coeficiente de variación porcentual para los promedios de las entradas fue del 51% en el caso del licopeno, del 42% en  $\beta$ -caroteno y del 41% para la luteína. Dentro de entrada los niveles de variación fueron más restringidos. No obstante, en determinadas entradas se obtuvieron coeficientes de variación porcentuales por encima del 30% (Tabla 2). Sería el caso de las entradas CH36, JCG196 y JDR114. Dado que los materiales colectados eran silvestres y que este tipo de materiales tienen mayor tendencia a presentar el estigma exerto (Peralta et al., 2008), no se puede descartar que estas poblaciones derivaran de cruces espontáneos que siguen segregando.

No obstante, también hay que tener en cuenta que la variedad Galilea presentó un coeficiente de variación porcentual para el contenido en licopeno de 36% y para la luteína del 121%. Tratándose de un híbrido y ser supuestamente uniforme genéticamente no puede descartarse una importante variación microambiental, si bien en buena parte de las entradas analizadas los niveles de variación intra poblacional fueron menores.

En cualquier caso, las importantes diferencias en los niveles de variación dentro de entrada hace que los análisis estadísticos realizados deban interpretarse con cuidado, al no cumplirse el requisito de homocedasticidad.

**Tabla 2.** Contenidos (mg kg<sup>-1</sup> peso fresco) y nivel de variación en los principales carotenoides de las entradas evaluadas (medias ± e.s.). Letras distintas implican diferencias significativas (Tukey, p<0,05).

Entrada	<i>b</i> -caroteno		Licopeno		Luteína	
	Media ± e.s.	CV%	Media ± e.s.	CV%	Media ± e.s.	CV%
<b>RMA218</b>	28,5±2,1 <sup>def</sup>	13	97,8±13,2 <sup>e</sup>	23	1,2±0,1 <sup>cd</sup>	15
<b>RMA217</b>	27,2±2,8 <sup>cdef</sup>	18	83,0±25,1 <sup>cde</sup>	52	1,0±0,1 <sup>c</sup>	23
<b>RMA208</b>	20,3±1,4 <sup>bcdef</sup>	12	67,0±5,0 <sup>bcde</sup>	13	0,9±0,1 <sup>bc</sup>	13
<b>RMA205</b>	10,9±0,6 <sup>ab</sup>	9	66,9±9,1 <sup>bcde</sup>	24	0,8±0,1 <sup>abc</sup>	22
<b>JGC196</b>	20,3±4,5 <sup>bcdef</sup>	39	63,1±27,6 <sup>abcde</sup>	76	0,8±0,1 <sup>abc</sup>	12
<b>JDR114</b>	26,6±5,5 <sup>cdef</sup>	36	62,9±16,1 <sup>abcde</sup>	44	1,2±0,1 <sup>cd</sup>	18
<b>HMR105</b>	20,9±2,1 <sup>bcdef</sup>	17	60,2±15,3 <sup>abcde</sup>	44	1,2±0,1 <sup>cd</sup>	19
<b>JGC189</b>	21,7±1,3 <sup>bcdef</sup>	10	52,6±12,2 <sup>abcde</sup>	40	1,3±0,1 <sup>cd</sup>	6
<b>CH50</b>	20,6±1,4 <sup>bcdef</sup>	12	49,2±7,8 <sup>abcde</sup>	27	1,2±0,1 <sup>cd</sup>	9
<b>JGC195</b>	16,9±0,7 <sup>abc</sup>	7	48,5±10,0 <sup>abcde</sup>	36	1,1±0,1 <sup>c</sup>	10
<b>CH36</b>	26,1±9,6 <sup>cdef</sup>	63	43,3±26,4 <sup>abcde</sup>	106	1,8±0,5 <sup>d</sup>	51
<b>CH56</b>	26,0±3,5 <sup>cdef</sup>	23	43,2±11,6 <sup>abcde</sup>	47	1,0±0,1 <sup>c</sup>	13
<b>JGC202</b>	12,1±1,2 <sup>ab</sup>	17	40,5±4,7 <sup>abcd</sup>	20	1,2±0,1 <sup>cd</sup>	10
<b>CH105</b>	17,1±0,3 <sup>abcde</sup>	3	38,0±2,6 <sup>abcd</sup>	12	1,2±0,1 <sup>cd</sup>	15
<b>HMR131</b>	19,5±0,2 <sup>bcde</sup>	2	33,5±1,2 <sup>abcd</sup>	6	1,2±0,0 <sup>cd</sup>	3
<b>JDR118</b>	24,8±1,4 <sup>cdef</sup>	9	33,3±5,7 <sup>abcd</sup>	30	1,3±0,0 <sup>cd</sup>	4
<b>JDR111</b>	16,1±1,1 <sup>abcd</sup>	12	27,0±1,4 <sup>abc</sup>	9	0,9±0,1 <sup>bc</sup>	16
<b>JGC201</b>	19,2±0,8 <sup>bcde</sup>	7	26,7±0,8 <sup>abc</sup>	5	0,7±0,0 <sup>abc</sup>	10
<b>HMR110</b>	15,1±0,6 <sup>abc</sup>	7	24,4±0,7 <sup>ab</sup>	5	1,1±0,1 <sup>cd</sup>	13
<b>JGC182</b>	8,2±0,5 <sup>ab</sup>	11	9,6±0,1 <sup>a</sup>	1	0,6±0,0 <sup>abc</sup>	9
<b>JDR122</b>	6,2±0,2 <sup>a</sup>	7	9,3±0,1 <sup>a</sup>	1	0,2±0,1 <sup>a</sup>	57
<b>JDR101</b>	5,7±1,2 <sup>a</sup>	37	9,3±0,1 <sup>a</sup>	2	0,3±0,1 <sup>ab</sup>	47
<b>GALILEA</b>	6,1±0,8 <sup>a</sup>	24	84,6±17,5 <sup>de</sup>	36	0,5±0,4 <sup>abc</sup>	121
<b>CDP4777</b>	29,6±0,3 <sup>ef</sup>	1	30,5±5,3 <sup>abcd</sup>	30	0,6±0,1 <sup>abc</sup>	28
<b>LA3538</b>	33,7±0,8 <sup>f</sup>	4	36,8±1,4 <sup>abcde</sup>	6	0,7±0,1 <sup>abc</sup>	20
<b>FORTUNA C</b>	9,0±0,7 <sup>ab</sup>	14	35,0±7,1 <sup>abcd</sup>	35	0,2±0,1 <sup>a</sup>	44

### 4.1.1 $\beta$ -CAROTENO

El contenido máximo de  $\beta$ -caroteno, se encontró en los controles LA3538, CDP4777 y en la entrada RMA218, con contenidos respectivamente de 33,7, 29,6 y 28,5 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla 2). Todas ellas con niveles de variación bajos.

El control CDP4777 fue seleccionado en estudios anteriores con un material interesante por sus niveles de acumulación de ácido L-ascórbico y  $\beta$ -caroteno, por tanto, no es de extrañar que haya destacado. En estos estudios presentó contenidos entre 29 y 35 mg kg<sup>-1</sup> en función del ambiente (Roselló et al., 2011), contenidos similares a los obtenidos en el presente trabajo.

En tomate estándar, las concentraciones típicas de  $\beta$ -caroteno suelen estar por debajo de 12 mg kg<sup>-1</sup> (Martí et al., 2016), por lo que estas entradas casi triplicarían los contenidos habituales. Se encuentran, por lo tanto, muy por encima de la media y pueden tratarse de entradas con mucho interés a la hora de incluirlas en un programa de mejora genética de la calidad funcional.

En cuanto a las entradas con contenidos medios más bajos se encontraron JDR101, el control Galilea y JDR122 con concentraciones de 5,7 mg kg<sup>-1</sup>, 6,1 mg kg<sup>-1</sup> y 6,2 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 2), concentraciones que descartarían estas entradas en caso de que lo que se buscara fueran altos contenido en  $\beta$ -caroteno. Esta menor acumulación de  $\beta$ -caroteno no se acompaña de una mayor acumulación de licopeno, por lo que se descartaría la presencia de mutaciones que afecten a la licopeno  $\beta$ -ciclase como en el caso de los mutantes *old gold* y *old gold crimson* (Cebolla-Cornejo et al., 2013).

### 4.1.2 LICOPENO

En lo referido al licopeno, las tres entradas con mayor concentración fueron RMA218 seguida del control Galilea y la entrada RMA217, con concentraciones de 97,8 mg kg<sup>-1</sup>, 84,6 mg kg<sup>-1</sup> y 83,0 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 2). Aunque debido a los elevados niveles de variación, las diferencias de las dos últimas con otras entradas no fueron significativas. Así, si bien RMA218 presentó un coeficiente de variación porcentual contenido, 23%, las otras dos presentaron niveles mucho más elevados: 36% en el caso de Galilea y 52% en el caso de RMA217.

Estos contenidos son bajos, ya que los valores típicos de concentración de licopeno se encuentran entre los 78 hasta los 181 mg kg<sup>-1</sup> (Martí et al., 2016) por lo que en principio las entradas evaluadas no se podrían catalogar como concentraciones altas de este compuesto, estando dentro de los límites normales de concentración.

En cuanto a las entradas con contenidos medios más bajos se encontraron JDR101, la JDR122 y JGC182 con concentraciones de 9,3 mg kg<sup>-1</sup>, 9,3 mg kg<sup>-1</sup> y 9,6 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 2).

Hay que tener en cuenta, no obstante, que los contenidos de los controles CDP4777 y LA3538 fueron mucho menores que los detectados en estudios anteriores. Por ejemplo, en el estudio de Roselló et al. (2011) se detectaron contenidos de licopeno en CDP4777 entre 65 y 104 mg kg<sup>-1</sup>, que doblan o triplican a los 30,5 mg kg<sup>-1</sup> detectados en este estudio. Sin embargo, están más en la línea de estudios posteriores en los que se registraron valores entre 48,3 mg kg<sup>-1</sup> y 89,3 mg kg<sup>-1</sup> (Leiva-Brondo et al., 2016). En este último estudio el control LA3538 presentó contenidos de licopeno de entre 55,2 mg kg<sup>-1</sup> y 71,3 mg kg<sup>-1</sup>, que doblan los detectados en el presente trabajo.

Parece evidente pues que ha debido haber alguna anomalía en el presente estudio, probablemente debida a un efecto ambiental. De hecho, la influencia del ambiente en la acumulación de carotenoides ha sido muy estudiada. Se sabe que la acumulación de licopeno se da entre temperaturas de 12°C y 32-35°C (Leoni, 1991; Hamazu et al., 1998), con una franja de temperaturas óptima entre 22°C y 26°C (McCollum, 1954). Se sabe además que la acumulación de β-caroteno no está tan restringida y que con temperaturas superiores a 35°C en las que la síntesis de licopeno se paraliza, la ruta de síntesis continúa y se sigue obteniendo β-caroteno a expensas del remanente de licopeno (Hamazu et al., 1998). Por otro lado, niveles de radiación superiores a 650 Wm<sup>-2</sup> en periodos de 1,5 a 4 horas paraliza la biosíntesis de licopeno (McCollum, 1954; Baqar y Lee 1978).

Aunque en el presente trabajo no se disponía de sondas que pudieran confirmar el efecto ambiental, el hecho de haber obtenido contenidos relativamente bajos de licopeno y a la vez contenidos relativamente altos de β-caroteno en un cultivo al aire libre en ciclo de verano hace pensar que probablemente se dieron temperaturas estresantes que dieron lugar a ralentizar o paralizar la biosíntesis de carotenoides, aumentando la acumulación de β-caroteno a expensas de su sustrato en la ruta de síntesis: el licopeno. De ser así, sería interesante volver a comprobar el comportamiento de RMA218 en un nuevo ensayo, ya que comparativamente presentó contenidos mayores que el control LA3538. Esta entrada, es portadora del gen *hp-1*, que conlleva una mayor biogénesis de plastidios y acumulación global de carotenoides y se ha empleado en el desarrollo de las variedades *high pigment*, especialmente en el mercado de tomate de industria (Lahoz et al., 2016a y 2016b).

### 4.1.3 LUTEÍNA

La luteína en tomate presenta contenidos restringidos, ya que a partir de trans-licopeno la ruta biosintética de los carotenoides está dominada por la actividad licopeno β-ciclasa, presentando la

$\epsilon$ -ciclasea menos actividad (Cebolla-Cornejo et al., 2013). Así, en una variedad estándar como M82 se pueden detectar contenidos alrededor de  $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$  (Galpaz et al., 2006).

En el presente estudio las tres entradas más interesantes por su mayor concentración de luteína fueron JDR118, JGC189 y CH36 con concentraciones de  $1,3 \text{ mg kg}^{-1}$  las dos primeras y  $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$  la última (Tabla 2).

Sin embargo, la entrada con mayor concentración, CH36, presentó un coeficiente de variación porcentual muy elevado (51%). De hecho, no presenta diferencias significativas con sus más directas competidoras, que por otro lado presentaron niveles de variación más contenidos. Así, el coeficiente de variación porcentual para JDR118 fue del 4% y de JGC189 fue del 6%.

En las entradas con contenidos medios más bajos se encuentran JDR122, el control Fortuna C y JDR101 con concentraciones entre 0,2 y 0,3.

#### **4.1.4 CAROTENOIDES CUANTIFICADOS TOTALES**

Como se ha comentado, las entradas JDR122, JDR101 y el control Galilea presentaron contenidos bajos de luteína, licopeno y  $\beta$ -caroteno. De hecho, si analizamos el contenido total en carotenoides cuantificados, las entradas JDR122 y JDR101 presentan los menores contenidos totales (Tabla 3). Parece por tanto que la ruta de síntesis de los carotenoides en estos materiales se encontraría muy limitada en fases iniciales de la misma. Si bien estos materiales no tendrían interés para su uso en programas de mejora, lo cierto es que podrían resultar interesantes en el estudio de la regulación de la ruta de síntesis de los carotenoides.

Como se esperaba en función de análisis realizado para cada carotenoide por separado, las entradas con mayor acumulación de carotenoides cuantificados totales fueron RMA217 y RMA218 con medias de  $111,1 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $127,4 \text{ mg kg}^{-1}$  respectivamente. De las dos, RMA217 presentó un coeficiente de variación porcentual del 43% por lo que sería menos interesante que RMA218, que con un coeficiente de variación porcentual del 20% demostró ser mucho más estable y las diferencias entre ambas no fueron significativas.

Como se ha comentado en el apartado de licopeno, los contenidos obtenidos son más bien bajos, probablemente por efecto del ambiente. De hecho, un estudio más detallado de la partición de los carotenoides cuantificados totales (Tabla 4) refuerza esta idea.

Habitualmente el licopeno representa alrededor del 91% de los pigmentos totales de tomate y la relación entre licopeno y  $\beta$ -caroteno es de 14:1 (Davies y Hobson; 1981). Sin embargo, en las entradas evaluadas el licopeno representa como máximo el 76% de los carotenoides totales



cuantificados (Tabla 4). Además, la ratio entre licopeno y  $\beta$ -caroteno en la mayor parte de los casos es inferior a 1:4 y sólo en RMA205 llega a 1:6.

**Tabla 3.** Contenido en carotenoides cuantificados totales ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso fresco) incluyendo licopeno,  $\beta$ -caroteno y luteína (medias  $\pm$  e.s.). Letras distintas implican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Entrada	Carotenoides	
	Media $\pm$ e.s.	CV%
RMA218	127,5 $\pm$ 14,8 <sup>e</sup>	20
RMA217	111,2 $\pm$ 27,5 <sup>de</sup>	43
JDR114	90,7 $\pm$ 20,8 <sup>cde</sup>	40
RMA208	88,2 $\pm$ 6,3 <sup>cde</sup>	12
JGC196	84,3 $\pm$ 32,1 <sup>bcd</sup>	66
HMR105	82,3 $\pm$ 16,2 <sup>abcde</sup>	34
RMA205	78,6 $\pm$ 9,3 <sup>abcde</sup>	20
JGC189	75,6 $\pm$ 16,5 <sup>abcde</sup>	31
CH36	71,2 $\pm$ 36,4 <sup>abcde</sup>	89
CH50	71,0 $\pm$ 8,9 <sup>abcde</sup>	22
CH56	70,3 $\pm$ 14,9 <sup>abcde</sup>	37
JGC195	66,5 $\pm$ 10,4 <sup>abcde</sup>	27
JDR118	59,4 $\pm$ 7,4 <sup>abcd</sup>	22
CH105	56,3 $\pm$ 2,7 <sup>abcd</sup>	8
HMR131	54,2 $\pm$ 1,2 <sup>abcd</sup>	4
JGC202	53,7 $\pm$ 4,7 <sup>abcd</sup>	15
JGC201	46,6 $\pm$ 0,3 <sup>abcd</sup>	1
JDR111	44,1 $\pm$ 2,2 <sup>abc</sup>	9
HMR110	40,7 $\pm$ 1,1 <sup>abc</sup>	5
JGC182	18,4 $\pm$ 0,6 <sup>ab</sup>	6
JDR122	15,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	2
JDR101	15,3 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	15
GALILEA	91,3 $\pm$ 18,4 <sup>cde</sup>	35
CDP4777	60,8 $\pm$ 5,5 <sup>abcde</sup>	16
LA3538	71,3 $\pm$ 50,4 <sup>abcde</sup>	2
FORTUNA C	44,2 $\pm$ 7,2 <sup>abcd</sup>	28

Más allá de las bajas concentraciones de licopeno encontradas, el hecho de que la proporción de licopeno sea anormalmente baja y la de  $\beta$ -caroteno anormalmente alta refuerza la idea de que se dieran situaciones de temperatura (o incluso radiación) estresantes que paralizaran la síntesis de licopeno y que estimularan su conversión a  $\beta$ -caroteno. Por tanto, sigue siendo muy recomendable comprobar el comportamiento de la entrada RMA218 en un nuevo ambiente, ya que puede ser muy interesante como fuente de variación en programas de mejora del contenido en carotenoides.

**Tabla 4.** Distribución relativa del contenido en carotenoides cuantificados totales

<b>Entrada</b>	<b><math>\beta</math>-caroteno (%)</b>	<b>Licopeno (%)</b>	<b>Luteína (%)</b>
<b>RMA218</b>	23	76	1
<b>RMA217</b>	28	71	1
<b>RMA208</b>	23	76	1
<b>RMA205</b>	14	85	1
<b>JGC196</b>	29	70	1
<b>JDR114</b>	30	68	1
<b>HMR105</b>	27	72	2
<b>JGC189</b>	30	68	2
<b>CH50</b>	30	69	2
<b>JGC195</b>	26	72	2
<b>CH36</b>	42	55	3
<b>CH56</b>	39	59	2
<b>JGC202</b>	23	75	2
<b>CH105</b>	31	67	2
<b>HMR131</b>	36	62	2
<b>JDR118</b>	43	56	2
<b>JDR111</b>	37	61	2
<b>JGC201</b>	41	57	2
<b>HMR110</b>	37	60	3
<b>JGC182</b>	45	52	3
<b>JDR122</b>	40	59	1
<b>JDR101</b>	36	62	2
<b>GALILEA</b>	7	93	0
<b>CDP4777</b>	50	49	1
<b>LA3538</b>	47	52	1
<b>FORTUNA C</b>	21	78	0
<b>Media</b>	32	66	2

## 4.2 CONTENIDO EN VITAMINA C.

En tomate, la mayor parte de la vitamina C se encuentra en la forma de ácido L-ascórbico. Los contenidos en la forma oxidada ácido L-dehidroascórbico (DHA) o su producto de degradación, el ácido 1,3-dioxo-L-gulónico apenas representan un 13% del contenido total en ácido ascórbico (Davies y Hobson, 1981). Esto, junto con la dificultad de analizar los contenidos en DHA debido a su baja absorción en el UV justifica que la mayor parte de los estudios sobre vitamina C en esta especie se centren en la forma reducida.

Los contenidos habituales de ácido L-ascórbico en tomate se sitúan alrededor de los 200 mg kg<sup>-1</sup> (Gould, 2013). Por otro lado, la mejora de los contenidos en este compuesto ha sido exitosa en el pasado, llegándose a obtener contenidos entre 300 mg kg<sup>-1</sup> y 500 mg kg<sup>-1</sup> en el cultivar *Doublerich* desarrollado a partir de cruces con *Solanum peruvianum* L. (Watada et al., 1976; Stevens y Rick, 1986)

No obstante, los contenidos en este ácido al igual que los carotenoides se ven afectados por las condiciones ambientales, tanto de temperatura como de radiación (Murneek et al., 1954; Adegoroye y Jolliffe, 1987; Dumas et al., 2003). Pero además, el estrés oxidativo como el causado por condiciones de hipoxia, anoxia o altas temperaturas puede llevar a un consumo de ácido L-ascórbico por parte de la planta como sistema de protección (Ioannidi et al., 2009). Estos efectos pueden estar justificando los elevados niveles de variación en la acumulación del ácido L-ascórbico detectados en el presente estudio (Tabla 5) y que condicionan que apenas se observen diferencias significativas entre entradas, a pesar de que el efecto genotipo fue significativo (ANOVA,  $p < 0,05$ ).

En el presente estudio las entradas CH105, RMA205, así como el control LA3538 presentaron los mayores contenidos en ácido L-ascórbico, con contenidos medios de 351,8 mg kg<sup>-1</sup>, 371,2 mg kg<sup>-1</sup> y 374,9 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 5). Entre ellas, cabe destacar que los coeficientes de variación porcentual de CH105 y el control LA 3538 fueron relativamente bajos (18 y 17% respectivamente), mientras que RMA205, presentó mayor nivel de variación (33 %).

Estos niveles son similares a los encontrados en entradas promisorias en programas de cribado anteriores, que se situaron alrededor de los 350 mg kg<sup>-1</sup> (Leiva-Brondo et al., 2012). Por otro lado, son similares a los obtenidos en el control LA3538 portador del gen *hp-1*, que además de conducir a una mayor acumulación de carotenoides tiene como efecto secundario una mayor acumulación de vitamina C (Jarret et al., 1984). Por otro lado, son también similares a los encontrados en CDP4777, una entrada calificada como interesante fuente de variación para la mejora del contenido en L-ascórbico en estudios anteriores, con contenidos que oscilaron entre 250 mg kg<sup>-1</sup> y 346 mg kg<sup>-1</sup> en función del ambiente (Roselló et al., 2011). De hecho, en el presente estudio la entrada CH105 no presentó diferencias significativas con CDP4777 que presentó contenidos de

281,9 mg kg<sup>-1</sup>. No obstante hay que considerar que el control Fortuna C presentó contenidos que doblan los habituales en esta línea de referencia, que en el mejor de los casos se sitúan en 91,7 mg kg<sup>-1</sup> (Leiva-Brondo et al., 2011).

**Tabla 5.** Acumulación de ácido L-ascórbico en las entradas evaluadas, mg kg<sup>-1</sup> peso fresco (medias mg kg<sup>-1</sup> error estándar). Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, p<0,05). n.c.: < límite de cuantificación).

<b>Entrada</b>	<b>Vitamina C media ± e.s.</b>	<b>CV%</b>
<b>RMA205</b>	371,2±69,8 <sup>f</sup>	33
<b>CH105</b>	351,8±37,2 <sup>ef</sup>	18
<b>HMR131</b>	335,8±52,5 <sup>def</sup>	27
<b>RMA208</b>	319,9±46,0 <sup>def</sup>	25
<b>CH50</b>	287,6±21,5 <sup>cdef</sup>	13
<b>CH36</b>	285,1±42,2 <sup>cdef</sup>	26
<b>RMA218</b>	282,4±34,2 <sup>cdef</sup>	21
<b>JDR101</b>	279,3±23,3 <sup>cdef</sup>	14
<b>JGC189</b>	254,2±85,3 <sup>bcdef</sup>	16
<b>JDR118</b>	244,9±105,9 <sup>bcdef</sup>	75
<b>JGC202</b>	211,4±24,5 <sup>abcdef</sup>	20
<b>JGC195</b>	203,9±40,8 <sup>abcdef</sup>	72
<b>JDR111</b>	176,4±20,7 <sup>abcdef</sup>	20
<b>HMR105</b>	176,2±50,3 <sup>ef</sup>	49
<b>JGC196</b>	151,6±67,6 <sup>abcdef</sup>	77
<b>JGC201</b>	148,6±33,3 <sup>abcdef</sup>	39
<b>RMA217</b>	146,8±42,7 <sup>abcdef</sup>	50
<b>JDR114</b>	143,1±66,2 <sup>abcdef</sup>	80
<b>JGC182</b>	134,9±31,3 <sup>abcde</sup>	40
<b>JDR122</b>	119,6±54,0 <sup>abcd</sup>	78
<b>CH56</b>	31,6±24,6 <sup>ab</sup>	135
<b>HMR110</b>	n.c. <sup>a</sup>	n.c.
<b>GALILEA</b>	83,2 ±51,6 <sup>abc</sup>	107
<b>CDP4777</b>	281,9±51,9 <sup>cdef</sup>	32
<b>LA3538</b>	374,9±37,8 <sup>ef</sup>	17
<b>FORTUNA C</b>	246,3±35,4 <sup>bcdef</sup>	25

### 4.3 ANÁLISIS DE CORRELACIONES

Se llevó a cabo un análisis de correlaciones en la acumulación de los compuestos evaluados para sopesar las posibilidades de selección conjunta (Tabla 6). Se observó una relación significativa entre los contenidos de carotenoides.  $\beta$ -caroteno y licopeno presentaron un coeficiente de correlación de 0,47, luteína con licopeno de 0,36 y luteína con  $\beta$ -caroteno de 0,57. Este resultado es de esperar ya que los carotenoides derivan de la misma ruta metabólica.

Sin embargo, la acumulación de ácido L-ascórbico no se correlacionó con ninguno de los carotenoides. En otros estudios se han observado elevadas correlaciones genéticas (que no fenotípicas) entre el ácido L-ascórbico y el  $\beta$ -caroteno, pero lo cierto es que este tipo de relaciones dependen mucho de los materiales evaluados y su capacidad de acumulación conjunta.

En cualquier caso, es importante señalar que la entrada RMA218 presentó niveles de ácido L-ascórbico de 282,4 mg kg<sup>-1</sup>, sin diferencias significativas con los controles de alto contenido en este compuesto y que además podría ser interesante por su mayor acumulación de licopeno, por lo que se añade mayor interés sobre este material.

**Tabla 6.** Correlaciones entre los distintos compuestos cuantificados. ns: no significativo  $p > 0,05$ .

	Ácido ascórbico	L- $\beta$ -caroteno	Licopeno	Luteína
Ácido L-ascórbico				
$\beta$ -caroteno	0,10ns			
Licopeno	-0,10ns	0,47		
Luteína	0,15ns	0,57	0,36	

## **CONCLUSIONES**

## **5. CONCLUSIONES**

Las entradas de tomate evaluadas en este estudio han presentado un elevado rango de variación interpoblacional en la acumulación de carotenoides (licopeno,  $\beta$ -caroteno y luteína) y ácido L-ascórbico. Además, algunas de las entadas evaluadas también presentaban elevada variabilidad intrapoblacional. Al tratarse de especies silvestres, no se puede descartar que se hubieran dado cruces espontáneos y que estas entradas estuvieran segregando.

Las concentraciones de licopeno obtenidas son relativamente bajas, considerando el comportamiento de los controles. El hecho de que la proporción relativa de licopeno en los carotenoides cuantificados totales sea anormalmente baja y la de  $\beta$ -caroteno anormalmente alta parece indicar que se podría haber dado estrés por elevada temperatura, que conlleva la paralización de la síntesis de licopeno y la estimulación de su conversión a  $\beta$ -caroteno.

En todo caso, la entrada RMA218 destacó por su acumulación de carotenoides cuantificados totales, especialmente licopeno ( $97,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y  $\beta$ -caroteno ( $28,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ), con niveles reducidos de variación intrapoblacional (23% y 13% respectivamente).

Adicionalmente, la entrada RMA217 también destacó por la acumulación de licopeno ( $83,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ), aunque con elevada variabilidad intrapoblacional (53%). Por otra parte, las entradas CH36, JDR118 y JCG189 destacaron por su acumulación de luteína ( $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $1,3 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $1,3 \text{ mg kg}^{-1}$  respectivamente), aunque la primera presentó niveles de variación intrapoblacional demasiado elevados (51%, 4% y 6% respectivamente). No obstante, la acumulación de luteína no superó el 3% de los carotenoides cuantificados totales.

Las entradas RMA205 y CH105 destacaron por la acumulación de ácido L-ascórbico con contenidos medios de  $371,2 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $351,8 \text{ mg kg}^{-1}$  respectivamente, presentando menor variación intrapoblacional la primera (18% frente a 33%).

No se observó correlación entre el contenido en carotenoides y del ácido L-ascórbico. Sin embargo, la entrada RMA218 que destacó por sus mayores niveles de carotenoides, presentó niveles estables ( $\text{CV}\%=21\%$ ) y elevados de ácido L-ascórbico ( $282,4 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Aunque el comportamiento de las mejores entradas debe comprobarse en un segundo ensayo para valorar el efecto ambiental, los resultados obtenidos indican de momento su valor como fuentes de variación para la mejora del valor funcional del tomate.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## **6. REFERENCIAS.**

- Adegoroye, A. S., y Jolliffe, P. A. (1987). Some inhibitory effects of radiation stress on tomato fruit ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 39(4), 297-302.
- Baqar, M. R., y Lee, T. H. (1978). Interaction of CPTA and high temperature on carotenoid synthesis in tomato fruit. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 88(5), 431-435.
- Blanca, J., Montero-Pau, J., Sauvage, C., Bauchet, G., Illa, E., Díez, M. J., y Cañizares, J. (2015). Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. *BMC genomics*, 16(1), 257.
- Bouma, J., Varallyay, G., y Batjes, N. H. (1998). Principal land use changes anticipated in Europe. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 67(2), 103-119.
- 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(3), 187-195.
- Cebolla-Cornejo, J., Roselló, S., y Nuez, F. (2013). Selection of tomato rich in nutritional terpenes. In *Natural products* (pp. 2853-2881). Springer Berlin Heidelberg.
- Cebolla-Cornejo, J., Soler, S. y Nuez, F. (2012). 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(2), 113-128.
- Davies, J.N., Hobson, G.E. (1981). The constituents of tomato fruit: the influence of environment, nutrition and genotype. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15, 205-280.
- Di Matteo, A., Sacco, A., Anacleria, M., Pezzotti, M., Delledonne, M., Ferrarini, A., y Barone, A. (2010). The ascorbic acid content of tomato fruits is associated with the expression of genes involved in pectin degradation. *BMC plant biology*, 10(1), 163.
- Dumas, Y., Dadomo, M., Di Lucca, G., y Grolier, P. (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 369-382.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2017). FAOSTAT. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S> [consulta: mayo 2017].
- Galiana-Balaguer, L., Roselló, S., Herrero-Martinez, J. M., Maquieira, A., y Nuez, F. (2001). Determination of L-ascorbic acid in *Lycopersicon* fruits by capillary zone electrophoresis. *Analytical biochemistry*, 296(2), 218-224.

- Galpaz, N., Ronen, G., Khalifa, Z., Zamir, D., y Hirschberg, J. (2006). A chromoplast-specific carotenoid biosynthesis pathway is revealed by cloning of the tomato white-flower locus. *The Plant Cell*, 18(8), 1947-1960.
- García-Closas, R., Berenguer, A., Tormo, M. J., Sánchez, M. J., Quiros, J. R., Navarro, C., ... y Ardanaz, E. (2004). Dietary sources of vitamin C, vitamin E and specific carotenoids in Spain. *British Journal of Nutrition*, 91(06), 1005-1011.
- Gould, W. A. (2013). *Tomato production, processing and technology*. Elsevier.
- Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., y Faria, J. A. (2010). Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(3), 292-302.
- Hamazu, Y., Chachin, K., y Ueda, Y. (1998). Effect of postharvest storage temperature on the conversion of 14C-mevalonic acid to carotenes in tomato fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 67(4), 549-555.
- Hamner, K. C., Bernstein, L., y Maynard, L. A. (1945). Effects of light intensity, day length, temperature, and other environmental factors on the ascorbic acid content of tomatoes. *Journal of Nutrition*, 29, 85-97.
- Hanson, P. M., Yang, R. Y., Wu, J., Chen, J. T., Ledesma, D., Tsou, S. C., y Lee, T. C. (2004). Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(5), 704-711.
- Ioannidi, E., Kalamaki, M. S., Engineer, C., Pateraki, I., Alexandrou, D., Mellidou, I., ... y 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*, ern322.
- Jarret, R. L., Sayama, H., y Tigchelaar, E. C. (1984). Pleiotropic effects associated with the chlorophyll intensifier mutations high pigment and dark green in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*.
- Lahoz, I., Leiva-Brondo, M., Martí, R., Macua, J. I., Campillo, C., Roselló, S., y Cebolla-Cornejo, J. (2016). Influence of high lycopene varieties and organic farming on the production and quality of processing tomato. *Scientia Horticulturae*, 204, 128-137.
- Lahoz, I., Pérez-de-Castro, A., Valcárcel, M., Macua, J. I., Beltrán, J., Roselló, S., y Cebolla-Cornejo, J. (2016). Effect of water deficit on the agronomical performance and quality of processing tomato. *Scientia Horticulturae*, 200, 55-65.
- Lefebvre, M., Langrell, S. R., y Gomez-y-Paloma, S. (2015). Incentives and policies for integrated pest management in Europe: a review. *Agronomy for sustainable development*, 35(1), 27-45.

- Leiva-Brondo, M., Valcárcel, M., Cortés-Olmos, C., Roselló, S., Cebolla-Cornejo, J., y Nuez, F. (2012). Exploring alternative germplasm for the development of stable high vitamin C content in tomato varieties. *Scientia horticulturae*, 133, 84-88.
- Leiva-Brondo, M., Valcarcel, M., Martí, R., Roselló, S., y Cebolla-Cornejo, J. (2016). New opportunities for developing tomato varieties with enhanced carotenoid content. *Scientia Agricola*, 73(6), 512-519.
- Leoni, C. (1991). Industrial quality as influenced by crop management. In *IV International Symposium on Processing Tomatoes 301* (pp. 177-184).
- Long, M., Millar, D. J., Kimura, Y., Donovan, G., Rees, J., Fraser, P. D., ... y Bolwell, G. P. (2006). Metabolite profiling of carotenoid and phenolic pathways in mutant and transgenic lines of tomato: identification of a high antioxidant fruit line. *Phytochemistry*, 67(16), 1750-1757.
- MAPAMA, Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (2017). Material vegetal: El tomate. <http://www.mapama.gob.es/app/MaterialVegetal/fichaMaterialVegetal.aspx?idFicha=2193> [consultado mayo 2017]
- Martí, R., Roselló, S., y Cebolla-Cornejo, J. (2016). Tomato as a source of carotenoids and polyphenols targeted to cancer prevention. *Cancers*, 8(6), 58..
- Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., Provan, G., y 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(3), 323-330.
- Matthioli, P.A. (1544). *Di Pedacio Dioscoride Anazrbeo libri cinque della historia, et materia medicinale tordote in lengua volgare Italiana*. Venecia. Italy.
- McCollum, J.P. (1954). Effects of light on the formation of carotenoids in tomato fruits. *Journal of Food Science*, 19(1-6), 182-189.
- Muir, S. R., Collins, G. J., Robinson, S., Hughes, S., Bovy, A., De Vos, C. R., ... y Verhoeven, M. E. (2001). Overexpression of petunia chalcone isomerase in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols. *Nature biotechnology*, 19(5), 470-474.
- Murneek, A. E., Maharg, L., y Wittwer, S. H. (1954). Ascorbic acid (vitamin C) content of tomatoes and apples. *Ascorbic acid (vitamin C) content of tomatoes and apples*.
- Nicoli, M. C., Anese, M., y Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science y Technology*, 10(3), 94-100.
- Nuez, F. (1995). *El cultivo del tomate*. Mundi-Prensa. Madrid, España.

- Olives, A.I., Cámara, M., Sánchez-Mata, M., Fernández-Ruiz, V. y López, M. (2006). Application of a UV–vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and  $\beta$ -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95(2), 328-336.
- Peralta, I. E., Spooner, D. M., y Knapp, S. (2008). Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae). *Systematic botany monographs*, 84.
- Roselló, S., Adalid, A. M., Cebolla-Cornejo, J., y 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(6), 1014-1021.
- Shewfelt, R.L. (1999). What is quality?. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3), 197-200.
- Slimestad, R., Fossen, T., y Verheul, M. J. (2008). The flavonoids of tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2436-2441.
- Stevens, M. A., y Rick, C. M. (1986). Genetics and breeding. In *The tomato crop* (pp. 35-109). Springer Netherlands.
- Stewart, A. J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G. I., Lean, M. E., y Crozier, A. (2000). Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(7), 2663-2669.
- TGRC, Tomato Genetics Resource Center. Accessions database: LA3538. <http://tgrc.ucdavis.edu/Data/Acc/dataframe.aspx?start=AccSearch.aspx&navstart=nav.html> [consultado junio 2017]
- Villafranca, R. R., y Ramajo, L. R. Z. (2013). *Métodos estadísticos para Ingenieros*. Editorial Universitat Politècnica de València.
- Watada, A. E., Aulenbach, B. B., y 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(4), 856-858.
- Weaver, R.D., Luloff, A.E. (1992). Willingness-to-Pay. *Agribusiness*, 8(2), 131-142.