

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Valter Filipe Reis Martins

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança
para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança
Alimentar*

Orientado por

Ana Maria Carvalho

Filomena Alexandra dos Santos Rocha

**Bragança
2017**

Este projeto foi realizado no âmbito do Programa PEPAC, Estágios profissionais na administração central do estado, 3ª edição 2015 e no âmbito do programa PT2020, FCT e ao FEDER, de apoio financeiro ao CIMO (UID/AGR/00690/2013).

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Agradecimentos

Gostaria de lhes agradecer a sua valiosa colaboração, disponibilidade e o apoio irrefutável no desenvolvimento desta dissertação de Mestrado, sem esse apoio seria impossível a concretização do trabalho.

À Professora Doutora Ana Maria Carvalho, a paciência, empenho, experiência e conhecimentos que me orientaram.

À Eng^a. Filomena Rocha, o trabalho árduo, dedicação e conhecimentos transmitidos.

À Eng^a. Ana Barata a possibilidade de realização da dissertação, a sua atenção e incentivo prestado.

Ao professor doutor Luís Nunes a paciência e empenho na aplicação dos conhecimentos transmitidos.

Nesta dissertação foram vários os intervenientes que colaboraram direta e indiretamente na realização, os quais merecem o meu reconhecimento e gratidão, entre eles todos os funcionários do Banco Português de Germoplasma Vegetal nomeadamente ao Eng. Carlos Gaspar, ao Sr. Jorge, à Sra. Maria, à Sra. Eugénia e à Sra. Constança.

Um muito obrigado também ao staff do Laboratório de Química e Bioquímica Aplicada da Escola Superior Agrária de Bragança nomeadamente à Professora Doutora Isabel Ferreira, à Doutora Lillian Barros e ao Doutor José Pinela pela sua orientação e experiência.

Índice

Índice de figuras	vii
Índice de tabelas	ix
Lista de siglas e fórmulas químicas	xiii
Resumo	xv
Abstract	xvi
Introdução.....	1
Conservação de recursos genéticos de tomate	3
Objetivos	9
Justificação do tema da dissertação.....	10
1 - Aspetos da cultura do tomate	11
1.1 História do aparecimento e domesticação da espécie <i>Solanum lycopersicum</i> L.	13
1.2 Classificação taxonómica e caracterização morfológica	14
1.3 Condições edafoclimáticas no cultivo	16
1.4 Caracterização química e valor nutricional	18
1.5 Avaliação dos principais compostos bioativos	20
1.5.1 Carotenoides	20
1.5.2 Vitaminas	21
1.5.3 Compostos fenólicos	22
1.6 Espécies reativas e atividade antioxidante	23
2 - Material e métodos	27
2.1 Caracterização morfológica e avaliação agronómica	29
2.2 Lista de descritores morfológicos e agronómicos utilizados	31
2.3 Caracterização nutricional e propriedades bioativas	33
2.3.1 Preparação das amostras correspondentes aos frutos maduros	33
2.3.2 Preparação das amostras correspondentes aos sub-produtos da cultura	34
2.3.3 Composição centesimal	34
2.3.3.1 Teor de humidade	34
2.3.3.2 Determinação da proteína bruta	35
2.3.3.3 Determinação do teor em gordura	36
2.3.3.4 Determinação do teor de cinzas	36
2.3.3.5 Determinação do teor em hidratos de carbono	37
2.3.3.6 Determinação do valor energético	37
2.3.4 Açúcares individuais	37
2.3.5 Ácidos gordos	38
2.3.6 Ácidos Orgânicos	39
Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.	

2.3.7 Tocoferóis.....	40
2.3.8 Determinação de carotenoides (licopeno e β -caroteno) e de clorofilas (A; B).....	41
2.4 Propriedades antioxidantes	41
2.4.1 Preparação dos extratos.....	42
2.4.2 Atividade captadora de radicais livres DPPH	42
2.4.3 Poder redutor.....	43
2.4.4 Fenóis e flavonoides totais	43
3 - Resultados e discussão	47
3.1 Caracterização morfológica e avaliação agronômica	49
3.1.1 Análise da importância das variáveis (descritores) para a diferenciação entre os acessos.....	57
3.1.2 Análise de componentes principais (PCA)	58
3.1.3 Análise de Cluster (Distâncias Euclidianas)	62
3.2. Caracterização nutricional e propriedades bioativas	64
3.2.1 Resultados da caracterização nutricional e avaliação dos compostos bioativos dos frutos do tomateiro.....	64
3.2.2 Resultados da avaliação dos compostos bioativos presentes nos subprodutos do cultivo de tomateiro.....	75
Conclusões.....	81
Referências Bibliográficas	85
Anexos	95
Anexo 1: Compostos de interesse na planta e no fruto da espécie <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	97
Anexo 2: Lista de descritores utilizados na caracterização morfológica e agronômica ...	99
Anexo 3: Lista de acessos ensaiados de tomate, <i>Solanum lycopersicum</i> L.	109
Anexo 4: Matriz de correlações residuais entre descritores morfológicos quantitativos	111

Índice de figuras

Figura nº 1 - Produção de tomate no Mundo.....	7
Figura nº 2 - Produção de tomate em alguns países da Europa nos últimos anos.....	7
Figura nº 3 – Principais causas e consequências da ação dos radicais livres.....	23
Figura nº 4 – Análise de componentes principais (PCA) – projeção das variáveis (descritores) sobre os dois primeiros eixos de ordenação (componentes).....	58
Figura nº 5 – Análise de componentes principais (PCA) – coordenadas (scores) dos acessos no espaço de ordenação constituído pelas duas primeiras componentes.....	59
Figura nº 6 – Cluster distâncias euclidianas, sem as variáveis de elevada correlação residual, e apenas as variáveis quantitativas.....	62
Figura nº 7 – Perfil de açúcares de uma variedade de <i>Solanum lycopersicum</i> L. (acesso 12906) analisado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de índice de refração (HPLC-RID).....	66
Figura nº 8 – Perfil de ácidos gordos individuais de uma das variedades de <i>Solanum lycopersicum</i> L., analisado por cromatografia gasosa acoplada a um detetor de ionização por chama (G.C.-F.I.D.). No qual podemos identificar os seguintes ácidos gordos, 1 – ácido caproico (C6:0); 2 – ácido caprílico (C8:0); ácido cáprico (C10:0); ácido undecanóico (C11:0); ácido láurico (C12:0); 4 – ácido mirístico (C14:0); 5 – ácido miristoleico (C14:1); 6 – ácido pentadecanóico (C15:0); 7 – ácido palmítico (C16:0); 8 – ácido palmitoleico (C16:1); 9 – ácido heptadecanóico (C17:0); 10 – ácido esteárico (C18:0); 11 – ácido oleico (C18:1n9); 12 – ácido linoleico (C18:2n6); 13 – α -linolénico (C18:3n3); 14 – ácido araquídico (C20:0); 15 – ácido eicosenóico (C20:1); 16 – cis-11,14-ácido heneicosanóico (C20:3n3 + C21:0); 17 - ácido cis-11,14,17-eicosapentaenoico (C20:5n3); 19 – ácido behênico (C22:0); 20 – ácido erúxico (C22:1n9); 21 – ácido tricosanóico (C23:0); 22 – ácido lignocérico (C24:0).....	68
Figura nº 9 – Perfil de ácidos orgânicos individuais de uma das variedades de <i>Solanum lycopersicum</i> L., analisado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um detetor de fotodíodos (HPLC-PDA).....	70

Figura nº 10 – Perfil de tocoferóis (1- α -tocoferol; 2- β -tocoferol; 3- γ -tocoferol; 4- δ -tocoferol; 5-tocol(SI)) de uma das variedades de *Solanum lycopersicum* L. (acesso 12906), analisado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um detetor de fluorescência (HPLC-Flu)..... 72

Índice de tabelas

Tabela nº 1: Lista de temperaturas mínima, máxima e ótima em cada fase de crescimento da planta de tomate (T°C).....	16
Tabela nº 2: Resultados para os descritores largura e altura das plantas na época de floração e maturação, e comprimento e largura das folhas na época de floração, foram identificados os acessos com o valor médio mínimo e com o valor médio máximo para cada descritor.....	50
Tabela nº 3: Resultados para os descritores de caracterização das inflorescências, nomeadamente número de inflorescências por planta, número de flores por inflorescência, número de frutos por inflorescência, número de frutos por planta, e peso total de frutos por planta. Estão indicados os acessos com o valor médio mínimo e com o valor médio máximo para cada descritor.....	52
Tabela nº 4: Resultados para os descritores de caracterização do fruto, identificação da forma do ombro do fruto.....	52
Tabela nº 5: Resultados para os descritores de caracterização do fruto, identificação da forma da terminação do fruto.....	53
Tabela nº 6: Resultados para os descritores de caracterização do fruto, identificação da forma predominante do fruto.....	53
Tabela nº 7: Resultados para os descritores de caracterização dos frutos, nomeadamente comprimento do pedúnculo, tamanho da cicatriz do pedúnculo, nervura na terminação do cálice, comprimento, tamanho, largura, diâmetro, peso, diâmetro interior do fruto, e número de lóculos por fruto. Estão indicados os acessos que obtiveram o valor médio mínimo e o valor médio máximo para cada descritor.....	54
Tabela nº 8: Resultados dos descritores de caracterização das cores presentes nos vários órgãos da planta, folhas, flores, o exterior dos frutos imaturos, o exterior dos frutos maduros e o interior dos frutos maduros. Foram identificadas as cores com o maior número de plantas com essa cor.....	55
Tabela nº 9: Resultados para os descritores que identificam as datas de início e fim das épocas de floração, frutificação e colheita. Foram identificados os acessos com as datas de início e fim mais precoces e as datas de início e fim mais tardias para cada época.	

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Estas datas foram identificadas quando 50% das plantas que formam o acesso já se encontram no referido estágio do ciclo vegetativo..... 56

Tabela nº 10: Descritores de duração das épocas de floração, frutificação e colheita.. 57

Tabela nº 11: Humidade (g / 100 g de massa fresca (fw)), macronutrientes (g / 100 g fw) e valor energético (kcal / 100 g fw) de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 65

Tabela nº 12: Composição em açúcares (frutose, glucose, sacarose em g / 100 g fw) dos frutos de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 65

Tabela nº 13: Composição em ácidos gordos (percentagem relativa) de quatro variedades da espécie *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 67

Tabela nº 14: Composição em ácidos orgânicos (ácido oxálico, ácido málico, ácido ascórbico e ácido cítrico (mg / 100 g fw)) de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média±desvio padrão, n=3). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 69

Tabela nº 15: Composição de tocoferóis (μg / 100 g fw), β -caroteno, licopeno, clorofila A e clorofila B (mg / 100 g fw) dos frutos de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média±desvio padrão, n=9). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 71

Tabela nº 16: Rendimento de extração (g / 100 g fw), composição de compostos fenólicos (fenóis (mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de extrato) e flavonoides (mg de equivalentes de catequina (CE) por g de extrato)), e propriedades antioxidantes (valores de EC_{50}) dos frutos de quatro variedades diferentes de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 73

Tabela nº 17: Rendimento de extração (g / 100 g fw), composição de compostos fenólicos (fenóis (mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de extrato) e flavonoides (mg de equivalentes de catequina (CE) por g de extrato)), e propriedades antioxidantes (valores de EC_{50}) da parte vegetativa lançamentos de poda em verde de

quatro variedades diferentes de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=9). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 75

Tabela nº 18: Composição em clorofila A e clorofila B (mg / 100 g fw) da parte vegetativa lançamentos de poda em verde de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média±desvio padrão, n=9). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 76

Tabela nº 19: Humidade dos extratos, rendimento de extração (g / 100 g fw), composição de compostos fenólicos (fenóis (mg de equivalentes de ácido gálico (G.A.E.) por g de extrato) e flavonoides (mg de equivalentes de catequina (C.E.) por g de extrato)), e propriedades antioxidantes (valores de EC_{50}) da parte vegetativa plantas em fim de ciclo vegetativo de quatro variedades diferentes de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 77

Tabela nº 20: Composição em clorofila A e clorofila B (mg / 100 g de fw) da parte vegetativa de plantas em fim de ciclo vegetativo de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média±desvio padrão, n=3). Em cada linha, letras diferentes significam diferenças significativas ($p<0,05$)..... 78

Lista de siglas e fórmulas químicas

ACR – Atividade captadora de radicais

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

A_s – Absorbância da solução de DPPH na presença de extrato

ADPPH – Absorbância do branco (solução metanólica de DPPH)

BI – Bioversity International

BPGV – Banco Português de Germoplasma Vegetal

BHT – Hidroxitolueno butilado

CAT – Catalase

CE – Equivalentes de catequina

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo

ECPGR – European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources

EUA – Estados Unidos da América

EC₅₀ – Concentração do extrato com 50% de atividade antioxidante

FAO – Food and Agriculture Organization for the United Nations

GC – FID – Cromatografia Gasosa – Detetor de Ionização por Chama

GAE – Equivalentes de ácido gálico

GPX – Glutathione peroxidase

HPLC – PDA – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, detetor de fotódiodos

HPLC – RID – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, Detetor de Índice de Refração

H₂O₂ – Peroxido de hidrogénio

HDL – Lipoproteínas de Alta Densidade (High Density Lipoprotein)

HO• – Radical hidroxilo

HO₂• – Radical hidroperóxido

HOCl – Ácido hipocloroso

HPLC – Flu - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, Detetor de Fluorescência

IBPGR – International Board for Plant Genetic Resources

INE – Instituto Nacional de Estatística

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
IPGRI – International Plant Genetic Resources Institute
LDL – Low Density Lipoprotein (Lipoproteínas de baixa densidade)
MUFA – Ácidos Gordos Polinsaturados
NaCl – Cloreto de Sódio
NO – Óxido nítrico
¹O₂ – Oxigénio singlete
O₂[•] – Anião superóxido
ONOO⁻ - Peróxido de nitrato
PI – Padrão Interno
PC1 – Primeira Componente
PC2 – Segunda Componente
PCA – Análise de Componentes Principais
PUFA – Ácidos Gordos Monoinsaturados
RNS - Espécies reativas de azoto
ROS – Espécies reativas de oxigénio
SFA – Ácidos Gordos Saturados
SOD - Superóxido dismutase
UPOV – International Union for the Protection of new varieties of Plants
UFLC – PDA - Cromatografia Líquida Ultrarrápida, com detetor de Fotodíodos

Resumo

Os trabalhos realizados no âmbito desta dissertação de mestrado basearam-se na caracterização morfológica e química de alguns acessos de variedades regionais de *Solanum lycopersicum* L., armazenadas no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Para tal procedeu-se ao cultivo das plantas de cada acesso e à respetiva descrição morfológica, recorrendo a vários descritores relativos às principais características morfológicas e agronómicas das populações em ensaio. Algumas das variedades ensaiadas, correspondentes aos acessos 16388, 11363, 12506, 11350 e 11465, obtiveram os melhores resultados, e como tal têm nas suas populações plantas com características mais vantajosas do ponto de vista morfológico e agronómico.

Realizaram-se ainda estudos analíticos para avaliar as características nutricionais e bioativas dos frutos e de material vegetal correspondente a subprodutos da cultura. Concluímos que foram os acessos 13034 e 12260 que obtiveram os melhores resultados relativamente às características nutricionais. Quanto aos subprodutos analisados, foram os lançamentos de poda em verde que obtiveram as maiores concentrações de fenóis e flavonoides, enquanto que a parte aérea das plantas em fim de ciclo de cultivo apresentaram melhores resultados de atividade captadora de radicais DPPH e poder redutor, e também maior concentração de clorofilas.

Confirma-se que o tomate contém compostos com propriedades benéficas para a saúde, e que os subprodutos da planta são uma boa fonte de compostos bioativos que podem ser reutilizados pela indústria.

A identificação e análise das principais diferenças entre os acessos de variedades regionais de tomate são uma forma de valorizar a informação acerca deste germoplasma conservado, o que facilita a sua utilização quer a nível agrícola como alimentar, em programas de reintrodução em cultura e melhoramento de plantas.

Abstract

The study developed within this master's thesis concerns the morphological and chemical characterization of some accessions of tomato landraces, *Solanum lycopersicum* L., stored in the Portuguese Genebank.

For this purpose, the seeds from each accession were germinated and the plantlets cultivated. A morphological characterization was performed using several descriptors concerning the main morphological and agronomic characteristics of the plants. In this study, we conclude that the varieties corresponding to accessions 16388, 11363, 12506, 11350 and 11465 presented the best results; therefore, these accessions have in their populations some plants with the most suitable characteristics considering morphological and agronomical purposes.

Analytical studies were also carried out to evaluate the nutritional and bioactive characteristics of the fruits and plant material corresponding to the crop by-products. Accessions 13034 and 12260 registered the best nutritional characteristics. Moreover, considering the tomato crop by-products, green shoots clipping showed the highest concentrations of phenols and flavonoids, while aerial biomass at the end of the cultivation cycle presented better DPPH radical scavenging activity and reducing power, and a higher concentration of chlorophylls, as well.

This study confirms that tomato contains several compounds beneficial to health, and that the plant by-products are a good source of bioactive compounds that can be reused by the industry.

By means of the characterization performed, it is possible to complete the available information about such traditional varieties of tomato. Considering the main differences between the accessions, it is possible to valorize these landraces. Data provided are useful information about this preserved germplasm, which might be used for agronomic and food purposes, as well as in plant breeding programs and projects for reintroducing traditional varieties to cultivation.



Introdução

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Conservação de recursos genéticos de tomate

Não existe uma verdadeira certeza da origem da planta do tomate, mas é globalmente assumido, que o México é o local onde se realizou a domesticação da planta e que o Peru é o principal centro de diversidade dos parentes silvestres. Na Europa e na região do Mediterrâneo, principalmente em Espanha e Itália, a espécie encontrou um centro de diversificação secundário, o que resultou numa ampla gama de variação na morfologia dos frutos (Gongolee, 2014; Sacco *et al.*, 2015).

Ocorreram então fenómenos de vicariância causados principalmente pela separação das plantas em diferentes áreas geográficas e ecológicas, mas também pela seleção natural e artificial, ou ainda através da polinização cruzada, surgindo plantas com diferentes formas e tamanhos, dando origem a muitas variedades que têm vindo a ser cultivadas desde há séculos. Estima-se que o genoma de cultivares de tomate tenha menos de 5% da variação genética das espécies selvagens. A domesticação do tomate e a seleção ocorrida conduziram a uma redução da variabilidade genética (Sacco *et al.*, 2015).

É de extrema importância evitar a erosão ou degeneração genética da espécie, de forma a preservar características fundamentais tais como a adaptação ao clima e a resistência a doenças e pragas. As variedades tradicionais e locais são a maior fonte de variabilidade de espécies cultivadas, normalmente têm características agronómicas e qualidades organolépticas superiores e diferentes das padronizadas para a espécie. No âmbito de programas de melhoramento da qualidade, o cultivo deste material é uma excelente mais-valia em termos da diversidade de características das plantas e da biodiversidade em geral (Bologay, *et al.*, 2015).

As estratégias de conservação dos recursos genéticos são fundamentais para evitar o desaparecimento da biodiversidade ou diversidade biológica dos organismos existentes nos ecossistemas, quer seja a conservação da espécie ou de variedades dentro da própria espécie. A necessidade de conservação desta diversidade genética surge devido a fatores que favorecem a erosão genética, desertificação, técnicas culturais que alteram as propriedades do solo, e a globalização da agricultura. Também à homogeneização de espécies agrícolas, através da seleção artificial, onde o agricultor escolhe as sementes do ano seguinte pelas características que mais lhe agradam, o que

contribuiu para a perda da diversidade. Todos estes fatores são responsáveis pela erosão genética, e torna necessário medidas para prevenir a extinção dos recursos genéticos (Farias & Marcelino, 1993; FAO, 1998).

A ideia original para coletar e preservar a diversidade genética começou com o trabalho pioneiro de Nikolai Vavilov (1887-1943), (Kurlovik, 2000).

Especificamente para a cultura de tomate, o trabalho de Charles Rick (1915-2002) foi de extrema importância, pois ele dedicou a sua vida à prospeção, colheita e caracterização de germoplasma desta espécie. (Tanksley & Khush, 2002)

A nível internacional foi criado em 1974, o International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), que em 1991 se transformou no Internacional Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), e que desde 2006 trabalha sobre a designação de Bioversity International (BI). Ao longo do tempo os objetivos desta organização foram-se adaptando. Os primeiros trabalhos centraram-se na conservação dos recursos genéticos das principais culturas em bancos de germoplasma. Atualmente as principais ações centram-se na validação científica e na definição e seleção de práticas de gestão, de estratégias e políticas de conservação, na utilização e salvaguarda da biodiversidade agrícola com o principal objetivo de garantir a sustentabilidade e a segurança alimentar e nutricional a nível global (Rocha, 2016).

Assim sendo, a “Bioversity International” têm como objetivo coordenar internacionalmente os diversos programas de conservação genética, e paralelamente as atividades de colheita, conservação, avaliação e documentação da diversidade genética, através da coordenação da rede de Bancos de Germoplasma. Existem dois tipos de conservação dos recursos genéticos, a conservação em *in situ* e *ex situ*. A conservação *in situ* implementa técnicas de conservação nos próprios ecossistemas naturais, ou outros locais em que a espécie se tenha desenvolvido, onde se protege o habitat, tentando manter os processos de evolução natural e permitir a ocorrência de variabilidade. Uma das estratégias de conservação *in situ* é designada *on farm conservation*, porque se conserva no próprio campo do agricultor, permitindo a gestão da variabilidade genética em sistemas de agricultura tradicional, onde também ocorre a evolução da espécie (Maxted *et al.*, 1997). Outros exemplos de conservação *in situ* são as áreas protegidas, como os parques naturais do Alvão e Montesinho ou as reservas naturais como as Berlengas. A conservação *ex situ* ocorre em locais diferentes das áreas de origem ou desenvolvimento, interrompendo o processo de evolução. São exemplos

deste tipo de estratégia os Jardins Botânicos e os Bancos de Germoplasma, estes últimos promovendo a conservação através de Coleções de Campo, Coleções Genómicas, Coleções *in vitro* de órgãos ou tecidos e ainda através da Criopreservação (Barata *et al.*, 2011).

A conservação pode ser também realizada a médio ou longo prazo. O armazenamento a médio prazo é feito através de vários métodos, por exemplo, em câmaras refrigeradas com temperaturas entre 0 a 5°C e 45% de humidade relativa, onde são mantidas as coleções ativas. Outro método são as coleções não refrigeradas, como as coleções de campo, ou as coleções *in vitro*. O armazenamento a longo prazo é feito em câmaras refrigeradoras a temperaturas de -18°C, onde estão armazenadas as coleções base, ou através da criopreservação, onde o material é armazenado em azoto líquido a -196°C (Barata *et al.*, 2011).

Atualmente existem mais de 83000 acessos de landraces ou variedades tradicionais de tomate que estão depositadas em bancos de sementes por todo o mundo. Segundo dados da FAO de 2010, o tomate é a espécie hortícola mais coletada em todo o mundo (Gongolee, 2014)

Em Portugal, o Banco Português de Germoplasma Vegetal (BPGV) criado em 1977, atualmente um pólo do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. (INIAV), é hoje em dia, a instituição que desenvolve estratégias para a conservação de recursos genéticos vegetais e tem por missão a colheita, conservação, multiplicação e regeneração, a avaliação e caracterização do material vegetal (Barata *et al.*, 2011)

Os recursos genéticos para Alimentação e Agricultura desempenham um papel cada vez mais importante na segurança alimentar mundial e no desenvolvimento económico sustentável, dado que a agricultura desempenha um papel fundamental na redução da pobreza e da insegurança alimentar a nível global (Barata *et al.*, 2011).

Importância económica e aplicações da espécie *Solanum lycopersicum* L.

O tomateiro é uma planta de importância económica relevante que tem grande produção a escala mundial. Esta espécie é produzida para consumo em fresco e para processamento pela indústria, o cultivo doméstico também é em quantidade relevante devido a ser uma cultura facilmente cultivada e estar muito distribuída geograficamente. É uma planta amplamente utilizada em todo o mundo como produto alimentar, pertence a chamada Dieta Mediterrânea e tem associadas propriedades benéficas para a saúde (FAOSTAT, 2016; Pinela *et al.*, 2012).

Segundo a FAO o consumo total mundial de tomate fresco aumenta de ano para ano, sendo que no ano de 1961 foi de 27,6 milhões toneladas, em 1978 foi de 50 milhões de toneladas, e em 1999 foi de 100 milhões de toneladas, ao que equivale um aumento na taxa de 3,5% em 48 anos. Já em 2009 o total de tomate fresco consumido em todo o mundo foi de 141 milhões de toneladas, no ano de 2014 aumentou para 170 milhões de toneladas. (Tomatoland, 2011) Em Portugal a produção de tomate para consumo em fresco foi de 97.339 toneladas enquanto a produção para indústria foi de 1.089.501 toneladas no ano de 2013 (I.N.E., 2016).

Existe pouca informação acerca do uso de variedades tradicionais para consumo de tomate em fresco, mas nos Estados Unidos no ano de 1998 utilizaram-se 2% de variedades não tradicionais, 90% de variedades tradicionais e 8% de variedades importadas. No ano de 2013 estes valores alteraram-se de forma drástica passando a utilizar-se 39% de variedades não tradicionais, 46% de variedades tradicionais, e 15% de variedades importadas, valores que mostram uma tendência no mercado devido, entre outros fatores, ao aparecimento de variedades transgênicas que possuem características desejadas tanto pelos produtores, como pelos consumidores de tomate em fresco (Cook, 2015). Mas em contrapartida, estas variedades transgênicas não têm as características organolépticas e sensoriais típicas das variedades tradicionais, tão apreciadas pelos consumidores, e é nesse sentido que trabalha a indústria, na procura de devolver estas características nas suas variedades transgênicas.

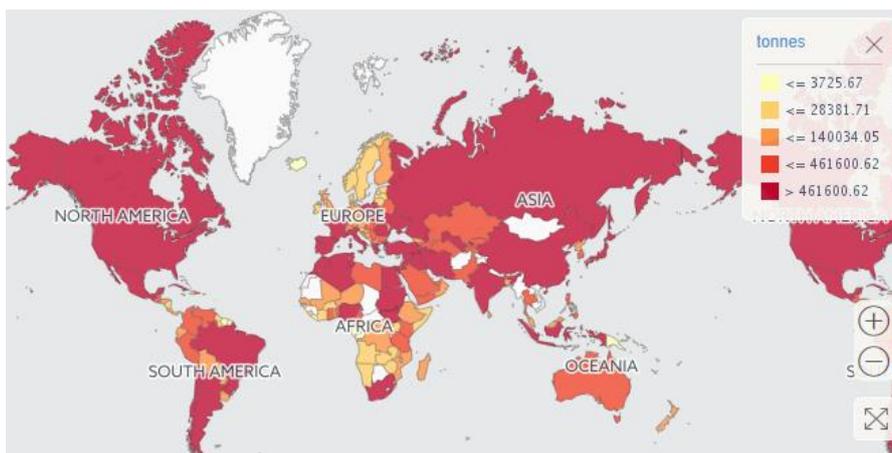


Figura nº 1 – Produção de tomate no Mundo (Fonte: FAOSTAT 2016).

Nos últimos anos, pode-se observar que o continente que mais produz tomate é o Asiático com cerca de 101 milhões de toneladas da produção mundial, sendo a China no ano de 2015 o maior produtor Mundial com uma diferença muito elevada em relação a outros países a Índia, os EUA o Egito e a Turquia. A Europa (22 milhões de toneladas) e a América (26 milhões de toneladas) têm mantido a produção ao longo dos últimos anos, o continente Africano (19 milhões de toneladas) tem aumentado a produção de forma muito reduzida como é possível observar na figura nº 2, (FAOSTAT, 2016; I.N.E., 2016). Portugal é desde há vários anos um dos maiores produtores de tomate na Europa. Na figura 2 observa-se que no ano de 2015, Portugal foi o 3º maior produtor da Europa com 1,3 milhões de toneladas da produção, uma quantidade muito próxima à da Grécia (4º) com 1,03 milhões de toneladas, e apenas superado em 2º lugar por Espanha com 4,8 milhões de toneladas e em 1º lugar a Itália com 5,6 milhões de toneladas. Desde há vários anos que estes são os países que mais produzem tomate para consumo em fresco. Observa-se ainda que os países que têm maiores quantidades de produção são também os que têm maior área de cultivo (FAOSTAT, 2016; I.N.E., 2016).

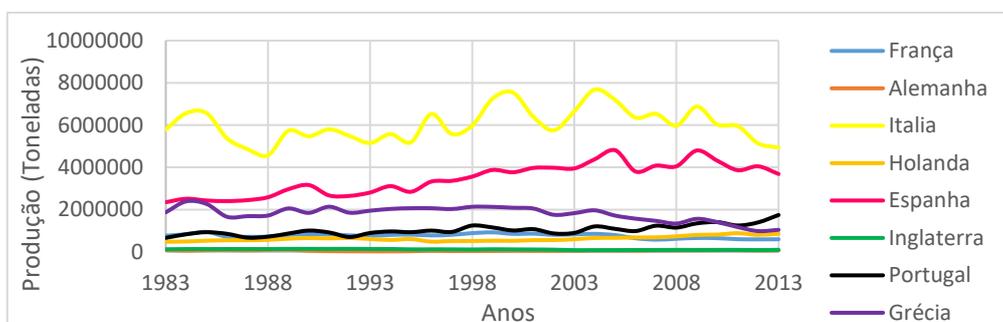


Figura nº 2 – Produção de tomate em alguns países da Europa nos últimos anos (Fonte: FAOSTAT 2016).

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Atualmente há grande diversidade de aplicações da espécie *Solanum lycopersicum* L. na área alimentar. Existe um grande número de receitas culinárias que utilizam tomate, tanto como ingrediente principal como aditivo alimentar. Alguns exemplos são a utilização de tomate em sopas, pratos principais (gaspachos), saladas, tomate em fresco ou frito, tomate semi-seco marinado, recheios de tomate, doces, molhos, polpas, e outros produtos à base de tomate, chamados de valor agregado, como é o caso dos aditivos alimentares, corantes, conservantes, e aromatizantes, ingredientes utilizados em produtos, tais como, purés, massas e sumos, que geralmente o utilizam na forma de extrato de tomate.

Na área medicinal o tomate está associado à prevenção de várias doenças, são lhe atribuídas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, cardiovasculares e hepatoprotetoras, reduz a agregação de plaquetas sanguíneas, melhora a circulação sanguínea e baixa os níveis de colesterol (Pinela *et al.*, 2016). A nível nutricional contém, mas em poucas quantidades, proteínas, gorduras e hidratos de carbono, é um alimento com importantes propriedades promotoras de saúde (Pinela *et al.*, 2016).

Os produtos obtidos pelo homem que têm como fonte as plantas e os produtos naturais, não se baseiam apenas na alimentação, mas em todas as potencialidades da realização destes cultivos e da utilização destas plantas. Não se limitando apenas ao uso dos frutos, mas potenciando o uso de toda a planta. Nesta perspetiva encontramos no tomateiro compostos químicos de interesse como é o caso da presença de alcaloides nas folhas, mais precisamente o alcaloide tomatina, composto que ao longo dos anos se têm associado a características inseticidas e repelentes (Pinela *et al.*, 2016). Hoje em dia ainda se realizam estudos para identificar todos os compostos que estão presentes nesta espécie e quais as suas possíveis aplicações em diversas áreas (lista de compostos químicos detetados em *Solanum lycopersicum* L., ver anexo 1).

Objetivos

Esta dissertação de mestrado tem como objetivo geral caracterizar do ponto de vista morfológico e nutricional, material vegetal relativo a acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), provenientes de várias regiões do país e conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal (BPGV), após ensaio de multiplicação com vista a renovar o stock de semente conservado.

Pretende assim contribuir para a documentação das amostras de populações de variedades locais conservadas no BPGV através da disponibilização de informação agronómica, morfológica, química e nutricional acerca destas variedades de plantas, que facilite a valorização e utilização destes recursos, tanto na alimentação como na agricultura, através de programas de reintrodução em cultivo e de melhoramento genético.

A caracterização morfológica, química e nutricional do material vegetal procedente dos acessos em ensaio pretende deste modo listar e descrever as características distintivas de cada acesso.

- Caracterização morfológica tem como objetivo específico:
 - i) Discriminar os fenótipos presentes nas populações ensaiadas;
 - ii) Identificar a diversidade genética;

Esta tarefa foi realizada em plantas das populações de cada acesso, ao longo do ciclo da cultura, recorrendo a descritores (parâmetros morfológicos) que estão padronizados internacionalmente para cada espécie.

- Caracterização química e nutricional tem como objetivo específico:
 - i) Determinar o valor nutricional dos frutos das várias variedades
 - ii) Avaliar as propriedades antioxidantes dos frutos
 - iii) Caracterizar compostos bioativos e atividade antioxidante de subprodutos da cultura (lançamentos de poda em verde e biomassa de plantas em fim de ciclo de cultivo).

Estas tarefas foram realizadas através de técnicas analíticas laboratoriais específicas para cada análise utilizando a instrumentação adequada e métodos internacionalmente padronizados, e com boa reprodutibilidade.

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Justificação do tema da dissertação

O tomateiro é uma das espécies mais cultivadas por todo o mundo, tendo grande valor económico, nutricional e sociocultural. Os frutos fazem parte da chamada Dieta Mediterrânea, são amplamente consumidos e estão associados a benefícios para a saúde devido à sua típica composição em nutracêuticos.

O Banco Português de Germoplasma Vegetal (BPGV) conserva atualmente uma coleção de germoplasma de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) constituída por 305 acessos, originários maioritariamente de várias regiões do País, com o objetivo de preservar, por um longo período de tempo, o património genético desta espécie, tanto para utilização imediata como para potencial utilização no futuro, assegurando a diversidade biológica e a produção agrícola sustentável.

Ainda que o tomate seja uma espécie muito estudada, os principais temas abordados são referentes à caracterização do germoplasma para identificação de particularidades que possam melhorar a qualidade do fruto. Esta informação é posteriormente utilizada em programas de melhoramento de variedades. Contudo estes programas de melhoramento selecionam determinadas características em detrimento de outras e por isso podem contribuir para a erosão genética.

Surge então a necessidade de identificar e caracterizar os diferentes acessos destas variedades regionais conservadas, para manter atualizada a informação e registar a diversidade genética presente nestes acessos, tarefas que constituem atividades no âmbito da missão definida para o BPGV. O tema desta dissertação de mestrado dá assim resposta à necessidade de identificação e caracterização (morfológica, agronómica, química e nutricional) deste germoplasma de tomate, ao mesmo tempo que contribui para a multiplicação de semente, aumentando a quantidade disponível em stock, outra das responsabilidades inerentes ao trabalho realizado pelo BPGV.



1 - Aspetos da cultura do tomate

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

1.1 História do aparecimento e domesticação da espécie *Solanum lycopersicum* L.

O termo tomate tem origem no povo Asteca que utilizava o dialeto “Nahuatl” e referia-se a este fruto com a palavra “Tomatl” (Gualazzi, 2002). Foi o botânico francês Tournefort quem atribuiu a primeira denominação científica do tomate, classificando-o como *Lycopersicon esculentum* Mill., que depois sofreu alterações para *Solanum esculentum* (L.) H. Karst. e posteriormente para *Solanum lycopersicum* L. (Santos, 2009). É geralmente aceite que a planta é originária da região de Andean no México, local onde teria ocorrido a sua domesticação (Gongolee, 2014; Sacco *et al.*, 2015; Cebolla–Cornejo, *et al.*, 2013). Mas foi no Peru onde registou o primeiro centro de diversificação da espécie (Gongolee, 2014). A planta surge na Europa no século XVI, introduzida pelos espanhóis que na altura do descobrimento da América do Sul trouxeram umas sementes de uma planta que julgavam ornamental e as cultivaram, tendo estas plantas obtido grande aceitação em várias regiões do Mediterrâneo e de forma geral por toda a Europa. Em França foi adotada como planta alimentar e pensava-se que tinha propriedades afrodisíacas (Kaniala, 2017). A planta chega ao continente Africano pela mão dos Portugueses entre o séc. XVI e o séc. XVII. (Norman, 1992) e desde então tornou-se um dos cultivos vegetais mais populares (Norman, 1992; Nkansah *et al.*, 2003; Osei *et al.*, 2010). Somente no século XIX é que o tomate passou a ter grande consumo e a ser cultivado em escala. O consumo como alimento deu-se inicialmente em Itália, onde foi chamado de “Pomo d’Oro” que significa Maça de Ouro, devido à sua cor amarela, e só depois se expandiu para toda a Europa (Gould, 1974, Raupp *et al.*, 2009). Em 1869, o industrial do ramo alimentício Joseph A. Campbell associou-se ao fabricante de latas Abraham Anderson para a fabricação em massa de enlatados de tomate, dando-se assim o aparecimento das primeiras indústrias que comercializavam o produto (Kaniala, 2017, Joseph Campbell & Company, 1876). O registo da primeira receita de sopa de tomate data de 1872, no livro “The appledore Cook Book” (Kaniala, 2017). Nos últimos 200 anos a popularidade do fruto aumenta bem como a importância para os agricultores e para a indústria, aumentam os processos de melhoria do fruto e do rendimento de produção do cultivo (Portas *et al.*, 1986). Hoje em dia o processo de diversificação da espécie está influenciado pelo homem na procura de variedades de qualidades desejadas através de variedades transgênicas, o que leva a extinção das variedades de génotipos que não têm essas características, causando assim uma homogeneização da espécie (Rocha, 2002).

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

1.2 Classificação taxonómica e caracterização morfológica

Considerando a classificação taxonómica mais recente, o tomateiro é uma espécie pertencente ao reino Plantae, grupo das Angiospérmicas Eudicotiledóneas, clado Asterideas, ordem Solanales, família das *Solanaceae*, e subfamília *Solanoideae* que se caracteriza pelo fruto do tipo baga com sementes planas e embrião curvo (Aguiar, 2013c). Pertence ao género *Solanum* L. que inclui um grupo de espécies com compostos tóxicos do grupo dos alcalóides. O nome científico atual da espécie é *Solanum lycopersicum* L., ainda que esta tenha tido num passado recente uma nomenclatura diferente, correspondendo-lhe as seguintes sinonímias *Lycopersicon esculentum* Mill ou ainda *Lycopersicon lycopersicum* (L.) H. Karst. (Byng *et al.*, 2016; USDA, 2017).

Na descrição morfológica geral dos principais órgãos da espécie *Solanum lycopersicum* L. observamos que esta planta tem simetria do tipo metameria com repetição da estrutura modular da planta (módulo - nó, folha, meristema axilar e entrenó).

O sistema radicular do tomateiro é do tipo aprumado e pode atingir 50 a 60 centímetros, produzindo a raiz principal um conjunto de raízes laterais ou adventícias (Naika *et al.*, 2006; Anderlini, 1982).

O caule é delgado e tem consistência herbácea a sub-lenhosa, é meduloso, áspero, de indumento pubescente em toda a sua superfície, pode ter direção de ereta a prostrada. Geralmente os caules são flexíveis, do tipo volúvel, podem crescer até atingir uma altura de 2 a 4 metros, têm crescimento alongado, terminal e intercalar (Anderlini, 1982). O tomateiro tem um sistema de ramificação simpodial e pode apresentar brácteas ou pseudo-estípulas na junção das folhas ou inflorescências com o caule principal. Facilmente forma caules de ramificação lateral, os quais devem ser cortados para manter a morfologia típica da planta. (Aguiar, 2013a).

As folhas são órgãos de crescimento determinado, têm forma laminar e estão ligadas ao caule através do pecíolo. Têm consistência herbácea, duração caduca, e inserção alterna. As folhas apresentam diferenciação completa (bainha, pecíolo e limbo). Quanto à composição do limbo, em geral são folhas compostas e raramente folhas recompostas, imparipinuladas, estando formadas por vários folíolos com 2 a 6 pares, opostos ou sub-opostos de folíolos completos (com limbo, pecíolo), mas por vezes folíolos sésseis (sem pecíolo), algumas cultivares podem apresentar folhas

simples (Peralta *et al.*, 2000). Como já referido, também algumas variedades possuem duas brácteas ou pseudo-estípulas na base do pecíolo foliar, estão dispostas de forma helicoidal, têm 15 a 50 centímetros de comprimento e 10 a 30 de largura. No que se refere à posição, as folhas do tomateiro são dorsiventrais com página superior e página inferior. Por vezes os folíolos não têm recorte, são inteiros, mas pode haver folíolos com recorte marginal e até com recorte profundo, do tipo lobado. As folhas apresentam, em geral, indumento pubescente (formado por uma camada de tricomas dispersos pela superfície foliar). A forma dos folíolos é variada, no ápice, na base e na forma geral (Aguiar, 2013a). A pubescência é uma característica da espécie *Solanum lycopersicum* L., e a densidade dos tricomas é uma característica viável para distinguir as diferentes subespécies e variedades (Peralta *et al.*, 2005).

As inflorescências são sistemas caulinares onde se situam as flores de cor amarela, e posteriormente os frutos, que estão ligados aos caules por pedúnculos. No tomateiro existem inflorescências de vários tipos, tais como, do tipo agrupado, ou do tipo cacho, estas podem ser simples (com um só ramo), duplas (com dois ramos), ou múltiplas (com vários ramos). Normalmente têm posição axilar e surgem em várias partes da planta. O tipo de crescimento, determinado ou indeterminado, condiciona o número de inflorescências, que pode ser limitado ou ilimitado, surgindo só numa época ou estando sempre a surgir até à morte da planta (Anderlini, 1982; Peralta *et al.*, 2000).

O tomate, fruto do tomateiro é considerado um fruto carnudo do tipo baga (Aguiar 2013b). Normalmente tem dois ou mais lóculos variáveis no tamanho e na forma. A forma externa do fruto é globular achatada, mas existe uma diversidade muito ampla de formas. O fruto imaturo é de cor verde e quando maduro pode ter várias cores, sendo a mais comum a cor vermelha, mas podendo ser também amarelo, laranja ou negro. Forma e cor dependem do tipo de variedades e cultivares.

As sementes estão em grande número, e por isso, o tomate é considerado um fruto polispérmico. As sementes têm forma arredondada e achatada, são pubescentes e de cor castanha, o embrião está inserido no endosperma e o peso de 1000 sementes é de aproximadamente 2,5 a 3,5g (Naika *et al.*, 2006).

1.3 Condições edafoclimáticas no cultivo

A espécie *Solanum lycopersicum* L. na Europa comporta-se como uma planta anual, devido a fatores climáticos que danificam as plantas até à morte após a primeira época de crescimento, contudo esta espécie pode comportar-se como bianual ou até como perene em climas temperados (Peralta *et al.*, 2005).

O cultivo do tomateiro tem grandes exigências edafoclimáticas, tais como, luminosidade, calor, água, humidade e solos com disponibilidade suficiente de nutrientes para satisfazer as necessidades da planta ao longo de todas as fases do ciclo de cultivo.

Nas regiões Europeias onde só é possível cultivar numa época do ano, geralmente semeia-se em Maio e colhe-se de Julho a Agosto, as plantas crescem na época do ano mais quente desta região (Gongolee, 2014). Quando a planta é cultivada em regiões mais quentes como no continente Africano, onde os períodos de frio e baixa intensidade de luz são curtos ou inexistentes, procura-se evitar as épocas do ano com grande intensidade de calor e de radiação, o que permite realizar duas culturas num só ano. Nestas condições, geralmente semeia-se em Maio e colhe-se em Agosto, repetindo-se a sementeira em Setembro e a colheita de Dezembro a Janeiro. (Gongolee, 2014).

As condições de temperatura favoráveis para o tomateiro correspondem às de climas frescos e áridos, em que as plantas crescem bem entre os 10°C e os 38°C. Fora deste intervalo a planta sofre lesões nos tecidos que lhe podem causar a morte. A tabela nº 1 mostra as temperaturas consideradas ótimas para obter bons rendimentos de produção no cultivo de tomateiro, tanto em qualidade como em quantidade de fruto. O cultivo requer temperaturas ótimas próximas de 21/24°C diurnas e de 14°C noturnas (Naika *et al.*, 2006; Anderlini, 1982).

Tabela nº 1 – Lista de temperaturas (T °C) ótimas de crescimento em cada fase do ciclo de cultivo do tomateiro, mínima, máxima e ótima. (Fonte: Anderlini, 1982)

Fases de crescimento da planta	Mínima	Ótima	Máxima
Germinação da semente	11	16 - 29	34
Desenvolvimento da planta	18	21 - 24	32
Frutificação	18	20 -24	30
Maturação do fruto	10	20 -24	30

A intensidade da luz afeta a cor das folhas, a frutificação e a cor dos frutos (Naika *et al.*, 2006). O excesso de radiação pode causar ainda despigmentação de algumas áreas do fruto, o que se verifica sobretudo nas variedades com poucas folhas (Anderlini, 1982).

As necessidades de água e humidade da cultura do tomateiro têm grande importância, pois tal como nas outras culturas, a presença de água e humidade é um fator condicionante de vários processos fisiológicos e metabólicos envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas. Controla a biodisponibilidade, absorção e assimilação de nutrientes, a temperatura da planta e das raízes. O controlo da evapotranspiração e da pressão osmótica é um fator crucial no desenvolvimento da planta. A água e humidade excessiva podem ser responsáveis pelo apodrecimento dos frutos, e pelo aparecimento e proliferação de fungos; ao contrário a escassez de água e humidade que provoca a queda de gomos e flores (Naika *et al.*, 2006).

As geadas e as baixas temperaturas provocam nas folhas coloração azulada mas não causam danos graves na planta (Anderlini, 1982). O granizo é outro fator adverso ao cultivo, porque pode estragar os ramos ou as folhas da planta, na época de floração pode fazer cair as flores. A geada na época de maturação cria lacerações na pele dos frutos, que mesmo depois de cicatrizadas dão um fruto com mau aspeto, o que diminui a qualidade e o valor da produção (Anderlini., 1982).

O solo é um fator importante para o sucesso da produção de tomate, porque esta cultura tem preferência por solos minerais, com boa capacidade de arejamento, de preferência franco arenosos profundos e bem drenados, com a camada superficial permeável. O desenvolvimento de uma cultura saudável ocorre a uma profundidade de 15 a 20 centímetros (Naika *et al.*, 2006; Anderlini, 1982). A cultura do tomate é bastante tolerante a variações de valores de pH (acidez do solo), mas o intervalo mais favorável está entre pH 5,5 e 6,8 (Naika *et al.*, 2006) ou entre pH 5,8 e 7 (Anderlini, 1982), intervalo no qual a generalidade dos componentes da solução do solo está disponível para absorção. A adição de matéria orgânica é favorável a um crescimento adequado, contudo solos com muita matéria orgânica do tipo “turfoso” têm a característica de reter água o que reduz a capacidade da planta para absorver os nutrientes devido às diferenças osmóticas, e que causa má nutrição das plantas (Naika *et al.*, 2006).

1.4 Caracterização química e valor nutricional

O tomate, o fruto carnudo do tomateiro, é um dos produtos mais utilizados na alimentação, possui vários nutrientes e não nutrientes (fitoquímicos) que lhe conferem características organolépticas e sensoriais próprias que o tornam um dos vegetais mais consumidos em todo o mundo. O fruto é geralmente consumido maduro, em fresco, mas também em diferentes produtos processados (Pinela *et al.*, 2016). Apesar da parte da planta consumida na alimentação ser normalmente o fruto, existem registos da utilização de folhas para fazer infusões, “chá de tomateiro”. No entanto este tipo de consumo não é muito utilizado, por causa do risco de intoxicações. De facto, as folhas contêm compostos bioativos tóxicos que podem ter algum interesse ou aplicação industrial, por exemplo, o glicoalcoide tomatina com propriedades inseticidas (Laza, 2014).

De acordo com a pesquisa bibliográfica realizada tanto quanto se sabe até ao momento, nem as flores nem as raízes têm associadas características da sua composição que possam ter interesse alimentar ou medicinal.

A maior parte dos compostos que tornam o tomate benéfico para a saúde resultam do metabolismo secundário. Estes são principalmente acumulados nos tecidos dérmicos da planta e podem estar envolvidos em funções de proteção e reprodução da espécie (Barros *et al.*, 2012). Estes compostos ativos (ver anexo 1) são de interesse para a indústria alimentar, cosmética e farmacêutica, setores que geralmente reaproveitam os subprodutos dos processos de transformação do tomate e o excesso de produção para a reciclagem destes compostos (Pinela *et al.*, 2016).

As diferentes variedades e cultivares de tomate podem apresentar variações na sua composição nutricional, a qual pode também ser afetada por métodos de manipulação e armazenamento (Moco *et al.*, 2007; Dumas *et al.*, 2003). De um modo geral, o tomate imaturo (verde) apresenta grandes quantidades de glicoalcoídes, mas pequenas quantidades de licopeno. Inversamente, o tomate maduro apresenta teores elevados de licopeno e um baixo teor em glicoalcoídes (Pinela *et al.*, 2016).

Os compostos presentes no tomate podem ser divididos em nutrientes (proteínas, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas e minerais) e não nutrientes (tais como os compostos fenólicos) (Pinela *et al.*, 2016). O tomate não se destaca pelos teores de proteína, hidratos de carbono ou lípidos, mas apresenta teores interessantes de minerais,

vitamina C (ácido ascórbico) e vitamina E (tocoferóis), entre outros compostos resultantes do metabolismo secundário de plantas com benefícios para a saúde. Os compostos fenólicos, tais como, os derivados de ácido hidroxicinâmico, o ácido cafeico e o ácido clorogénico, os carotenoides entre os quais o licopeno, o β -caroteno (precursor da vitamina A), os flavonoides (antocianinas, flavonas e isoflavonas), estilbenos, lectinas, taninos e os glicoalcaloides (Pinela *et al.*, 2016; Carochó & Ferreira, 2013a).

Estes compostos estão relacionados com propriedades benéficas para a saúde, tais como capacidade antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, antitumoral, cardioprotetora e hepatoprotetora. Reduzem a agregação de plaquetas sanguíneas e melhoram a circulação sanguínea e estão ainda envolvidos na prevenção de aterosclerose, diminuição dos níveis de colesterol e favorecem a ação anti-hipertensora (Pinela *et al.*, 2016). O conteúdo destes compostos bioativos presentes no tomate difere entre variedades, mas também é afetado pelas condições de cultivo, tais como localização geográfica, solo e clima, técnicas de cultivo, ou pelas condições de processamento do tomate (Tetens, 2010).

1.5 Avaliação dos principais compostos bioativos

1.5.1 Carotenoides

Os carotenoides são moléculas de carácter lipofílico, estes compostos encontram-se nos cloroplastos dos tecidos fotossintéticos e nos cromoplastos de flores e frutos. Nas plantas, estes compostos participam na realização da fotossíntese, captação de luz, proteção contra a luz excessiva, eliminação de radicais livres e proteção de membranas celulares. Os humanos não sintetizam estes compostos, portanto têm que os adquirir através da dieta. O licopeno representa entre 80 a 90% dos pigmentos do tipo dos carotenoides do tomate, cada 100 g de peso fresco de tomate tem aproximadamente 10 mg de licopeno (Pinela *et al.*, 2016). Têm grande capacidade antioxidante pois intervêm em mecanismos de captação de radicais livres, impedindo que estes causem danos celulares, tanto *in vivo* como *in vitro*, o que lhes confere muitos benefícios como promotor de saúde (Zhang *et al.*, 2014; Carochó & Ferreira, 2013b). Esta capacidade antioxidante diminui a oxidação de LDL (Low Density Lipoprotein) e a peroxidação lipídica, o que ajuda na prevenção de doenças tais como aterosclerose, esclerose múltipla, degeneração muscular e cataratas (Carochó & Ferreira, 2013b). Além da capacidade antioxidante, diminui o colesterol LDL e o colesterol total, é também modulador da resposta anti-inflamatória através da modulação de citocinas implicadas em doenças cardiovasculares (Pinela *et al.*, 2016). A capacidade antioxidante do licopeno é o dobro do β -caroteno, ambos estão presentes no fruto maduro num rácio entre 1.5 e 40 (Darrigues *et al.*, 2007; Viskelis *et al.*, 2008). O β -caroteno é um dos carotenos precursores da provitamina A, a qual, após ingestão é convertida pelo organismo em duas moléculas de vitamina A. No tomate ou derivados encontramos ainda outros carotenoides tais como luteína e o γ -caroteno (Khachik, *et al.*, 2002). A bioatividade deste composto está dependente da biodisponibilidade. Em geral, os compostos de carácter lipofílico têm melhor absorção se forem incorporados numa fase oleosa, quer seja através da adição de um óleo, no consumo de tomate em fresco ou através de processamentos de transformação do fruto em um ingrediente alimentar. As micelas formadas nesta mistura de fase oleosa são um primeiro veículo na absorção da mistura no intestino delgado. A co-ingestão de carotenoides e uma gordura é muito importante para uma correta absorção (Story *et al.*, 2010; Arranz *et al.*, 2015). Os tratamentos térmicos também afetam a absorção e biodisponibilidade (Boileau *et al.*, 2002; Unlu *et al.*, 2007).

1.5.2 Vitaminas

As principais vitaminas presentes no tomate são a vitamina C (ácido ascórbico) e a vitamina E (tocoferol). A vitamina C é uma lactona com estrutura no anel de 6 carbonos com dois álcoois ligados nos carbonos 2 e 3. Nas plantas está presente em várias partes e compartimentos celulares (Baiano & Del Nobile, 2015). Quando ingerida é absorvida no trato gastrointestinal através de mecanismos de transporte ativo, ainda que quando presente em grandes concentrações este tipo de absorção possa saturar, o que obriga a que também exista alguma absorção por difusão passiva. No tomate encontram-se teores de 8 a 21 mg por 100 g de peso fresco (Pinela *et al.*, 2012; Abushita *et al.*, 2000; Frusciante *et al.*, 2007). O ácido ascórbico é captador de radicais livres o que lhe confere atividade antioxidante (Pinela, *et al.*, 2016).

Os tocoferóis compreendem 4 isoformas (α , β , γ e δ). Tal como os carotenoides a absorção da vitamina E é favorecida pela co-ingestão de gorduras para assim ocorrer a formação de micelas no intestino delgado. No tomate os tocoferóis geralmente encontram-se em concentrações na ordem de 0,17 a 1,44 mg por 100 g de peso fresco (Pinela *et al.*, 2012; Packer *et al.*, 2001). Estes compostos lipofílicos apresentam também capacidade antioxidante. Estes são os antioxidantes solúveis em lípidos que mais se encontram no plasma, nas células vermelhas e tecidos. Estão envolvidos na diminuição do risco de doenças do coração, Alzheimer e na prevenção de vários tipos de cancro (Pinela *et al.*, 2016; Burton & Traber, 1990).

O tomate contém ainda folatos (ácido fólico ou vitamina B₉) em concentrações de 12 a 18 μ g por 100 g de peso fresco. No organismo, os folatos regulam o metabolismo de homocisteína, que se pensa estar associada a fatores inflamatórios que causam risco de doenças cardiovasculares quando presentes em grandes quantidades (Selhub *et al.*, 1993; Hackam & Anand., 2003).

1.5.3 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos normalmente estão na forma de ésteres ou de glicosídeos devido à estabilidade das moléculas. Os ácidos hidroxicinâmicos e os flavonoides são os compostos fenólicos mais abundantes no tomate bem como, em toda a dieta (Barros *et al.*, 2012; Escarpa & Gonzalez, 2001). Nos ácidos hidroxicinâmicos os mais conhecidos e estudados no tomate são o ácido cafeico e o ácido clorogénico, nos flavonoides nomeadamente a quercetina e o kaempferol, podendo ainda estar presentes vários tipos de flavanonas e flavonóis. Estes compostos têm atividade antioxidante através da qual inibem a formação de compostos carcinogénicos e mutagénicos. De forma geral, estes compostos mostram capacidade antioxidante, captam radicais livres protegendo assim moléculas como o DNA, inibem ou ativam enzimas, e diminuem o stress oxidativo, são também anti-inflamatórios e anti-carcinogénicos (Nimse & Pal, 2015; Ihme *et al.*, 1996; Carbonell-Capella *et al.*, 2014).

Os compostos fenólicos nos frutos armazenam-se principalmente na pele, os quais têm funções de proteção do fruto contra o excesso de radiação solar e predadores. A biodisponibilidade e bioatividade dos compostos fenólicos é dependente da estrutura básica da molécula e de como esta afeta a capacidade de absorção, a qual pode variar com o tamanho da molécula, o grau de polimerização e glicosilação, a solubilidade e conjugação com outros compostos fenólicos (Carbonell-Capella *et al.*, 2014).

Os compostos de baixo peso molecular são absorvidos diretamente no intestino delgado, os de grande peso molecular são fracamente absorvidos, só sendo assimilados e metabolizados após algumas reações no trato digestivo (Helena *et al.*, 2015). O tratamento térmico do tomate, em geral, facilita a libertação destes compostos da matriz do tomate, o que permite uma melhor absorção, quando comparado com o consumo do tomate em fresco (Pinela *et al.*, 2016).

1.6 Espécies reativas e atividade antioxidante

Os radicais livres podem ser definidos como espécies (moléculas ou iões) que apresentam um ou mais eletrões desemparelhados na orbital exterior, mas sabe-se que os eletrões são mais estáveis quando emparelhados, esta é a causa pela qual os radicais são mais reativos do que as espécies não radicalares (Valko *et al.*, 2007). O balanço entre os benefícios e os efeitos nocivos dos radicais é um aspeto importante nos organismos vivos e é mediado por um mecanismo chamado “regulação redox”, este protege os organismos vivos contra vários tipos de stress (oxidativo ou nitrosaminico) e mantém a homeostase redox controlando o estado redox *in vivo* (Valko *et al.*, 2007).

Nos organismos existem dois tipos de radicais livres as espécies reativas de oxigénio (ROS) e as espécies reativas de azoto (RNS). As ROS incluem espécies radicalares livres como o anião superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroperóxilo (HO_2^{\cdot}), o radical hidroxilo (HO^{\cdot}), e espécies não radicalares o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), oxigénio singleto (1O_2), ácido hipocloroso (HOCl), as RNS incluem a espécie não radicalar óxido nítrico (NO), e a espécie radicalar o peróxido de nitrato ($ONOO^{\cdot}$) (Valko *et al.*, 2007). Estas moléculas surgem no organismo devido a fatores naturais associados ao próprio metabolismo dos organismos em processos como a respiração ou a metabolização de substâncias, fármacos ou xenobióticos, como ilustrado na figura nº 3 (Ferreira & Abreu, 2007). A inalação de oxigénio durante a respiração (oxigénio molecular) essencial para a vida aeróbia, é um dos principais fatores de formação de radicais com capacidade oxidante, é portanto, tóxico a determinadas concentrações, este fenómeno é denominado de paradoxo do oxigénio (Ferreira & Abreu, 2007).

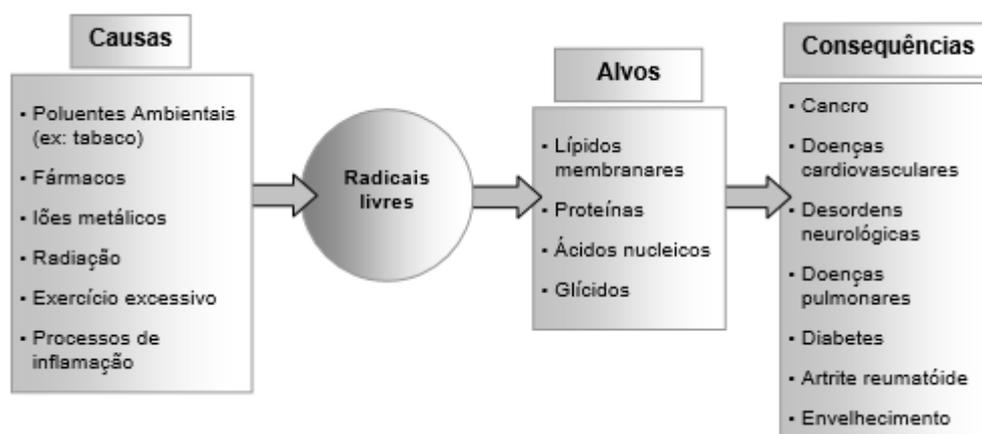


Figura nº 3 – Principais causas e consequências da ação dos radicais livres (Ferreira & Abreu, 2007).

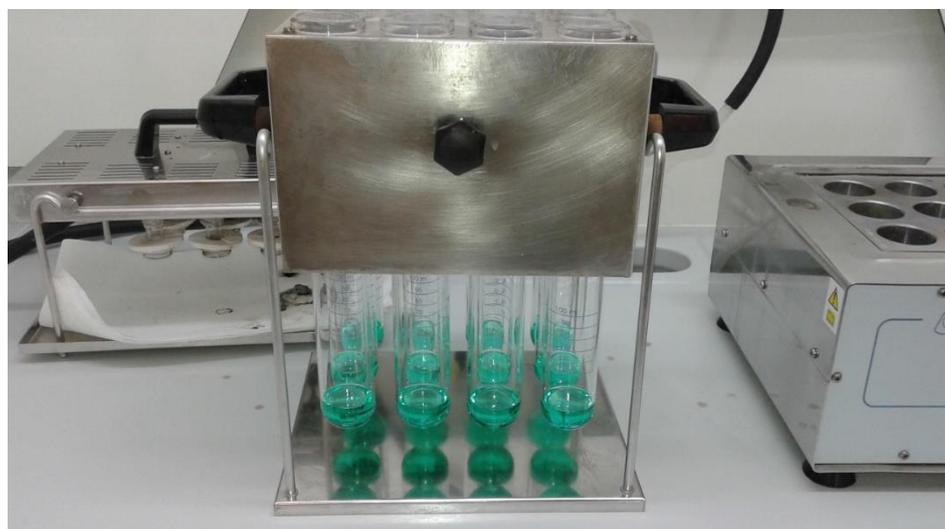
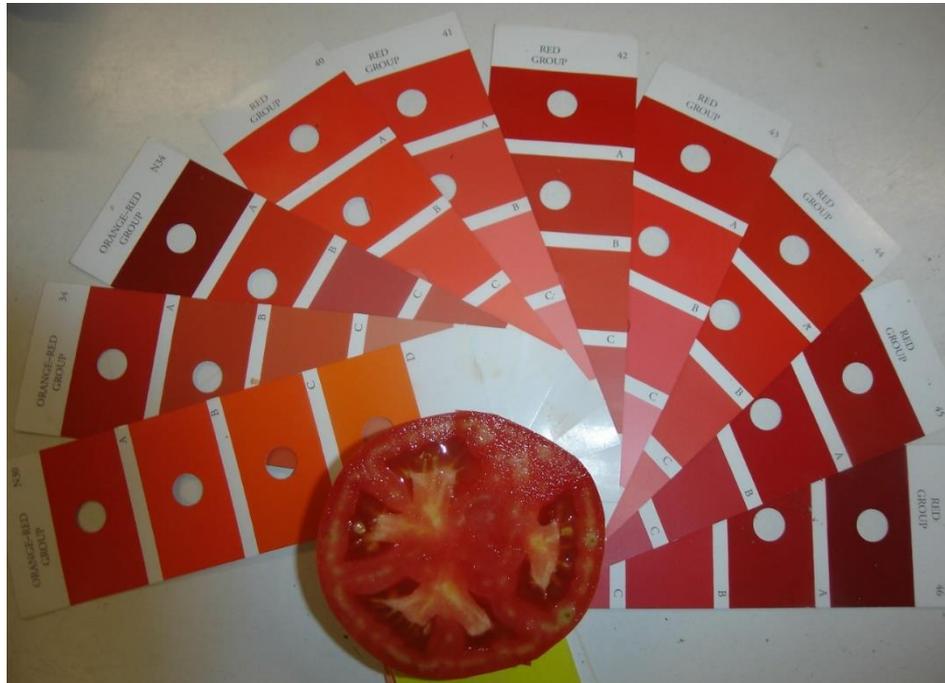
Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Os radicais livres estão presentes de forma natural no organismo e existe uma dualidade entre as suas funções nos organismos e a sua toxicidade, quando em grande quantidade são nocivos, mas em pequenas quantidades têm funções importantes como por exemplo a de mensageiro na cascata de sinalização que induz ou mantém um fenótipo oncogénico de células cancerígenas, ao contrário pode também funcionar como um anticancerígeno induzindo a senescência e apoptose celular e ainda como defesa contra agentes infecciosos (Valko *et al.*, 2007). Alterações na concentração destes radicais no organismo pode levar aos fenómenos de stress oxidativo ou stress nitrosativo. O stress oxidativo e o stress nitrosativo surgem quando há por um lado a sobre produção de ROS ou RNS e por outro a falta de defesas antioxidantes, ocorrendo portanto, a formação de espécies reativas no sistema que excedem a capacidade para as neutralizar ou eliminar, ocorrendo uma situação de excesso de radicais livres (Valko *et al.*, 2007). As reacções consequentes destes radicais com outras moléculas podem danificar estruturas celulares, incluindo lípidos, proteínas e DNA, alterando o seu normal funcionamento (Valko *et al.*, 2007). Este fenómeno ocorre nos organelos a nível celular de forma relevante, por exemplo, nas mitocôndrias responsáveis pela metabolização do oxigénio e como tal, fonte contaminante de ROS, são ao mesmo tempo as membranas lipídicas deste organelo o primeiro alvo dos efeitos nocivos destes radicais sofrendo peroxidação lipídica que pode causar apoptose celular (Ferreira & Abreu, 2007). Este fenómeno de stress oxidativo pode estar associado a carcinomas, doenças cardiovasculares, aterosclerose, hipertensão, isquemia e injúria por reperfusão, diabetes, cirrose, doenças neurodegenerativas (doença de Parkinson, doença de Alzheimer) artrite reumatoide, e outros processos inflamatórios, mas também processos de envelhecimento (Valko *et al.*, 2007).

Os organismos biológicos possuem mecanismos de defesa antioxidante que neutralizam os radicais livres os antioxidantes são definidos como sendo qualquer substância que quando presente em baixas concentrações por comparação com a concentração do substrato oxidável atrasa significativamente ou evita a oxidação desse substrato (Halliwell, 1995). Os mecanismos de defesa endógenos estão formados por sistemas enzimáticos e sistemas não enzimáticos. O sistema enzimático é formado pelas defesas primárias que previnem a formação ou neutralizam os radicais livres, inclui a enzima superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), e a glutaciona peroxidase (GPX), as defesas secundárias são constituídas pela glutaciona redutase e pela glutaciona peroxidase e reparam as lesões ocorridas (Ferreira & Abreu, 2007), a superóxido

dismutase e a catalase atuam em regiões hidrofílicas enquanto que a glutathione peroxidase atua em regiões lipofílicas. (Pinela, 2012) O sistema não enzimático retarda as reações de oxidação por meio da formação de compostos mais estáveis e da regeneração de alguns antioxidantes enzimáticos (Alves, 2012). Contudo por vezes estes mecanismos não são suficientes podendo a dieta ser uma boa estratégia para incrementação exógena de compostos antioxidantes, com o consumo de vegetais principalmente frutas e verduras, está-se a ingerir vitaminas (ácido ascórbico e α -tocoferol), minerais (selénio e zinco), carotenoides, flavonoides ou outros compostos fenólicos, mas também estilbenos, coumarinas, taninos, alcaloides e compostos organosulfurados, sendo que alguns são essenciais e o organismo não os biossintetiza, estão apenas presentes quando ingeridos na alimentação (Bianchi & Antunes 1999; Alves 2012; Pinela, 2012).

A manutenção do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes são uma condição essencial para o funcionamento normal do organismo (Valko *et al.*, 2007; Ferreira & Abreu, 2007). O controlo dos níveis de ROS e RNS no organismo pode ser assegurado mantendo níveis adequados de antioxidantes, quer seja pela ingestão de vegetais frutas e legumes na dieta, quer seja evitar comportamentos de risco que elevem a produção destes compostos no organismo, tais como o consumo de tabaco, ou álcool, ou ainda a exposição a poluentes ambientais e xenobióticos (Ferreira & Abreu, 2007).



2 - Material e métodos

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

2.1 Caracterização morfológica e avaliação agronómica

A caracterização morfológica e agronómica incidiu sobre 30 acessos selecionados a partir da coleção de germoplasma de variedades tradicionais e regionais de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) do BPGV, preservadas na forma de semente, em armazenamento a médio e longo prazo em câmaras refrigerada (Lista de acessos ensaiados, ver Anexo 3).

Na sequência de um ensaio de multiplicação e regeneração com a finalidade de aumentar a disponibilidade e a qualidade de semente conservada para cada acesso, as sementes dos acessos selecionados pelo BPGV foram postas a germinar e as respetivas plântulas transferidas para os campos de ensaio nas instalações do INIAV-BPGV, em S. Pedro de Merelim, Braga, onde se mantiveram em condições adequadas de cultivo, ao longo de vários meses, até ao final do seu ciclo vegetativo, que correspondeu à maturação e colheita dos frutos e sementes.

O acompanhamento do ensaio de campo implicou a realização de várias atividades relacionadas com o ciclo da cultura, tais como:

- (i) Remoção de infestantes.
- (ii) Proteção sanitária contra pragas e doenças, nomeadamente lagartas e alfinete e aplicação de fitofármacos.
- (iii) Fertilização, em particular fornecimento de cálcio e magnésio para compensar a sua deficiência
- (iv) Rega gota-a-gota, junto às plantas.
- (v) Execução de várias podas em verde ao longo do ciclo vegetativo para manter a forma típica da planta.
- (vi) Controlo da polinização cruzada entre talhões, tarefa de extrema importância nesta circunstância de multiplicação de vários acessos. Assim recorreu-se à polinização artificial das plantas de cada população, para evitar cruzamentos entre variedades.

Cada acesso foi cultivado em estufa com separação física das populações em diferentes parcelas e cubículos.

Todos os acessos em estudo foram instalados sob as mesmas condições edafoclimáticas e acompanhados da mesma forma (por exemplo, dotação de rega, poda, tratamentos fitossanitários), atendendo apenas às variações inerentes ao ciclo vegetativo de cada variedade. Deste modo, pretendeu-se minorar os efeitos dos fatores abióticos na composição química do material vegetal analisado.

O ensaio de caracterização morfológica, propriamente dito, decorreu entre 8 de Abril e 24 de Outubro de 2016. A caracterização dos acessos fez-se através da aplicação de alguns descritores que foram escolhidos de entre os descritores preconizados pelo “International Plant Genetic Resource Research Institute” (IPGRI), “European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources” (ECPGR) e da “International Union For The Protection of New Varieties of Plants” (UPOV) para caracterização de germoplasma de *Solanum lycopersicum* L. (ECPGR, 2008, IPGRI, 1996, UPOV, 2011).

Recorreu-se ao uso de descritores para medir a variabilidade das características morfológicas entre os acessos, estes aplicam-se tanto no campo como no laboratório (ver lista de descritores no anexo 2). No campo aplicaram-se 5 descritores para as características da planta, 6 descritores para as folhas, 6 descritores para as inflorescências 2 para os frutos e 12 relativos a épocas do ciclo vegetativo. No laboratório aplicaram-se 18 descritores para a caracterização morfológica dos frutos. Cada um destes descritores tem uma referência que corresponde a uma escala quantitativa ou qualitativa (baseada na descrição ou imagem do carácter a reportar), correspondendo-lhes instruções específicas para fazer a medição.

As tarefas inerentes à aplicação dos descritores consistem em realizar medições, comparar cores, comparar órgãos de plantas com desenhos ilustrativos desses órgãos, contar e marcar o número de órgãos, fotografar, e registar os dados. Cada tipo de descritor é aplicado em épocas próprias do desenvolvimento vegetativo, correspondendo a diferentes etapas do crescimento das plantas. Os resultados de cada descritor são expressos não de forma individual por planta, mas de forma conjunta, de modo a fornecer a informação geral por acesso através de média, moda e desvio padrão.

2.2 Lista de descritores morfológicos e agronômicos utilizados

- 1 – *Tipo de crescimento da planta (PGT)*; (ECPGR, 2008; UPOV, 2011)
- 2 – *Largura da planta na época de floração (PHF)*; (IPGRI, 1996)
- 3 – *Altura da planta na época de floração (PWF)*; (IPGRI, 1996)
- 4 – *Largura da planta na época de maturação (PHM)*; (IPGRI, 1996)
- 5 – *Altura da planta na época de maturação (PWM)*; (IPGRI, 1996)
- 6 – *Cor das folhas (LC)*; (UPOV, 2011)
- 7 – *Atitude das folhas (LA)*; (UPOV, 2011; IPGRI, 1996)
- 8 – *Atitude das inflorescências (IA)*;
- 9 – *Largura da folha (LW)*; (UPOV, 2011)
- 10 – *Comprimento da folha (LH)*; (UPOV, 2011)
- 11 – *Tipo de folha (LTp)*; (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008.)
- 12 – *Tipo de lóbulos da folha (LTB)*; (UPOV, 2011)
- 13 – *Data de início da floração (DFB)*; (IPGRI, 1996; UPOV, 2011)
- 14 – *Data de fim da floração (DFE)*;
- 15 – *Tempo de floração (TF)*; (IPGRI, 1996)
- 16 – *Tempo entre a germinação e a floração (TBGF)*; (IPGRI, 1996)
- 17 – *Tipo de inflorescência (IT)*; (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008; UPOV, 2011)
- 18 – *Número de inflorescência (IN)*; (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008; UPOV, 2011)
- 19 – *Número de flores por inflorescência (NFPI)*; (IPGRI, 1996)
- 20 – *Número de frutos por inflorescência (NFrPI)*; (IPGRI, 1996)
- 21 – *Cor das flores (FC)*; (UPOV, 2011)
- 22 – *Data de início da frutificação (DFrB)*; (IPGRI, 1996; UPOV2011)
- 23 – *Data do fim da frutificação (DFrE)*;
- 24 – *Tempo de frutificação (FrT)*; (IPGRI, 1996)
- 25 – *Tempo entre a germinação e a frutificação (TBGFr)*; (IPGRI, 1996)
- 26 – *Data de início da colheita (DHB)*;
- 27 – *Data do fim da colheita (DHE)*;
- 28 – *Tempo de colheita (TH)*;
- 29 – *Tempo entre a germinação e a colheita (TBGH)*;
- 30 – *Comprimento do pedúnculo do fruto (PL)*; (UPOV, 2011; IPGRI, 1996)

- 31 – *Presença ou ausência de nódulo de divisão do pedúnculo do fruto (PAJP)*; (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008)
- 32 – *Tamanho da cicatriz do pedúnculo do fruto (SPS)*; (IPGRI, 1996; UPOV, 2011)
- 33 – *Rugosidade do fruto junto ao cálice (RACE)*; (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008; UPOV, 2011.)
- 34 – *Forma do ombro do fruto (FSSh)*; (IPGRI, 1996)
- 35 – *Forma da extremidade do fruto oposta ao cálice (ShBE)*; (IPGRI, 1996; UPOV, 2011)
- 36 – *Cor exterior do fruto imaturo (ECIFr)*; (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008)
- 37 – *Cor exterior do fruto maduro (ECMFr)*; (IPGRI, 1996; UPOV, 2011)
- 38 – *Forma predominante do fruto (PFSh)*; (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008; UPOV, 2011)
- 39 - *Peso do fruto (FrWei)*; (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008)
- 40 – *Comprimento do fruto (FrL)*; (IPGRI, 1996)
- 41 - *Tamanho do fruto (FrS)*; (IPGRI, 1996; UPOV, 2011)
- 42 – *Largura do fruto (FrWid)*; (IPGRI, 1996)
- 43 – *Diâmetro do fruto (FrD)*; (IPGRI1996)
- 44 - *Forma do fruto seccionado ao meio (FrCSSh)*; (IPGRI, 1996)
- 45 - *Cor interior do fruto (ICOFr)*; (IPGRI, 1996; UPOV, 2011)
- 46 – *Diâmetro do interior do fruto (DIFr)*; (IPGRI, 1996; UPOV, 2011)
- 47 - *Número de lóculos do fruto (NLPr)*; (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008; UPOV, 2011)
- 48 - *Número de frutos por planta (NOFr)*;
- 49 – *Peso total de frutos por planta (TWFr)*;

2.3 Caracterização nutricional e propriedades bioativas

Neste estudo, foi avaliado o valor nutricional dos diferentes frutos, assim como as suas propriedades antioxidantes. Os subprodutos de origem vegetativa da cultura, foram caracterizados em termos de compostos bioativos (fenóis e flavonoides totais) e atividade antioxidante. Estes subprodutos consistem nas folhas/rama podadas ao longo do ciclo cultural, isto é, “lançamentos de poda em verde” e à parte aérea/rama recolhida após a maturação dos frutos, antes de estar completamente seca “plantas em fim de ciclo vegetativo”.

As amostras para o estudo da caracterização nutricional e determinação das propriedades bioativas obtiveram-se a partir de plantas escolhidas aleatoriamente, de entre as presentes nas populações de cada um de cinco acessos inicialmente escolhidos. Os cinco acessos eleitos para este tipo de análise eram originários do interior do território nacional, distritos de Bragança e Guarda, e foram selecionados à partida de entre os 30 acessos de variedades regionais de tomate usados para a caracterização morfológica e agronómica.

Contudo, no decorrer do ensaio de campo para obtenção de semente e material vegetal para análise verificou-se que, no caso de um dos acessos (acesso 12446), a produção de frutos maduros não foi suficiente para garantir em simultâneo material para recolha de semente e para a caracterização química. Assim sendo, o material vegetal para análise nutricional e determinação das propriedades bioativas corresponde aos frutos maduros de apenas 4 dos acessos inicialmente escolhidos e aos subprodutos dos 5 acessos, dado existir a disponibilidade desses materiais vegetais, ao longo do ensaio de campo.

2.3.1 Preparação das amostras correspondentes aos frutos maduros

Os frutos dos vários acessos em ensaio foram colhidos aleatoriamente durante a época de maturação. O fruto deve apresentar a coloração típica da variedade e estar totalmente maduro e isento de sinais de doenças e pragas. A colheita foi realizada durante a manhã, em dias de sol, de forma a não causar stress na planta e a melhorar a conservação dos frutos. Após a colheita e durante o próprio dia procedeu-se à

identificação, limpeza, pesagem, congelação, transporte e armazenamento dos frutos a -18°C.

Os frutos congelados foram posteriormente liofilizados, reduzidos a pó (20 mesh) e as amostras secas homogêneas desprovidas de sementes foram guardadas a -20 °C até ao momento de realização das análises.

2.3.2 Preparação das amostras correspondentes aos subprodutos da cultura

Os subprodutos da cultura do tomate são lançamentos de poda em verde, isto é, folhas cortadas durante a realização da poda das plantas, feita com o intuito de favorecer a formação de flores e conseqüentemente de frutos. Estas folhas crescem de forma aleatória por toda a planta e durante toda a época de crescimento da planta, sendo eliminadas pelo menos duas vezes durante o ciclo de cultivo. Outros subprodutos são a parte aérea ou rama que permanece após a época de maturação e colheita dos frutos, material em fim de ciclo de cultivo, isto é material que já não tem um aspeto fresco, estando parcialmente seco e despigmentado.

Os subprodutos das podas foram colhidos pela manhã em dias de sol de forma a não causar stress na planta. A rama foi retirada no final do ciclo cultural antes de estar completamente seca. Após a colheita e durante o próprio dia os subprodutos são congelados e armazenados a -18°C.

Os subprodutos foram também liofilizados, reduzidos a pó (20 mesh) e armazenados a -20 °C até ao momento de realização das análises.

2.3.3 Composição centesimal

Os teores em humidade, proteínas, gordura e cinzas das amostras dos frutos foram determinados seguindo os procedimentos oficiais de análise da AOAC (AOAC, 2016).

2.3.3.1 Teor de humidade

Os teores de humidade foram determinados através do método gravimétrico, usando a liofilização das amostras como processo de secagem.

As amostras inicialmente foram pesadas em balança analítica, congeladas, trituradas, colocadas em sacos e rotuladas. Em seguida foram liofilizadas (Freezone 4.5 labconco, Kansas City, MO, USA) durante o tempo necessário para a total eliminação da água. As amostras foram retiradas do liofilizador e pesadas novamente. Posteriormente foram pulverizadas no moinho/trituradora e guardadas em tubos de falcon (de 26 mL).

O teor de humidade foi calculado através da seguinte equação: O teor em humidade foi determinado pela diferença entre a massa da amostra fresca e a massa da amostra após liofilização:

$$\text{Massa de água} = m_f - m_s$$

Sendo que:

m_f – massa de amostra fresca

m_s – massa de amostra seca

Os resultados foram expressos em g por 100 g de massa fresca.

2.3.3.2 Determinação da proteína bruta

A determinação da quantidade de proteína bruta (total) foi realizada pelo método Macro-Kjeldahl. Seguindo este método o teor de proteína bruta é obtido multiplicando o teor de azoto total de origem orgânica presente na amostra por um fator corretivo ou convencional ($N \times 6,25$). Determinou-se o teor de azoto através da mineralização da matéria orgânica por adição de ácido sulfúrico (15 mL H_2SO_4), na presença de um catalisador (pastilhas kjetabs com a composição de 5 g sulfato de potássio e 0,5 g sulfato de cobre II) o que transforma o azoto em sal de amónio (iões de amónio ligados a iões de sulfato formando sulfato de amónio). Durante a reação, o amónio é libertado em meio alcalino destilado, recolhido em meio ácido e posteriormente titulado.

Para realizar o procedimento, foram pesados 0,5 g de amostra, previamente liofilizada e pulverizada, e colocada num tubo de digestão de 250 mL, ao qual se adicionou 15 mL de ácido sulfúrico e duas pastilhas catalisadoras de sulfato de cobre (9% Cu). A digestão realizou-se no bloco digestor (“Block Digester System” - Velp

Sientífica), à temperatura de 400 ± 50 °C, com sistema de eliminação dos vapores produzidos durante o período de digestão. A reação terminou quando a solução apresentou um aspeto límpido de coloração azul clara, transparente, o que significa que a mineralização está completa (aproximadamente 3h). Após arrefecer, os resíduos da digestão foram dissolvidos em água (25 mL) e a solução foi transferida para um aparelho que faz a destilação e titulação automaticamente (Pro Nitro-A, Selecta, Spain). O valor de massa de azoto das amostras foi calculado automaticamente pelo aparelho e expresso em massa de azoto (mg) presente na amostra. Na determinação da quantidade de azoto é utilizada uma solução “Branco” ou controlo negativo, digerida apenas com o ácido e o catalisador. Foi utilizada também uma solução de “referência” ou controlo positivo que contém uma amostra de alho com concentração de azoto conhecida. Os resultados foram expressos em g por 100g de massa fresca.

2.3.3.3 Determinação do teor em gordura

A determinação do teor de gordura foi realizada após extração de uma massa conhecida de amostra liofilizada com o solvente orgânico éter de petróleo, onde o tempo mínimo de extração foi de 7 h num aparelho de Soxhlet.

Na realização do procedimento, foram pesadas 2,5 g de amostra previamente liofilizada e pulverizada, para um cartucho de papel de filtro e colocado no aparelho de Soxhlet, adicionou-se éter de petróleo para iniciar a extração à temperatura de ± 120 °C. Após 7 h o solvente foi recuperado num evaporador rotativo e a amostra colocada a secar na estufa a 40-50 °C, após arrefecida a temperatura ambiente, foi pesada em balança analítica.

Os resultados foram expressos em g por 100 g de massa fresca.

2.3.3.4 Determinação do teor de cinzas

A determinação do teor em cinzas foi realizada pelo método gravimétrico recorrendo à inceneração das amostras em mufla. Para realização do procedimento, pesaram-se 250 mg de amostra liofilizada e pulverizada que foram colocadas em cadinhos previamente calcinados, pesados e armazenados num exsiccador. As amostras colocadas nos cadinhos foram postas na mufla (48000 Furnace, Thermolyne, USA) para

incineração a 600 ± 15 °C durante uma noite (aproximadamente 12 h). Após este período, as amostras foram retiradas da mufla e armazenadas no exsiccador enquanto arrefeciam. Passados 30 minutos foram pesadas em balança analítica e o teor em cinzas foi calculado. Os resultados foram expressos em g por 100 g de massa fresca.

2.3.3.5 Determinação do teor em hidratos de carbono

A determinação do teor em hidratos de carbono foi calculada por diferença aplicando a seguinte fórmula:

$$\text{Hidratos de carbono} = [100 - (\text{massa}_{\text{água}} + \text{massa}_{\text{gordura}} + \text{massa}_{\text{proteínas}} + \text{massa}_{\text{cinzas}})]$$

Os resultados foram expressos em g por 100 g de massa fresca.

2.3.3.6 Determinação do valor energético

O valor energético foi calculado de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de Outubro de 2011 (Regulamento UE n.º 1169, 2011), utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Valor energético (kcal/100 g)} = 4 \times (\text{m}_{\text{proteínas}} + \text{m}_{\text{hidratos de carbono}}) + 9 \times (\text{m}_{\text{gordura}})$$

Os resultados foram expressos em kcal por 100 g de massa fresca.

2.3.4 Açúcares individuais

Os açúcares foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de índice de refração (HPLC-RID), conforme descrito no procedimento de Pereira *et al.*, (2011).

Na realização do procedimento, foi pesado 1 g de amostra liofilizada, a qual foi enriquecida com melezitose (1 mL, padrão interno, 5 mg/mL), submetidas a extração com 40 mL de uma solução hidroalcoólica de etanol-água de 80-20 (v/v), durante 1h30 num banho a 80 °C. A suspensão resultante foi centrifugada (Centrifuga refrigerada Centorion K240R-2003) a 15,000 g durante 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado e o

etanol evaporado sob pressão reduzida (evaporador rotativo Büchi R-210, Flawil, Suíça) à temperatura de 60 °C. O extrato resultante foi deslipificado através três lavagens sucessivas com éter dietílico (10 mL) numa ampola de decantação. Após concentração, os resíduos sólidos foram redissolvidos em água, perfazendo um volume final de 5 mL, filtrados através de um filtro de nylon de 0,22 µm (Whatman) para vials âmbar e a solução foi guardada para posterior análise por HPLC-RID. O equipamento de HPLC consistiu num sistema integrado com uma bomba (Knauer, smartline system 1000), num sistema desgaseificador (Smartline manager 5000), um amostrador automático (AS-2057 Jasco) e um detetor RID (Knauer smartline 2300). A separação cromatográfica foi conseguida com uma coluna Eurospher 100-5 NH₂ (4,6 × 250 mm, 5 µm, Knauer) operando a 30 °C (forno 7971 R Grace). Na fase móvel foi usado acetonitrilo/água desionizada 70:30 (v/v) com um fluxo de 1 mL/min. O volume de injeção foi de 10 µL. Os dados foram analisados utilizando o software clarity 2.4 (Data Apex).

A identificação dos compostos foi feita por comparação cromatográfica dos tempos de retenção relativos dos picos com os de padrões comerciais. A quantificação foi realizada utilizando o método do padrão interno. Os resultados foram expressos em g por 100 g de massa fresca.

2.3.5 Ácidos gordos

Os ácidos gordos foram determinados por cromatografia gasosa com detetor de ionização por chama (GC-FID), conforme descrito por Barros *et al.*, (2010a).

Os resíduos da extração por Soxhlet foram submetidos a um processo de derivatização, para aumentar a volatilização dos compostos, retirando as moléculas de glicol e convertendo os ácidos carboxílicos a ésteres metílicos, com adição de 5 mL de uma mistura de metanol: ácido sulfúrico: tolueno 2:1:1 (v/v/v). Esta solução foi colocada a agitar no vórtex e posteriormente foi colocada durante 12 h num banho termo-estabilizado a 50 °C com agitação a 160 rpm. De seguida, adicionaram-se 3 mL de água desionizada para obter a separação das fases. A mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME – Fater Ácid Metil Éster) foi recuperada com a adição de 3 mL de éter dietílico por agitação no vórtex e a água foi eliminada por adição de sulfato de sódio anidro. De seguida, as amostras foram recuperadas para um vial com teflon e filtradas com um filtro de nylon 0,2 µm Milipore para posterior injeção.

A análise de ácidos gordos foi realizada por Cromatografia Gasosa (DANI 1000) equipada com um injetor *split/splitless*, um detetor de ionização por chama (FID a 260 °C) e uma coluna Macherey Nagel (30 m × 0,32 mm ID × 0,25 µm *df*). A rampa de temperaturas do forno foi a seguinte: a temperatura inicial da coluna foi de 50 °C, durante 2 min, depois a 30 °C/min, aumentou para 125 °C, a 5 °C/min aumentou para 160 °C, a 20 °C/min aumentou para 180 °C, a 3 °C/min aumentou para 200 °C e a 20 °C/min aumentou para 220 °C, temperatura que foi mantida durante 15 min. O fluxo do gás de transporte (hidrogénio) foi de 4,0 mL/min. (0,61 bar), medido a 50 °C. A injeção *split* (1:40) foi realizada a 250 °C. Foi injetado 1 µL de amostra por análise. A identificação dos ácidos gordos foi feita comparando os tempos relativos de retenção dos picos dos FAME das amostras com padrões comerciais. Os resultados foram processados usando o software CSW 1,7 (DataApex 1,7) e expressos em percentagem relativa de cada ácido gordo.

2.3.6 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia líquida ultrarrápida acoplada a um detetor de fotodíodos (UFLC-PDA), conforme descrito por Pereira *et al.*, (2013).

Na realização do procedimento, as amostras liofilizadas (1 g), foram submetidas a uma extração com ácido metafosfórico (4,5 %) durante 20 minutos, sob agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. As soluções foram filtradas com papel de filtro (Whatman n.º 4) e posteriormente com um filtro de nylon 0,22 µm para vials âmbar para posterior injeção. A análise foi realizada por UFLC-PDA, utilizando um equipamento Shimadzu 20A series (Shimadzu Corporation Kyoto, Japan). A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna C18 “Sphere-clone” (Phenomenex, Torrance, CA, USA) de fase reversa (5 µm, 250 × 4,6 mm i.d) termostaticada a 35 °C. A eluição foi feita com ácido sulfúrico 3,6 mM com um fluxo de 0,8 ml/min. O detetor PDA foi usado para deteção aos comprimentos de onda de 215 e 245 nm (para o ácido ascórbico).

Os ácidos orgânicos foram quantificados por comparação da área dos picos registados a 215 nm ou 245 nm com as curvas de calibração obtidas a partir de padrões comerciais. Os resultados foram expressos em mg por 100 g de massa fresca.

2.3.7 Tocoferóis

A determinação do teor de tocoferóis foi realizada seguindo o procedimento previamente otimizado e descrito por Barros *et al.*, (2010b).

Antes do processo de extração, foi adicionado às amostras liofilizadas (500 mg) uma solução de hidroxitolueno butilado (BHT) em hexano (10 mg/mL, 100 µL) e uma solução de tocol em hexano (PI, 50 µL/mL, 400 µL). As amostras foram depois homogenizadas com metanol (4 mL) no vórtex durante 1 min. Posteriormente, adicionou-se hexano (4 mL), homogeneizou-se no vórtex durante 1 min, em seguida adicionou-se uma solução aquosa concentrada de NaCl (2 mL), homogeneizou-se mais 1 min, centrifugou-se (5 min, 4000 g, 10 °C) e recolheu-se cuidadosamente o sobrenadante para um vial âmbar. O processo de extração foi repetido mais duas vezes com hexano, sempre a baixas temperaturas (uso de gelo) e protegido da luz. Os extratos foram secos em corrente de azoto, redissolvidos em 2 mL de hexano, desidratados com sulfato de sódio anidro e filtrados através de um filtro de nylon 0,22 µm (Whatman) para vials âmbar para posterior injeção. A análise foi realizada num sistema de HPLC acoplado a um detetor de fluorescência (FP-2020 Flu.) programado para comprimentos de onda de excitação de 290 nm e de emissão de 330 nm. A separação cromatográfica foi conseguida com uma coluna de polícriamina II de fase normal (250 × 4,6 mm; YMC Waters) a funcionar à temperatura de 30 °C. A fase móvel consistiu numa mistura de *n*-hexano e acetato de etilo 70:30 (v/v) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min. O volume de injeção foi de 10 µL. Os resultados foram analisados utilizando o software clarity 2.4 (Data Apex). Os compostos foram identificados por comparação cromatográfica do sinal de fluorescência com o de padrões comerciais e quantificados pelo método de padrão interno. Os resultados foram expressos em µg por 100 g de massa fresca.

2.3.8 Determinação de carotenoides (licopeno e β -caroteno) e de clorofilas a e b

A determinação do teor em caroteno, licopeno, clorofila a e clorofila b foi realizado seguindo o procedimento descrito por Nagata e Yamashita (1992).

Na realização do procedimento, as amostras secas e pulverizadas (0,5 g) foram extraídas com uma mistura de acetona-hexano (4:6) (10 mL) por agitação no vórtex durante 1 minuto. Após filtração com papel de filtro Whatman nº4, a absorvância destas amostras foi medida num espectrofotómetro (Analytik Jena modelo 200, Jena, Alemanha) a 453, 505, 645 e 663 nm. Os pigmentos foram quantificados de acordo com as seguintes equações:

- β -caroteno (mg/100 mL) = $0.216 \times A_{663} - 1.220 \times A_{645} - 0.304 \times A_{505} + 0.452 \times A_{453}$;
- Licopeno (mg/100 mL) = $- 0.0458 \times A_{663} + 0.204 \times A_{645} - 0.304 \times A_{505} + 0.452 \times A_{453}$;
- Clorofila a (mg/100 mL) = $0.999 \times A_{663} - 0.0989 \times A_{645}$;
- Clorofila b (mg/100 mL) = $- 0.328 \times A_{663} + 1.77 \times A_{645}$.

Os resultados foram expressos em mg por 100 g de massa fresca.

2.4 Propriedades antioxidantes

As propriedades antioxidantes das amostras (frutos e subprodutos) foram avaliadas recorrendo aos seguintes ensaios *in vitro*:

- Atividade captadora de radicais DPPH;
- Poder redutor (ensaio do ferricianeto / azul da Prússia);
- Método de Folin-Ciocalteu para quantificação de fenóis totais;
- Método do cloreto de alumínio para quantificação de flavonoides totais.

2.4.1 Preparação dos extratos

As amostras (~1 g) liofilizadas e pulverizadas (20 Mesh), foram submetidas a uma maceração dinâmica durante 1 hora à temperatura ambiente, utilizando uma mistura de 30 mL de etanol:água 80:20 (v/v) como solvente de extração (Pereira *et al.*, 2011).

A mistura foi posteriormente filtrada através de papel de filtro (Whatman nº4) e o resíduo re-extraído com uma porção adicional de solvente (30 mL) nas condições previamente descritas. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida no evaporador rotativo (Büchi R-210) e a fase aquosa foi liofilizada.

O rendimento da extração foi calculado de acordo com a equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa de extrato seco} / \text{massa inicial de amostra}) \times 100$$

Posteriormente os extratos secos foram redissolvidos no mesmo solvente de re-extração para obter soluções mãe com uma concentração de 10 mg/mL. A partir destas soluções, prepararam-se extratos aquosos com diferentes concentrações através de diluições sucessivas (de 10 mg/mL a 0,1563 mg/mL) para avaliar a atividade antioxidante e quantificar fenóis e flavonoides totais.

2.4.2 Atividade captadora de radicais livres DPPH

A determinação da atividade captadora de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) foi realizada conforme o procedimento descrito por Pinela *et al.*, (2011). Para realizar este ensaio, utilizou-se uma microplaca de 96 poços. A cada poço da placa foram adicionados 30 µL de solução extrato a diferentes concentrações e 270 µL de solução metanólica de DPPH à concentração de $(6 \times 10^{-5} \text{ mol/L})$. A mistura foi incubada durante 1 hora ao abrigo da luz. Foi preparado um branco com solvente de extração em vez de extrato. Em seguida mediu-se a absorvância ao comprimento de onda de 515 nm num leitor de microplacas ELX 800 (Bio-tek equipamento, inc, Winooski, VT, USA) para avaliar a redução do radical DPPH. A atividade captadora de radicais (ACR) foi calculada pela percentagem da descoloração de DPPH como consequência da captura do radical, utilizando a equação:

$$\% \text{ ACR} = (A_{\text{DPPH}} - A_s) / A_{\text{DPPH}} \times 100$$

Onde A_{DPPH} corresponde à absorvância da solução de DPPH e A_s corresponde à absorvância da solução de DPPH na presença de extrato. O valor de EC_{50} (concentração efetiva de extrato responsável pela captação de 50 % de radicais DPPH) foi calculado por interpolação gráfica da percentagem de ACR em função da concentração do extrato. Trolox foi utilizado como controlo positivo.

2.4.3 Poder redutor

O poder redutor dos extratos foi avaliado seguindo o procedimento previamente descrito por Pinela *et al.*, (2011). Os extratos a diferentes concentrações (500 μ L) foram misturados com tampão fosfato de sódio (200 mmol/L; pH 6,6; 0,5 mL) e ferricianeto de potássio (1% w/v 0,5 mL). A mistura foi seguidamente incubada a 50 °C durante 20 minutos. Após este período adicionou-se ácido tricloroacético (10 % w/v 0,5 mL). Em seguida a mistura (0,8 mL) foi transferida para uma microplaca de 46 poços contendo água desionizada (0,8 mL) e cloreto de ferro (0,1 % w/v 0,16 mL) e a absorvância foi medida a 690 nm no leitor de microplacas referido anteriormente. Foi preparado um branco com solvente de extração em vez de extrato. A concentração de extrato que fornece 0,5 de absorvância (valor de EC_{50}) foi calculada a partir do gráfico da absorvância a 690 nm em função da concentração de extrato. Trolox foi usado como controlo positivo.

2.4.4 Fenóis e flavonoides totais

A determinação dos fenóis totais foi realizada conforme o procedimento descrito por Wolfe *et al.*, (2003), com algumas modificações. Para realização do procedimento, 500 μ L de uma solução extrato com uma concentração de 5 mg/mL (para os frutos) ou de 2,5 mg/mL (para os subprodutos) foram misturados com reagente de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v em água; 2,5 mL) e carbonato de sódio (75 g/L; 2 mL). Após agitação no vórtex a mistura foi incubada a 40 °C durante 30 minutos. A absorvância foi depois medida a 765 nm num espectrofotómetro (Analytik Jena modelo 200, Jena, Alemanha). Esta reação baseia-se na formação de um complexo de cor azul entre o molibdénio e o tungsténio presente no reagente de Folin-Ciocalteu que reage com os agentes redutores do extrato. Foi preparado um branco com solvente de extração em vez de extrato. O ácido gálico foi usado como padrão para construir a reta de calibração (Concentrações utilizadas 0,05 / 0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,8 / 1 μ M; $y = 2,0372x + 0,043$; $R^2 = 0,9981$) usada na Caracterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

quantificação. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (GAE) por g de extrato.

A determinação dos flavonoides totais foi estimada conforme o procedimento descrito por Zhishen *et al.*, (1999), com algumas modificações. Na realização do procedimento para quantificação de flavonoides totais, 500 µL de solução extrato com uma concentração de 10 mg/mL (para os frutos) ou de 5 mg/mL (para os subprodutos) foram misturados com água destilada (2 mL) e uma solução de NaNO₂ (5 %, 150 µL) e agitados no vórtex. Após 6 min de repouso, adicionou-se AlCl₃ (10 %, 0,15 mL), agitou-se no vórtex e deixou-se repousar durante 6 min. Posteriormente adicionou-se NaOH (4 %, 2 mL) e água destilada (200 µL) e agitou-se novamente no vórtex. Após 15 min de repouso, a absorvância foi medida a 510 nm no espectrofotômetro previamente mencionado. Esta reação baseia-se na formação de um complexo entre o alumínio e os flavonoides redutores presentes no extrato. Foi preparado um branco com solvente de extração em vez de extrato. A catequina foi usada para construir a reta de calibração (Concentrações utilizadas 0,03125 / 0,0625 / 0,125 / 0,25 / 0,5 / 1 µM; $y = 0,8578x + 2 \times 10^{-5}$; $R^2 = 0,9999$) usada na quantificação. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de catequina (CE) por grama de extrato.

2.5 - Análise estatística dos resultados

A análise estatística aplicada na interpretação dos resultados da caracterização morfológica e para os dados de caracterização nutricional e avaliação da bioatividade foi utilizado o software SPSS.

Para a caracterização morfológica, foi feita a análise descritiva dos dados por acesso onde foi determinada a média o desvio padrão, a moda e a mediana, bem como, amplitude dos dados dentro dos acessos e entre os acessos, resumindo-se os melhores e piores resultados para cada descritor. Com os resultados dos descritores qualitativos e quantitativos foi feito um dendrograma que ilustra a proximidade das características morfológicas entre os vários acessos. Com os resultados dos descritores quantitativos foi feita uma análise de componentes principais (PCA) para observar através da representação gráfica a influência dos descritores na discriminação entre os acessos e outro PCA para observar graficamente a distribuição dos acessos (agrupamentos) em função dos resultados obtidos em cada descritor. Com os resultados quantitativos

realizou-se também um dendrograma para ilustrar a proximidade entre os acessos resultante da avaliação das características morfológicas.

No tratamento estatístico dos resultados obtidos na análise nutricional e avaliação bioquímica dos acessos de tomate, as amostras foram medidas com repetições e os resultados foram expressos em valores médios e desvio padrão. Os resultados foram analisados através da análise de variâncias ANOVA e do teste de comparação múltipla de médias Tukey, com um valor de significância de 0,05. Este tratamento estatístico foi realizado utilizando o software SPSS. As diferenças estatísticas obtidas pela ANOVA foram representadas por letras ordenadas alfabeticamente por ordem decrescente de acordo com os valores dos resultados, sendo que essas diferenças são significativas.



3 - Resultados e discussão

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

3.1 Caracterização morfológica e avaliação agronómica

A caracterização do ponto de vista morfológico dos diferentes acessos de *Solanum lycopersicum* L. tem como resultado valores (médias, medianas e modas) de medições realizadas a traços fenotípicos importantes para a descrição e distinção entre as variedades regionais desta espécie. Neste âmbito, o aumento da informação acerca destes recursos genéticos facilita a sua utilização e reintrodução em cultivo e em programas de melhoramento e contribui para a valorização destes recursos genéticos.

Durante o ensaio de campo realizado, os acessos que obtiveram as melhores percentagens de germinação foram quatro, correspondendo às variedades de tomate de “cachos lisos e redondos” do Manique do Intendente Lisboa (acesso 11350), à variedade de tomate “maçã” de Amiais de Baixo em Santarém (acesso 11400), à de tomate “cabecinhas” de Aldeia Velha em Portalegre (acesso 11907) e à de tomate “antigo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12446). Estas quatro variedades registaram 96% de sementes viáveis. A variedade que obteve a menor percentagem de germinação com apenas 48% das sementes germinadas foi a de tomate “sem varas” de Peredo da Bemposta em Bragança (acesso 12465).

O estudo das características morfológicas prosseguiu com as plantas bem desenvolvidas após os testes de germinação, num total de 172 plantas, o que corresponde apenas a 71,7 % do número total das plantas obtidas por germinação.

O tipo de crescimento predominante em todos os acessos foi o crescimento “indeterminado”, o qual foi identificado em 35,4 % das plantas existentes, seguido do tipo de crescimento “determinado” presente em 19,6 % das plantas existentes, e do tipo de crescimento “semi-determinado” que esteve presente apenas em 16,7 % das plantas.

Na atitude das folhas e na atitude das inflorescências, foi medido o ângulo de inclinação que a folha ou a inflorescência faz relativamente à posição do caule principal da planta. Em todas as variedades (acessos) o resultado da atitude das folhas presente é a “horizontal”, e a atitude das inflorescências é a “semi-erecta”. Este resultado mostrou que estes descritores, não são descritores discriminatórios para estas variedades regionais de *Solanum lycopersicum* L., uma vez que todas as plantas analisadas obtiveram a mesma resposta, como tal, esta característica não permite fazer a distinção entre elas.

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Quanto aos descritores relativos às dimensões das plantas foi medida a altura e largura das plantas, foram calculados os valores médios por acesso, e as medições foram realizadas em dois estados de desenvolvimento do ciclo vegetativo, a floração e a maturação. Nas folhas também foi medido o comprimento e a altura, durante a época de floração.

A variedade de tomate “sem varas” de Peredo da Bemposta em Bragança, destaca-se por ser a variedade que obteve os valores mais baixos de altura e largura das plantas nas épocas de floração e maturação, bem como, o valor mais baixo de comprimento da folha na época de floração. Por outro lado, a variedade de tomate “coração de boi” de Marvila, Santarém, destaca-se porque foi a que teve os valores mais elevados de altura e largura da planta na época de floração e de largura da planta na época de maturação, como se pode ver na tabela nº 2.

Tabela nº 2: Resultados para os descritores largura e altura das plantas na época de floração e maturação, e comprimento e largura das folhas na época de floração, foram identificados os acessos com o valor médio mínimo e com o valor médio máximo para cada descritor.

Descritor	Acesso	Mínimo (valor médio)	Desvio padrão	Acesso	Máximo (valor médio)	Desvio Padrão
Largura da planta na época de floração (cm)	12465	55,12	2,99	11732	95,17	20,59
Altura da planta na época de floração (cm)	12465	46,80	6,06	11732	77,10	11,64
Largura da planta na época de maturação (cm)	12465	54,40	6,58	11732	93,80	4,87
Altura da planta na época de maturação (cm)	12465	72,00	9,08	12446	185,50	28,43
Comprimento das folhas (cm)	12465	9,16	2,63	11363	17,09	1,3
Largura das folhas (cm)	13034	4,21	0,27	16388	9,12	0,7

O tipo de folha (ver anexo nº 2) predominante nos acessos foi o “Peruvianum” presente em 22,1 %, seguido do “Padrão A” em 17,5 % das plantas e do “Padrão B” em 15,4 % das plantas existentes. Nas folhas foram identificados dois tipos (ver anexo nº 2), que variam entre folhas “normais” (composição simples) ou folhas “compostas” (com folíolos múltiplos). No ensaio realizado 60,4 % das plantas existentes apresentaram folhas do tipo “normal” e apenas 11,3 % de folhas do tipo “composta”.

As inflorescências da espécie *Solanum lycopersicum* L. podem ser de 3 tipos (ver anexo nº 2): inflorescências simples (uma haste), duplas (duas hastes) ou múltiplas (três hastes). No ensaio realizado identificamos 27,9 % das plantas com inflorescências

só do tipo simples, 8,8 % só do tipo dupla e 7,9 % só do tipo múltipla. Em algumas plantas identificamos simultaneamente vários tipos de inflorescências, 18,8 % das plantas com inflorescências do tipo simples e do tipo dupla, 4,2 % das plantas com inflorescências dos tipos simples e múltipla, 1,7 % dos tipos dupla e múltipla e 2,5 % das plantas com inflorescências do tipo simples, dupla e múltipla simultaneamente.

Foram avaliadas as principais características das inflorescências (ver tabela nº 3), as quais mostraram grande variabilidade entre os acessos. A variedade de tomate “coração de boi” de Marvila em Santarém (acesso 11732) foi a que obteve os menores valores médios quanto ao número de frutos por inflorescência e também o número de frutos por planta e o peso total de frutos por planta. Ao contrário, foi com a variedade de tomate de “salada” de Relva da Loiça em Castelo Branco (acesso 16388), a que obteve os maiores valores médios de número de inflorescências por planta, e de número de frutos por inflorescência. A variedade tomate de “cachos lisos e redondos” de Manique do Intendente em Lisboa (acesso 11350) foi a que obteve o maior valor médio de número de frutos por planta, enquanto a variedade de tomate “coração de boi” de Arroquelas em Santarém (acesso 11363), foi a que obteve o maior peso total de frutos por planta.

Tabela nº 3: Resultados para os descritores de caracterização das inflorescências, nomeadamente número de inflorescências por planta, número de flores por inflorescência, número de frutos por inflorescência, número de frutos por planta, e peso total de frutos por planta. Estão indicados os acessos com o valor médio mínimo e com o valor médio máximo para cada descritor.

Descritor	Mínimo			Máximo		
	Acesso	(valor médio)	Desvio padrão	Acesso	(valor médio)	Desvio Padrão
Número de inflorescências por planta	12446	2,8	1,03	16388	6,5	1,78
Número de flores por inflorescência.	11098	3,2	0,9	11803	19,50	4,14
Número de frutos por inflorescência.	11732	1,8	0,4	16388	5,10	1,79
Número de frutos por planta.	11732	2,1	1,1	11350	12,70	5,83
Peso total de frutos por planta (g).	11732	287,8	121,03	11363	6000,57	2567,69

Para o descritor relativo ao pedúnculo do fruto 65,8% das plantas apresentam uma união entre as duas partes do pedúnculo (ver anexo nº 2), e em 5,8% das plantas o pedúnculo do fruto é formado por uma só parte.

Nos descritores que caracterizam os frutos, foram avaliadas as principais características dos frutos, tais como, a forma predominante do fruto, a forma do ombro do fruto, a forma da terminação do fruto, o tamanho do pedúnculo, o tamanho da cicatriz do pedúnculo, a nervura da terminação do cálice, o comprimento, tamanho, largura, diâmetro, e o peso individual do fruto, o diâmetro interior do fruto e o número de lóbulos por fruto, os resultados estão expostos nas tabelas nº 4, 5 e 6.

Tabela nº 4: Resultados para os descritores de caracterização do fruto, identificação da forma do ombro do fruto.

Forma do ombro do fruto	Número de plantas (%)
Plano	5,4
Ligeiramente acentuada	26,7
Moderadamente acentuada	19,2
Fortemente acentuada	7,5
Muito fortemente acentuada	12,9

Tabela nº 5: Resultados para os descritores de caracterização do fruto, identificação da forma da terminação do fruto.

Forma da terminação do fruto	Número de plantas (%)
Plano	25,8
Com reentrâncias a plano	16,3
Plano a pontiagudo	15,0
Pontiagudo	10,4
Com reentrâncias	4,2

Tabela nº 6: Resultados para os descritores de caracterização do fruto, identificação da forma predominante do fruto.

Forma predominante do fruto	Número de plantas (%)
Achatado	13,3
Ligeiramente Achatado	24,2
Arredondado	3,3
Muito Arredondado	1,3
Forma de Coração	16,7
Cilíndrico	10,4
Forma de Pirâmide	0,4
Forma de Ameixa	2,1

No descritor forma predominante do fruto (anexo nº 2) existem dois acessos em que estão presentes dois tipos de forma do fruto em simultâneo, o acesso 11907 (“cilíndrico” e “forma de ameixa”) e o acesso 12437 (“achatado” e “ligeiramente achatado”).

A forma interior do fruto seccionado ao meio (anexo nº 2) predominante foi a “redondo” presente em 30,0 % das plantas existentes, seguida da forma “irregular” com 29,2 % e da forma “angular” com 12,5 %.

Nos descritores de caracterização dos frutos, a variedade de tomate “cabecinhas” de Aldeia Velha em Portalegre (acesso 11907), foi a que obteve os menores valores médios de comprimento do pedúnculo, tamanho da cicatriz do pedúnculo, nervura na terminação do cálice, largura do fruto, diâmetro do fruto, diâmetro interior do fruto e

peso do fruto (ver tabela nº 7). Ao contrário, a variedade tomate maçã, de Manique do Intendente em Lisboa (acesso 11098), destaca-se por ter os maiores valores médios de comprimento do pedúnculo, tamanho da cicatriz do pedúnculo, largura do fruto, diâmetro do fruto, peso do fruto, diâmetro interior do fruto, e número de lóculos por fruto, como se pode ver na tabela nº 7.

Tabela nº 7: Resultados para os descritores de caracterização dos frutos, nomeadamente comprimento do pedúnculo, tamanho da cicatriz do pedúnculo, nervura na terminação do cálice, comprimento, tamanho, largura, diâmetro, peso, diâmetro interior do fruto, e número de lóculos por fruto. Estão indicados os acessos que obtiveram o valor médio mínimo e o valor médio máximo para cada descritor.

Descritores	Mínimo			Máximo		
	Acesso	(valor médio)	Desvio padrão	Acesso	(valor médio)	Desvio padrão
Comprimento do pedúnculo (cm)	11907	1,89	0,46	11098	3,7	1,59
Tamanho da cicatriz do pedúnculo (cm)	11907	1,10	0,27	11098	4,14	2,48
Nervura na terminação do cálice	11907	1,0	0,0	12446	8,4	0,7
Comprimento do fruto (cm)	11696	5,65	0,42	12906	11,8	2,1
Tamanho do fruto (cm)	11400	2,6	0,69	12906	4,7	0,49
Largura do fruto (cm)	11907	5,03	0,32	11098	11,1	1,2
Diâmetro do fruto (cm)	11907	2,5	0,53	11098	4,8	0,42
Peso do fruto (g)	11907	92,5	17,2	11098	504,0	289,59
Diâmetro interior do fruto (cm)	11907	3,23	0,24	11098	10,65	4,74
Número de lóculos por fruto	16388	2,2	0,42	11098	12,60	6,9

A caracterização das cores nas diferentes variedades de *Solanum lycopersicum* L. em estudo foi observada nos vários órgãos das plantas existentes, entre eles as folhas, as flores, os frutos imaturos, os frutos maduros e ainda o interior dos frutos maduros. As cores nos descritores relativos às cores dos órgãos foram identificadas por comparação com o catálogo de cores da Royal Horticultural Society, os resultados estão expostos na tabela nº 8.

Tabela nº 8: Resultados dos descritores de caracterização das cores presentes nos vários órgãos da planta, as folhas, as flores, o exterior dos frutos imaturos, o exterior dos frutos maduros e o interior dos frutos maduros. Foram identificadas as cores com o maior número de plantas (%) com essa cor.

Descritor	Cor	Número de plantas (%)
Cor das folhas	Green group – 137 A	71,7
Cor das flores	Yellow group – 6 A	18,8
	Yellow group – 6 A	25,0
	Yellow group – 7 A	13,3
Cor exterior do fruto imaturo	Yellow Green group – 145 A	15,4
	Yellow Green group – 145 B	6,3
	Yellow Green group – 145 C	50,0
Cor exterior do fruto maduro	Red group – 42 A	15,0
Cor interior do fruto maduro	Red group – 42 B	14,2

Os descritores que identificam as datas de início e fim dos períodos correspondentes a vários estágios do ciclo vegetativo, tais como, a época de floração ou a época de frutificação ou ainda a época de colheita, são determinados quando 50% das plantas no acesso estão no respetivo estágio. Estes descritores permitem identificar quais os acessos mais precoces e mais tardios. Foi também determinado qual o número de dias entre a germinação das plantas e os referidos estágios do ciclo vegetativo, bem como, a duração (em dias) dos mesmos. A variedade tomate de “cachos lisos e redondos” de Manique do Intendente em Lisboa (acesso 11350) é a que apresenta o início de floração mais precoce, dia 22 de Junho, enquanto a variedade tomate “maçã” de Manique do Intendente de Lisboa (acesso 11098), é a que tem o início de frutificação mais precoce, dia 11 de Julho. Foram as variedades de tomate de Brunheirinho em Santarém (acesso 11681), e a variedade tomate “vermelho” de Galega em Santarém (acesso 11465), que obtiveram as datas de início de colheita mais precoces, com início dia 19 de Agosto.

Tabela nº 9: Resultados para os descritores que identificam as datas de início e fim das épocas de floração, frutificação e colheita. Foram identificados os acessos com as datas de início e fim mais precoces e as datas de início e fim mais tardias para cada época. Estas datas foram identificadas quando 50% das plantas que formam o acesso já se encontram no referido estágio do ciclo vegetativo.

Descritor	Acesso	Data mais precoce	Acesso	Data mais tardia
Data de início de floração	11350	22 de Junho de 2016	11446	08 de Julho de 2016
Data de fim de floração	12465	17 de Agosto de 2016	11372 12446	04 de Outubro de 2016
Data de início de frutificação	11098	11 de Julho de 2016	11907	26 de Julho de 2016
Data de fim de frutificação	12437 12465	10 de Julho de 2016	11363	14 de Outubro de 2016
Data de início de colheita	11681 11465	19 de Agosto de 2016	11732	24 de Outubro de 2016
Data de fim de colheita	12473 12465	27 de Julho de 2016	11363 11732	24 de Outubro de 2016

Na duração das 3 etapas do ciclo vegetativo, observamos que a variedade tomate de Algar, em Leiria (acesso 11372) é a que tem a maior duração do período de floração com 91,90 dias. Ao contrário, a variedade tomate “sem varas” de Peredo Bemposta em Bragança (acesso 12465) é a que tem a menor duração de dias de floração (50,8 dias) e de frutificação (64,2 dias).

A variedade tomate “coração de boi” de Marvila em Santarém (acesso 11732) é a que tem o menor tempo médio de duração da colheita (1,6 dias), o maior período em dias entre a germinação e a frutificação (99,5 dias) e entre a germinação e a colheita (156,40 dias). Ao contrário, a variedade tomate “coração de boi” (acesso 12506) foi a que registou os menores tempos entre a germinação e a floração (58,50 dias), a germinação e a frutificação (72,8 dias) e a germinação e a colheita (119,6 dias) como se pode ver na tabela nº 10.

Tabela nº 10: Descritores de duração das épocas de floração, frutificação e colheita.

Descritor	Mínimo		Máximo			
	Acesso	(valor médio)	Desvio padrão	Acesso	(valor médio)	Desvio Padrão
Tempo de floração	12465	50,8	9,12	11372	91,90	5,43
Tempo entre germinação e floração	12506	58,50	5,44	11803	81,1	10,49
Tempo de frutificação	12465	64,2	1,1	11363	88,4	3,95
Tempo entre germinação e frutificação	12506	72,8	4,73	11732	99,5	1,58
Tempo de colheita	11732	1,6	1,9	11098	51,7	19,8
Tempo entre germinação e colheita	12506	119,6	8,6	11732	156,40	11,38

3.1.1 Análise da importância das variáveis (descritores) para a diferenciação entre os acessos

A importância das variáveis (descritores) na distinção entre os acessos foi determinada através da matriz de correlações residuais. A matriz de correlações residuais permite observar a correlação entre as variáveis (quantitativas). Quando existem 2 variáveis com grande correlação entre si ($>0,80$), uma delas pode ser eliminada, porque influenciam de forma idêntica a diferenciação entre os acessos.

Uma variável (descritor) é realmente possível de descarte quando a sua exclusão não altera o padrão de agrupamento anteriormente obtido. Isto é, as características (descritores) possíveis de ser descartados em estudos de diversidade genética são as invariantes ou redundantes (Cruz, 2001).

Com base nos dados da matriz de correlações residuais, foram anuladas as seguintes variáveis quantitativas, *tempo entre germinação e frutificação* (TBGFr), *tempo de colheita* (HT), *peso do fruto* (FrWei), *largura do fruto* (FrWid), *tamanho da cicatriz do pedúnculo* (SPS), *número de lóculos por fruto* (NLPFr).

3.1.2 Análise de componentes principais (PCA)

Na análise de componentes principais conseguimos simplificar e clarificar, resumindo o conjunto de informações contidas diretamente nos descritores quantitativos em um número limitado de novas variáveis não correlacionadas (Wiley, 1981). Mantendo-se a variação original, representa-se graficamente o que permite visualizar as distâncias entre indivíduos e identificar possíveis agrupamentos entre os acessos segundo as suas distâncias genéticas com a mínima distorção, neste caso avaliadas por características morfológicas. A agregação de indivíduos em agrupamentos revela um conjunto de dissimilaridades genéticas individuais (Melchinger, 1993; Karp *et al.*, 1997; Warburton e Crossa, 2000). Para realizar a PCA optamos por utilizar os valores da mediana que representam o acesso, para cada descritor, pois são valores que têm grande estabilidade e amplitude, permitindo fazer uma análise rigorosa (ver figura 4).

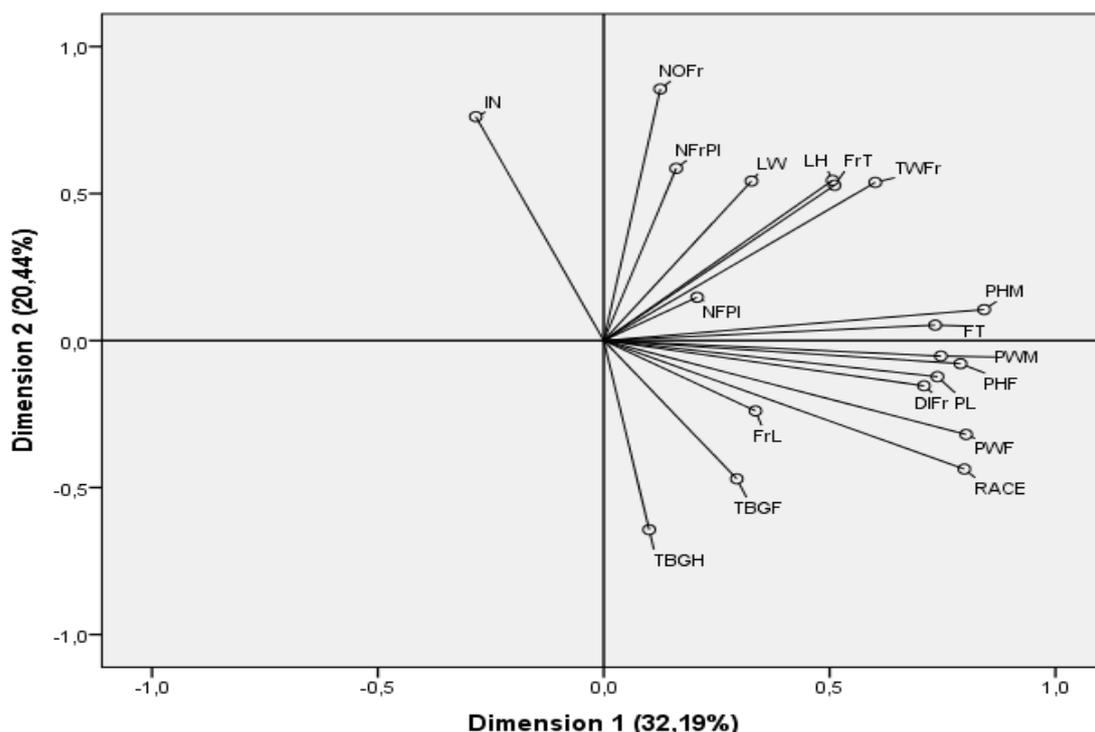
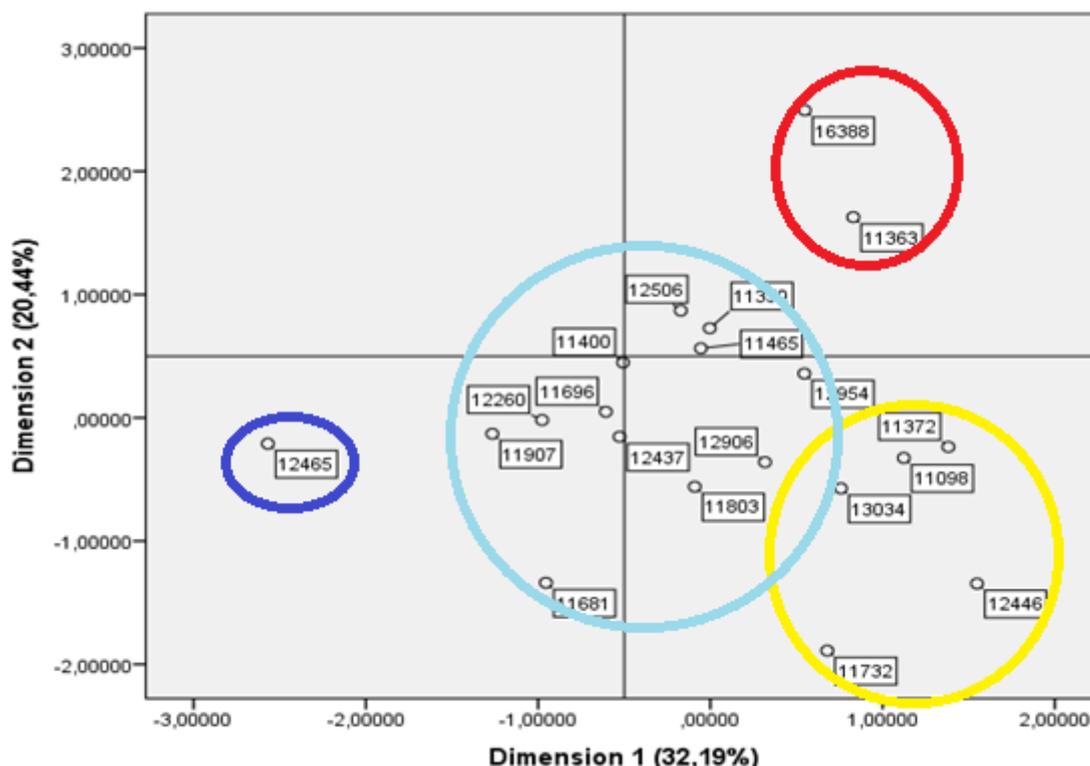


Figura nº 4 – Análise de componentes principais (PCA) – projeção das variáveis (descritores) sobre os dois primeiros eixos de ordenação (componentes).

Na figura nº 5 podemos observar a projeção dos descritores quantitativos sobre as duas primeiras componentes (dimensões). Estas duas componentes explicam, cumulativamente 52,63 % da variabilidade total associada aos dados. De forma geral os indivíduos (acessos) são agrupados de acordo com algum tipo de distância métrica

enquanto que as variáveis (descritores) são agrupadas com base em medidas de correlação ou associação.



Figuras nº5 – Análise de componentes principais (PCA) – coordenadas (scores) dos acessos no espaço de ordenação constituído pelas duas primeiras componentes.

A primeira componente (PC1 ou dimensão 1) apresenta correlações elevadas com variáveis do tamanho e forma do fruto e da planta. No que respeita ao fruto destacam-se (por ordem decrescente das correlações com a PC1) as variáveis *Rugosidade do fruto junto ao cálice* (RACE), *Peso do fruto* (FrWei), *Diâmetro do interior do fruto* (DIFr), *Comprimento do fruto* (FrL) (a estes descritores estão também correlacionados os descritores *Comprimento do pedúnculo do fruto* (PL), *Tamanho da cicatriz do pedúnculo do fruto* (SPS), *Largura do fruto* (FrWid), *Diâmetro do fruto* (FrD), *Número de lóculos do fruto* (NLPr)). Relativamente à planta, também por ordem decrescente das correlações com a PC1, destacam-se os descritores *Largura da planta na época de maturação* (PHM), *Altura da planta na época de floração* (PWF), *Largura da planta na época de floração* (PHF), *Altura da planta na época de maturação* (PWM), *Comprimento da folha* (LH), *Número de flores por inflorescência* (NFPI) (a estes descritores estão também bem correlacionados os descritores *Tipo de*

crescimento da planta (PGT) e *Largura da folha* (LW)). O *Tempo de floração* (FT) e as variáveis correlacionadas *Data de fim da floração* (DFE) e *Tempo de colheita* (HT) também estão bem correlacionados com a componente 1. Todas estas variáveis se correlacionam positivamente com o primeiro eixo de ordenação (lado direito), pelo que os acessos estudados que apresentam maiores valores para estas variáveis (acima da média) aparecerão mais afastados e à direita do valor zero (centro da PC1). Acessos (variedades de *Solanum lycopersicum* L.) cujos scores estejam mais à esquerda do centro têm valores menores nestes descritores (abaixo da média).

A segunda componente (PC2) está correlacionada, por um lado, com variáveis de registo de tempos, e portanto, de duração de ciclos ou estádios de desenvolvimento do ciclo vegetativo da planta. É o caso das variáveis *Tempo entre a germinação e a colheita* (TBGH), *Tempo entre a germinação e a floração* (TBGF) (a estes descritores estão também bem correlacionados os descritores *Tempo entre a germinação e a frutificação* (TBGFr), *Data de início da frutificação* (DFrB), *Data de início de colheita* (DHB)) que se destacam no lado negativo (inferior) da PC2. As variedades mais afastadas nesta direção apresentam maiores tempos, como por exemplo, a variedade de tomate de Brunheirinho em Santarém (acesso 11681) e a de tomate “coração de boi” de Marvila em Santarém (acesso 11732). Por outro lado, a segunda componente também está bem correlacionada com variáveis relacionadas com a quantidade de frutos. É o caso de *Número de frutos por planta* (NOFr), *Número de inflorescência* (IN), *Número de frutos por inflorescência* (NFrPI), *Número de flores por inflorescência* (NFPI) e *Peso total de frutos por planta* (TWFr), no lado positivo (parte superior) da PC2 (descritores bem correlacionados com ambas as componentes). Refira-se ainda os descritores *Tempo de floração* (FT), *Tempo de frutificação* (FrT) e *Tempo de colheita* (HT) relacionados com os processos de floração, frutificação e colheita aparecem bem correlacionados (positivamente) com ambas as componentes (*Tempo de floração* (FT) mais correlacionada com a PC 1).

Analisando em conjunto a figura nº 4 das correlações dos descritores com as componentes e a figura nº 5 dos scores dos acessos, as variedades correspondentes aos acessos 11372, 11098, 13034, 12954, 11363, 16388, 11350 e 12906 apresentam maiores dimensões da planta e igualmente frutos maiores e mais pesados. Destes, as variedades de tomate de “salada” de Relva da Loíça em Castelo Branco (acesso 16388) e tomate “coração de boi” de Arroquelas em Santarém (acesso 11363) apresentam maior produção de frutos, tanto em número de frutos como em peso total de frutos. Do lado

oposto, nas variedades de tomate “sem varas” de Peredo da Bemposta em Bragança (acesso 12465) e de tomate “cabecinhas” de Aldeia Velha em Portalegre (acesso 11907) as plantas são de menores dimensões com frutos de menor calibre. Na variedade de tomate de Brunheirinho em Santarém (acesso 11681) as plantas e frutos são pequenos, têm baixo número de frutos e baixo peso total de frutos.

A variedade de tomate de “salada” de Relva da Loiça em Castelo Branco (acesso 16388) apresenta um grande número de frutos por inflorescência e por planta e grande peso total de frutos, apresenta também baixos intervalos de tempo entre a germinação e respetivamente a floração, frutificação e colheita, estas variedades têm ainda datas de início de frutificação e colheita muito precoces.

Os resultados correspondentes à variedade tomate “coração de boi” em Teixeira, Guarda (acesso 13034), à variedade de tomate de Algar em Leiria (acesso 11372), à variedade de tomate “antigo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12446), e à variedade de tomate “coração de boi” de Marvila em Santarém (acesso 11732), mostram maiores tempos entre a germinação e a floração, frutificação e colheita elevadas, tamanho de planta e calibre do fruto elevados, mas têm baixo número de frutos por inflorescência e por planta. Contudo e surpreendentemente os frutos têm bom peso total, ao que corresponde a produção de frutos de grandes dimensões.

As variedades correspondentes ao aglomerado de acessos (11803, 12437, 12260, 11696, 11400, 11465 e ainda o 12506) que se observam no gráfico da PCA (Figuras nº 4 e 5), são variedades em que os resultados rondam os valores médios, mas com tendência a ter elevados tempos entre a germinação, e a floração, frutificação e colheita (à exceção do acesso 12506), com tamanho da planta e dos frutos ligeiramente acima da média (exceto para os acessos 12260 e 11696), e de forma geral, têm também tendência a ter um número de frutos por inflorescência e por planta ligeiramente abaixo da média (com exceção do acesso 12506).

3.1.3 Análise de Cluster (Distâncias Euclidianas)

A análise de clusters refere-se a um grupo de técnicas de análise multivariada que agrupam os indivíduos baseando-se nas características que eles possuem, sendo os indivíduos com descrições similares matematicamente agrupados no mesmo cluster (Hair *et al.*, 1995). Os agrupamentos resultantes mostram homogeneidade interna no cluster e heterogeneidade entre clusters (Mohammadi e Prasanna, 2003). Na distância genética um cluster aceitável é definido como “um grupo de dois ou mais genótipos com uma distância genética dentro do cluster menor do que a distância genética global, e com distância entre clusters maior do que a distância dentro do cluster, nos dois clusters envolvidos” (Brown-Guedira *et al.*, 2000).

O dendrograma representativo dos clusters foi feito com os valores das medianas por serem uma medida de grande amplitude que representam bem os valores mensurados (Figura 6). Este dendrograma feito apenas com os descritores quantitativos, usando as distâncias euclidianas, sem as variáveis de elevada correlação residual.

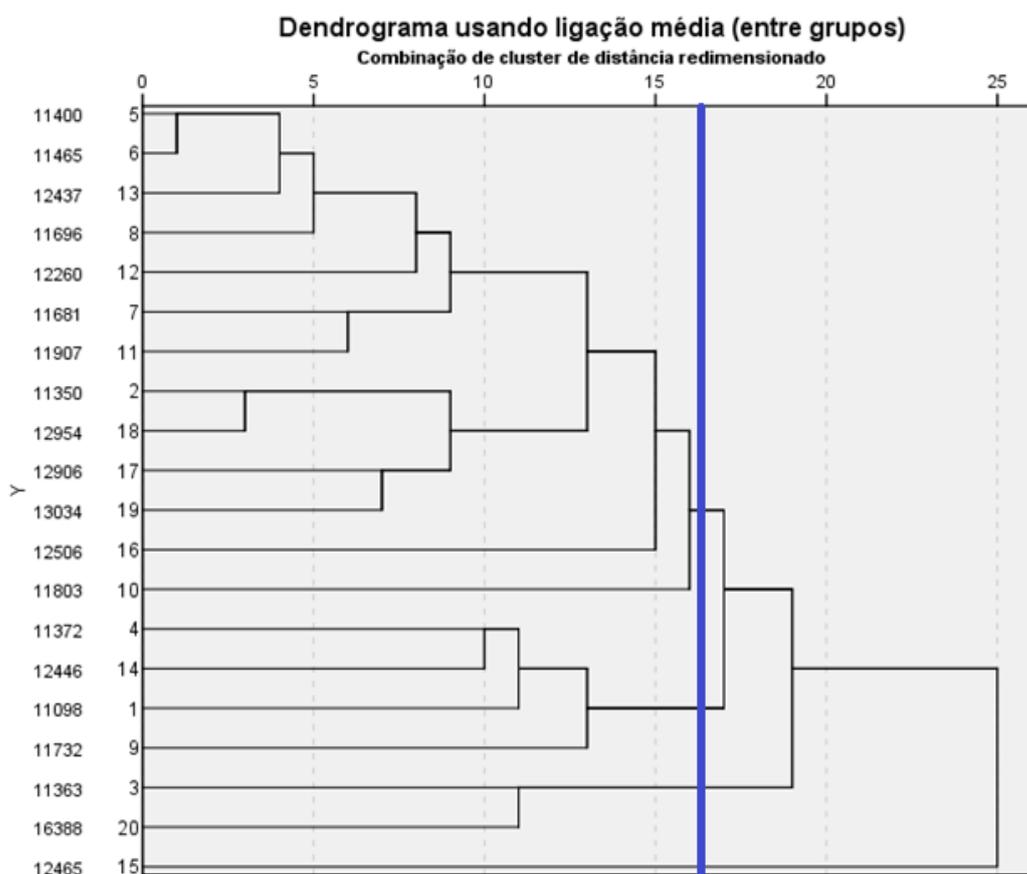


Figura nº 6 - Cluster distâncias euclidianas, sem as variáveis de elevada correlação residual, e apenas as variáveis quantitativas.

O dendrograma mostra uma tendência de aglomeração das diferentes variedades de *Solanum lycopersicum* L. estudadas, estes grupos de variedades (acessos) são formados pelas similaridades entre as características avaliadas através dos descritores morfológicos quantitativos. Neste dendrograma é possível distinguir 4 grupos, o primeiro é formado pela variedade tomate “sem varas” de Peredo da Bemposta em Bragança (acesso 12465). O segundo grupo é formado pelas variedades de tomate “coração de boi” de Arrouquelas, em Santarém (acesso 11363) e pela variedade de tomate de “salada” de Relva da Loíça em Castelo Branco (acesso 16388). O terceiro grupo é formado pelas variedades tomate de Algar em Leiria (acesso 11372), a de tomate “antigo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12446), a de tomate “maçã” de Manique do Intendente em Lisboa (acesso 11098), e a de tomate “coração de boi” de Marvila em Santarém (acesso 11732). Por fim, o último agrupamento (grupo quatro) presente no dendrograma é o que inclui mais variedades com características semelhantes, e é formado pelas variedades, tomate “grosso” de Marvão em Portalegre (acesso 11803), tomate “coração de boi” de Santarém (acesso 12506), tomate “coração de boi” de Teixeira, Guarda (acesso 13034), a de tomate de Frossos, Aveiro (acesso 12906), a de tomate “coração de boi” de Porto Laboso, Aveiro (acesso 12954), a de tomate de “cachos lisos e redondos” de Manique do Intendente em Lisboa (acesso 11350), a de tomate “cabecinhas” de Aldeia Velha, Portalegre (acesso 11907), a de tomate de Brunheirinho em Santarém (acesso 11681), a de tomate “coração de boi” em Santulhão, Bragança (acesso 12260), a de tomate “redondo” de Ameixal em Santarém (acesso 11696), a de tomate “amarelo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12437), a de tomate “vermelho” de Galega em Santarém (acesso 11465), e a variedade de tomate “maçã” de Amiais de baixo, Santarém (acesso 11400).

3.2. Caracterização nutricional e propriedades bioativas

3.2.1 Resultados da caracterização nutricional e avaliação dos compostos bioativos dos frutos do tomateiro

Os resultados da composição em macronutrientes dos frutos das quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L. analisadas encontram-se apresentados na tabela nº 11. Verifica-se que a variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira na Guarda (acesso 13034) tem a maior percentagem de água ($95,2 \pm 0,9$ g/100 g fw) e também o maior teor em cinzas ($0,49 \pm 0,01$ g/100 g fw), proteínas ($0,75 \pm 0,03$ g / 100 g fw) e gordura ($0,06 \pm 0,002$ g/100 g fw). Ao contrário, os frutos da variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão, em Bragança (acesso 12260) têm a menor percentagem de água ($94,4 \pm 0,4$ g/100 g de fw). Os frutos da variedade tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437) têm a menor quantidade de gordura ($0,04 \pm 0,001$ g/100 g fw). Na variedade de tomate de Frossos, em Aveiro (acesso 12906), os frutos têm a menor quantidade de cinzas ($0,41 \pm 0,005$ g / 100 g fw) e de proteínas ($0,67 \pm 0,01$ g/100 g fw), mas apresentam a maior quantidade de hidratos de carbono ($4,17 \pm 0,01$ g/100 g fw) e o maior valor energético ($19,93 \pm 0,02$ kcal/100 g fw). De forma geral, todas as variedades contêm grandes quantidades de água e apresentam como macronutrientes maioritários os hidratos de carbono em primeiro lugar e em segundo lugar as proteínas. Os respetivos valores energéticos são muito semelhantes, situando-se entre as $17,49 \pm 0,01$ e as $20,99 \pm 0,07$ kcal por 100 g de massa fresca. Os valores relativos à quantidade de gordura são muito baixos nos frutos destas variedades estudadas, o que é habitual nesta espécie.

Tabela nº 11: Humidade (g/100 g de massa fresca (fw)), macronutrientes (g/100 g fw) e valor energético (kcal/100 g fw) de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260
Humidade	95±1	95±2	95,2±0,9	94,4±0,4
Cinzas	0,47±0,01b	0,41±0,005c	0,49±0,01a	0,46±0,02b
Hidratos de carbono	3,72±0,01c	4,17±0,01b	3,49±0,02d	4,38±0,02a
Proteínas	0,74±0,003a	0,67±0,01b	0,75±0,03a	0,73±0,003a
Gordura	0,04±0,001b	0,06±0,01a	0,06±0,002a	0,06±0,001a
Valor energético	18,18±0,03c	19,93±0,02b	17,49±0,01d	20,99±0,07a

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde ao valor maior e menor respetivamente.

Na tabela nº 12 estão expostos os resultados da composição em açúcares dos frutos das quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L. analisadas, onde se observa que os frutos da variedade tomate “coração de boi” de Santulhão, em Bragança (acesso 12260), foram os que mostraram ter maior teor de açúcares totais, são também aqueles em que se determinou maior quantidade de frutose (2,410±0,001 g/100 g fw) e de glucose (1,67±0,03 g/100 g fw). Os frutos da variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira, na Guarda (acesso 13034) são os que mostraram conter maior quantidade de sacarose (0,12±0,01 g/100 g fw).

Tabela nº 12: Composição em açúcares (frutose, glucose, sacarose em g/100 g fw) dos frutos de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260
Frutose	1,96±0,05b	2,36±0,08a	2,01±0,01b	2,410±0,001a
Glucose	1,36±0,07b	1,66±0,03a	1,25±0,01c	1,67±0,03a
Sacarose	0,0032±0,0001c	0,004±0,001b	0,005±0,0006a	0,003±0,0003c
Total açúcares	3,33±0,1b	4,02±0,1a	3,259±0,0009b	4,079±0,03a

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde ao valor maior e menor respetivamente.

A figura nº 7 apresenta o perfil cromatográfico de açúcares, onde é possível identificar os picos característicos dos três açúcares identificados e quantificados: a frutose, a glucose e a sacarose.

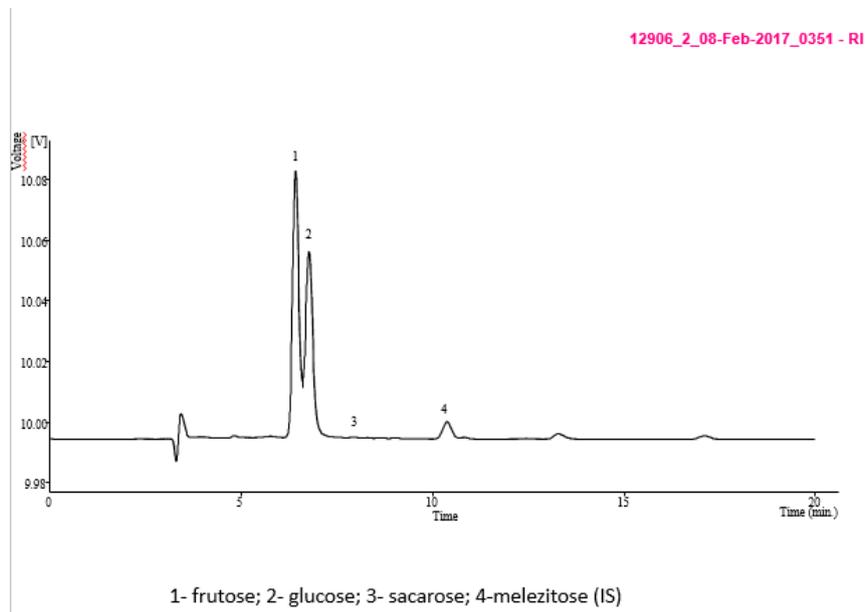


Figura nº 7 – Perfil de açúcares de uma variedade de *Solanum lycopersicum* L. (acesso 12906) analisado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de índice de refração (HPLC-RID).

A tabela nº 13 mostra os resultados da composição em ácidos gordos (percentagem relativa) das quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., A composição em ácidos gordos divide-se em três grupos PUFA (ácidos gordos monoinsaturados) que estão em maioria, seguidos dos SFA (ácidos gordos saturados) e em minoria dos MUFA (ácidos gordos polinsaturados), O acesso 12437 é uma exceção, visto que nesta variedade os SFA estão em maior concentração do que os PUFA.

Tabela nº 13: Composição em ácidos gordos (percentagem relativa) de quatro variedades da espécie *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260
C6:0	0,040±0,001a	0,034±0,003a	0,043±0,001a	nd
C8:0	0,019±0,001b	0,013±0,001c	0,033±0,001a	nd
C10:0	nd	0,018±0,003*	0,032±0,002*	nd
C11:0	0,052±0,001a	0,028±0,004b	0,014±0,002c	nd
C12:0	0,044±0,003d	0,051±0,001c	0,064±0,001b	0,07±0,002a
C14:0	1,146±0,001a	0,72±0,01b	0,5±0,01d	0,545±0,001c
C14:1	nd	0,135±0,002**	0,142±0,002**	nd
C15:0	0,218±0,002a	0,123±0,008c	0,138±0,004b	0,136±0,01b
C16:0	35,67±0,06a	26,1±0,1b	23,925±0,001c	23,8±0,3c
C16:1	0,107±0,001d	0,165±0,004b	0,151±0,005c	0,172±0,003a
C17:0	0,728±0,003a	0,393±0,003c	0,408±0,001b	0,31±0,01d
C18:0	4,93±0,02d	6,69±0,01a	5,91±0,02b	5,359±0,002c
C18:1n9	3,4±0,01d	12,42±0,05a	10,17±0,02c	11,3±0,05b
C18:2n6c	33,9±0,2d	38,37±0,01c	43,87±0,01a	43,1±0,2b
C18:3n3	13,01±0,03a	7,94±0,05d	8,746±0,03c	11,5±0,01b
C20:0	1,2±0,1c	1,92±0,02a	1,42±0,001b	0,8±0,01d
C20:1	0,47±0,01c	0,95±0,01a	0,585±0,003b	0,13±0,01d
C20:3n3+C21:0	0,268±0,006b	0,26±0,01b	0,239±0,02b	0,35±0,04a
C20:5n3	0,15±0,01*	nd	0,089±0,04*	nd
C22:0	2,82±0,1a	2,51±0,09b	2,38±0,01b	1,64±0,001c
C22:1n9	nd	0,07±0,01	nd	nd
C23:0	0,97±0,001a	0,52±0,01b	0,57±0,03b	0,54±0,07b
C24:0	0,81±0,04a	0,54±0,01b	0,57±0,01b	0,33±0,04c
SFA	48,7±0,1a	39,69±0,09b	36,01±0,05c	33,5±0,2d
MUFA	3,983±0,002d	13,73±0,03a	11,05±0,02c	11,60±0,04b
PUFA	47,3±0,1c	46,58±0,06d	52,94±0,07b	54,9±0,2a

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde aos valores maior e menor respetivamente. *Valores com diferença estatística. Student’s t-test p -value $< 0,001$; ** Student’s t-test p -value of 0,005. nd = Não detetado; os ácidos gordos apresentados são descritos na figura n.º 8.

Na figura nº 8 encontra-se o perfil cromatográfico dos ácidos gordos, onde é possível identificar os picos característicos dos vários ácidos gordos identificados e quantificados.

13034_1 - FID

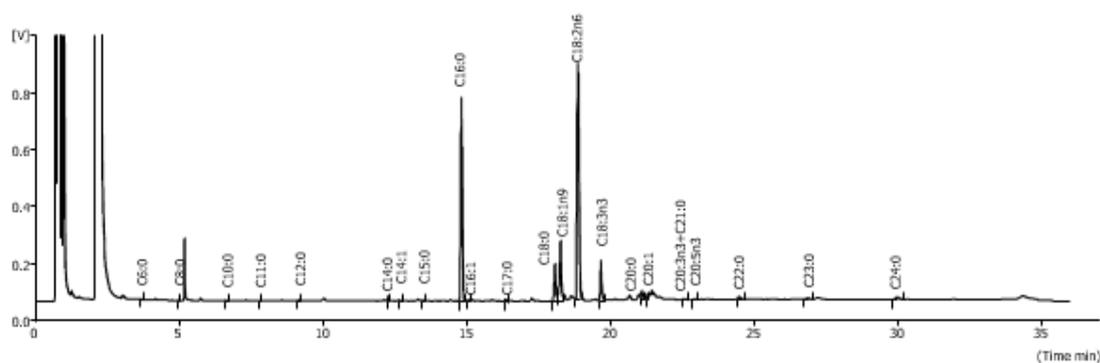


Figura nº 8 - Perfil de ácidos gordos individuais de uma das variedades de *Solanum lycopersicum* L., analisado por cromatografia gasosa acoplada a um detetor de ionização por chama (GC-FID), no qual podemos identificar os seguintes ácidos gordos, 1 – ácido caproico (C6:0); 2 – ácido caprílico (C8:0); ácido cáprico (C10:0); ácido undecanoico (C11:0); ácido láurico (C12:0); 4 – ácido mirístico (C14:0); 5 – ácido miristoleico (C14:1); 6 – ácido pentadecanoico (C15:0); 7 – ácido palmítico (C16:0); 8 – ácido palmitoleico (C16:1); 9 – ácido heptadecanoico (C17:0); 10 – ácido esteárico (C18:0); 11 – ácido oleico (C18:1n9); 12 – ácido linoleico (C18:2n6); 13 – α -linolénico (C18:3n3); 14 – ácido araquídico (C20:0); 15 – ácido eicosenóico (C20:1); 16 – cis-11,14-ácido heneicosanoico (C20:3n3 + C21:0); 17 - ácido cis-11,14,17-eicosapentaenoico (C20:5n3); 19 – ácido behênico (C22:0); 20 – ácido erúcico (C22:1n9); 21 – ácido tricosanoico (C23:0); 22 – ácido lignocérico (C24:0)

Observando os dados da tabela nº 13 e do perfil cromatográfico dos ácidos gordos da figura nº 8, verificamos que os ácidos gordos mais abundantes nas variedades de *Solanum lycopersicum* L. estudadas são o ácido linoleico (C18:2n6), o ácido palmítico (C16:0), o ácido α -linolénico (C18:3n3), o ácido oleico (C18:1n9) e o ácido esteárico (C18:0). Nos frutos das variedades tomate de Frossos, de Aveiro (acesso 12906), tomate “coração de boi” de Teixeira, Guarda (acesso 13034), e no tomate “coração de boi” de Santulhão, Bragança (acesso 12260), o ácido gordo maioritário foi o ácido linoleico (18:2n6c), enquanto que na variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437), o ácido gordo maioritário foi o ácido palmítico

(C16:0). Estes ácidos gordos estão presentes em quantidades significativas em todas as variedades analisadas e têm associados benefícios para a saúde, nomeadamente na minimização do risco de doenças inflamatórias, hipertensão, doenças cardíacas e cancro da próstata e da mama (Connor 2000, Terry *et al.*, 2004, Djousse *et al.*, 2005). Os ácidos gordos estão também muitas vezes relacionados com o aumento de colesterol HDL e diminuição do colesterol LDL e triglicéridos (Connor, 2000). São ainda percussores de eicosanóides envolvidos em diversas funções metabólicas (Zubay, 2006).

Na análise aos ácidos orgânicos (Tabela nº 14) identificaram-se e quantificaram-se as concentrações em ácido oxálico, ácido málico, ácido ascórbico e ácido cítrico, nas quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L.. O ácido orgânico presente em maior concentração foi o ácido cítrico, seguido do ácido málico, do ácido oxálico e em menor concentração do ácido ascórbico (vitamina C). Estes resultados foram idênticos em todas as variedades analisadas com exceção da variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira, na Guarda (acesso 13034), onde a concentração de ácido oxálico é maior que a concentração de ácido málico. Esta foi também a variedade que teve maior quantidade total de ácidos orgânicos; ao contrário, a variedade de tomate de Frossos, em Aveiro (acesso 12906), foi a que teve a menor quantidade total de ácidos orgânicos (Tabela nº 14).

Tabela nº 14: Composição em ácidos orgânicos (ácido oxálico, ácido málico, ácido ascórbico e ácido cítrico (mg/100 g fw)) de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média±desvio padrão, n=3).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260
Ácido oxálico	21,8±0,3b	16,5±0,8d	40,9±0,5a	20,3±0,7c
Ácido málico	49,2±0,4b	24,53±0,8d	29±1c	127±1a
Ácido ascórbico	16,63±0,03a	9,91±0,01d	11,54±0,06c	15,49±0,2b
Ácido cítrico	288±5c	315±8b	380±5a	269±8d
Total ácidos orgânicos	376±4c	366±8c	462±3a	432±6b

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas entre as amostras ($p < 0,05$), onde “a” e “d” correspondem aos valores maior e menor respetivamente.

Na figura nº 9 pode-se observar o perfil de ácidos orgânicos, determinados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de fotodíodos (HPLC-PDA), no qual se identificam os picos característicos dos diferentes ácidos orgânicos.

Alguns destes ácidos orgânicos têm efeitos benéficos para a saúde, como é o caso do ácido ascórbico também chamado de vitamina C, que entre outras capacidades têm atividade antioxidante. A vitamina C é considerada essencial, contudo o organismo humano não a produz e apenas está presente através da ingestão na dieta.

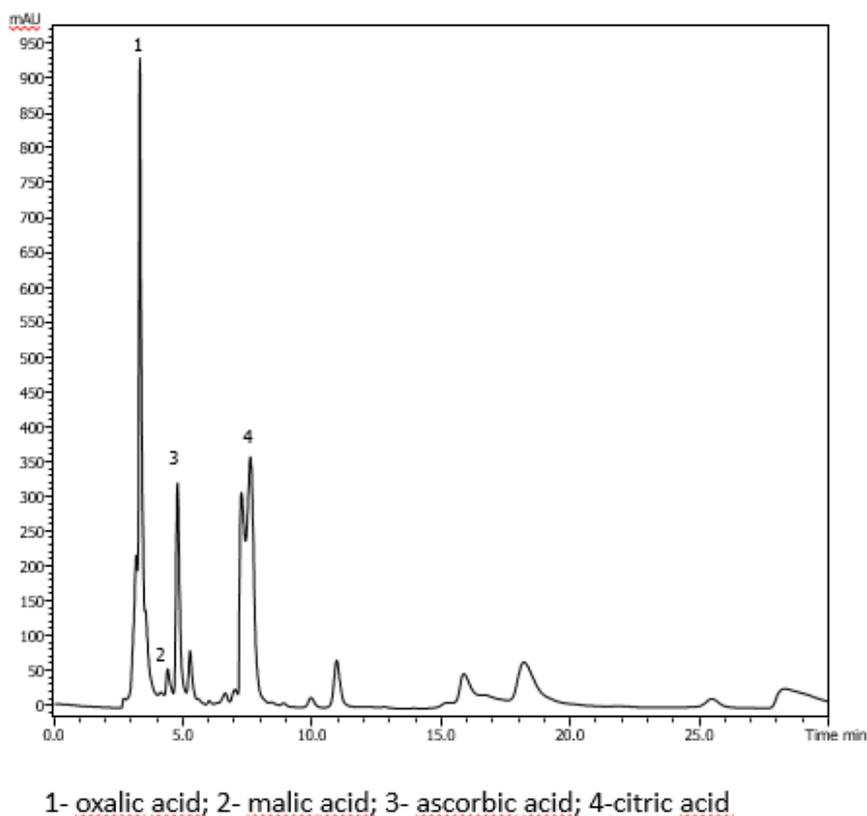


Figura nº 9 - Perfil de ácidos orgânicos individuais analisado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um detetor de fotodíodos (HPLC-PDA).

Os tocoferóis pertencem a um grupo de compostos designados de vitamina E, são antioxidantes naturais lipossolúveis importantes nos alimentos, devido ao seu papel como agentes bloqueadores de radicais livres. A vitamina E protege o corpo humano contra anomalias degenerativas e principalmente previne o aparecimento de cancro e de doenças cardiovasculares (Ferreira *et al.*, 2009). Em todas as amostras foram identificadas as quatro isoformas de tocoferol estando estas presentes a diferentes concentrações nas quatro variedades analisadas (Tabela nº15). As isoformas α -tocoferol e β -tocoferol estão em maior concentração na variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão, Bragança (acesso 12260), enquanto que as isoformas γ -tocoferol e δ -tocoferol estão em maior concentração na variedade de tomate de Frossos, em Aveiro

(acesso 12906). Esta última foi também a variedade que teve maior concentração de tocoferóis totais; inversamente, a variedade que teve a menor concentração foi a de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437).

Tabela nº 15: Composição em tocoferóis ($\mu\text{g}/100\text{ g fw}$), β -caroteno, licopeno, clorofilas a e b ($\text{mg}/100\text{ g fw}$) dos frutos de quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média \pm desvio padrão, n=9).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260
α – Tocoferol	75 \pm 3d	233,9 \pm 0,7b	190 \pm 4c	263 \pm 4a
β – Tocoferol	7,4 \pm 0,3d	11,16 \pm 0,01b	10,6 \pm 0,3c	13,43 \pm 0,001a
γ – Tocoferol	49 \pm 2d	170,6 \pm 0,3a	63,8 \pm 0,3c	104 \pm 4b
δ – Tocoferol	2,70 \pm 0,01c	6,1 \pm 0,3a	3,7 \pm 0,3b	5,68 \pm 0,001a
Total tocoferóis	135 \pm 5d	422 \pm 2a	268 \pm 4c	387 \pm 8b
Licopeno	0,106 \pm 0,005d	0,869 \pm 0,009b	0,776 \pm 0,003c	0,912 \pm 0,006a
β-Caroteno	1,03 \pm 0,03a	0,604 \pm 0,03b	0,51 \pm 0,02c	0,622 \pm 0,02b
Clorofila a	0,224 \pm 0,007a	0,154 \pm 0,002d	0,186 \pm 0,003b	0,168 \pm 0,003c
Clorofila b	0,361 \pm 0,01a	0,202 \pm 0,004d	0,301 \pm 0,007b	0,28 \pm 0,02c

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde ao valor maior e menor respetivamente.

Na figura nº 10 pode observar-se o perfil de tocoferóis, determinado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de fluorescência (HPLC-Flu), no qual se identificam os picos caraterísticos dos diferentes tocoferóis, diferentes tamanhos da área do pico são indicadores de diferentes concentrações dos compostos presentes na solução.

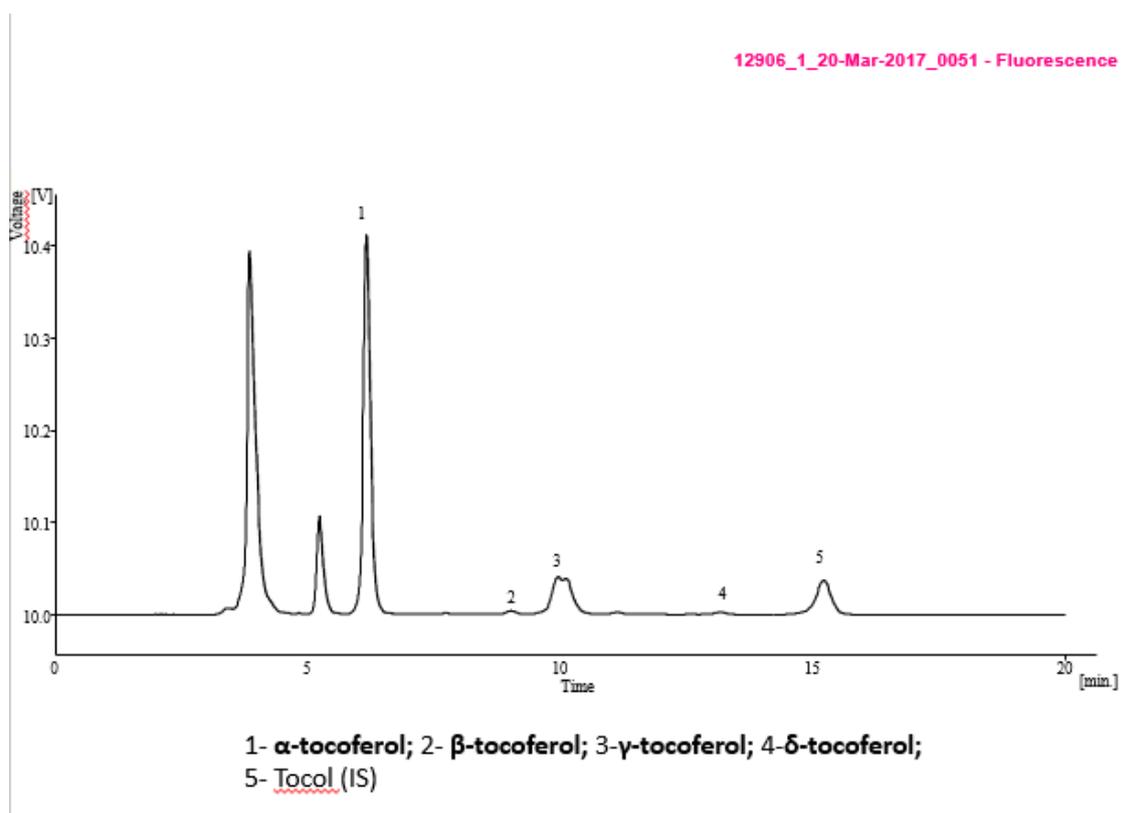


Figura nº 10 - Perfil de tocoferóis (1- α -tocopherol; 2- β -tocopherol; 3- γ -tocopherol; 4- δ -tocopherol; 5-tocol (PI)) de uma das variedades de *Solanum lycopersicum* L. (acesso 12906), analisado por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um detetor de fluorescência (HPLC-Flu.).

Os carotenoides são conhecidos pelas suas propriedades benéficas na prevenção de doenças, incluindo as doenças cardiovasculares, o cancro e outras doenças crónicas, e têm também ação antioxidante (Ferreira *et al.*, 2009). Nos carotenoides analisados, a maior concentração de licopeno foi obtida nos frutos da variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão, em Bragança (acesso 12260) e a de β -caroteno, foram os frutos das variedades de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437), pelo contrário, os frutos da variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437) foram os que obtiveram a menor concentração de licopeno, enquanto que a variedade “coração de boi” de Teixeira, na Guarda (acesso 13034) foi a que obteve a menor concentração de β -caroteno (ver tabela nº 15). As clorofilas e os seus derivados são conhecidos por possuírem atividade antioxidante, estando associados à prevenção de doenças induzidas por radicais livres tais como, certos tipos de cancro (Lanfer-Marquez *et al.*, 2005). Os frutos da variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437), são os que têm maior quantidade de clorofila a e clorofila b; ao contrário, a menor quantidade de clorofila a e clorofila b foi determinada

nos frutos da variedade de tomate de Frossos, em Aveiro (acesso 12906) como se pode ver tabela nº 15.

Os extratos aquosos para análise dos compostos antioxidantes hidrofílicos tiveram um rendimento de extração nas amostras de frutos de diferentes variedades de *Solanum lycopersicum* L. entre os 60,1 e os 66,0 (g/100 g fw) (Tabela n.º 16).

Tabela nº 16: Rendimento de extração (g/100 g fw), composição em compostos fenólicos (fenóis (mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de extrato) e flavonoides (mg de equivalentes de catequina (CE) por g de extrato totais) e propriedades antioxidantes (valores de EC₅₀, mg/mL) dos frutos de quatro variedades diferentes de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260
Rendimento de extração	64,8±0,3	60,1±0,2	66,0±0,1	64,2±0,3
Fenóis totais	14,58±0,2b	15,74±0,4a	14,58±0,2b	15,58±0,04a
Flavonoides totais	1,65±0,05c	2,59±0,05a	1,45±0,02d	2,19±0,05b
Atividade bloqueadora de radicais	3,69±0,03d	6,75±0,4a	6,04±0,1b	5,05±0,1c
DPPH				
Poder redutor	3,01±0,05b	3,04±0,03b	2,94±0,02c	3,66±0,01a

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde aos valores maior e menor respetivamente.

O extrato dos frutos da variedade de tomate de Frossos, em Aveiro (acesso 12906) foi o que mostrou ter maiores quantidades de fenóis e de flavonoides totais o que pode indicar uma maior capacidade antioxidante; ao contrário, a variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira, na Guarda (acesso 13034) foi a que teve a menor quantidade de fenóis e flavonoides, têm portanto, menor atividade antioxidante relativamente a estes compostos antioxidantes hidrofílicos.

Na atividade captadora de radicais livres 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) ocorre uma reação em que a molécula antioxidante neutraliza um radical livre (neste caso a molécula de DPPH). Quando esta reação ocorre a solução muda de cor, de forma gradual, dependente da quantidade de antioxidantes presentes em solução. A mistura tem tendência a perder a coloração violeta, que tipicamente caracteriza uma solução de DPPH, determinando-se a concentração de extrato necessária para neutralizar metade dos radicais livres presentes em solução o que se designa por valor de EC₅₀ (Guimarães

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

et al., 2010, Pinela, 2012). Portanto, um reduzido valor de EC_{50} indicará maior capacidade para captar radicais livres, pois é necessária menor quantidade de extrato para atingir 50% de inibição dos radicais livres em solução. O extrato dos frutos da variedade que obteve o menor valor de EC_{50} foi a variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, Bragança (acesso 12437), enquanto que o extrato dos frutos que obteve o maior valor corresponde à variedade de tomate de Frossos em Aveiro (acesso 12906). No poder redutor avaliou-se a capacidade dos antioxidantes presentes no extrato em reduzir Fe^{3+} para Fe^{2+} , determinado pela mudança de cor, através da perda da coloração azul da Prússia que tipicamente caracteriza esta solução. Foram os frutos da variedade tomate “coração de boi” de Santulhão, em Bragança (acesso 12260), que obtiveram o resultado mais elevado nos valores de EC_{50} (traduzindo assim um menor poder redutor), enquanto que os frutos da variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira, Guarda (acesso 13034), revelaram o valor mais baixo, tendo portanto melhor capacidade antioxidante.

3.2.2 Resultados da avaliação dos compostos bioativos presentes nos subprodutos do cultivo de tomateiro

Os extratos aquosos obtidos das amostras dos lançamentos de poda em verde, para análise dos compostos antioxidantes hidrofílicos, obtiveram um rendimento de extração com valor médio de $19,91 \pm 3,84$ % (Tabela nº 17).

Tabela nº 17: Rendimento de extração (g/100 g fw), composição em compostos fenólicos (fenóis (mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de extrato) e flavonoides (mg de equivalentes de catequina (CE) por g de extrato) totais) e propriedades antioxidantes (valores de EC_{50} , mg/mL) da parte vegetativa lançamentos de poda em verde de quatro variedades diferentes de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=9).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260	Acesso 12446
Rendimento de extração	19,6±0,3	20,2±0,3	16,04±0,05	16,0±0,1	21,3±0,1
Fenóis totais	70,8±0,4a	56,2±0,7d	68,9±0,4b	60,73±0,5c	48,39±0,07e
Flavonoides totais	30,9±0,4b	28,13±0,3c	32,3±0,3a	27,19±0,4d	19,6±0,4e
Atividade bloqueadora de radicais DPPH	0,77±0,04d	1,24±0,06b	1,04±0,02c	1,24±0,03b	1,86±0,04a
Poder redutor	0,36±0,01e	0,46±0,01c	0,43±0,01d	0,56±0,01b	0,675±0,005a

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde ao valor maior e menor respetivamente.

O extrato da parte vegetativa lançamentos de poda em verde da variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437), foi o que obteve os melhores resultados na quantidade de fenóis, enquanto que a variedade tomate “coração de boi” de Teixeira, na Guarda (acesso 13034), foi o que obteve a maior quantidade de flavonoides, o que pode indicar uma maior capacidade antioxidante, ao contrário, da variedade de tomate “antigo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12446) que foi a que obteve a menor quantidade de fenóis e flavonoides, como se pode observar na tabela nº 17.

No extrato da parte vegetativa lançamentos de poda em verde a variedade que obteve o maior valor de EC_{50} para análise de atividade captadora de radicais livres DPPH foi a variedade de tomate “antigo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12446), enquanto o extrato da parte vegetativa lançamentos de poda em verde que obteve o

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

valor mais baixo foi a variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12437), traduzindo assim uma maior capacidade captadora de radicais DPPH.

No poder redutor o menor valor de EC_{50} do extrato foi obtido pela variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12437), enquanto que a variedade de tomate “antigo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12446) foi a que obteve o maior valor de EC_{50} , traduzindo assim um menor poder redutor.

Como mostra a tabela nº 18 na parte vegetativa, lançamentos de poda em verde, a variedade de tomate “antigo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12446) é a que tem a maior quantidade de clorofila a e a variedade de tomate “coração de boi” em Teixeira, na Guarda (acesso 13034), é a que têm maior quantidade de clorofila b. Ao contrário, a menor quantidade de clorofilas a e b foi encontrada na variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão, em Bragança (acesso 12260).

Tabela nº 18: Composição em clorofila a e clorofila a (mg/100 g fw) da parte vegetativa lançamentos de poda em verde em quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média±desvio padrão, n=9).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260	Acesso 12446
Clorofila a	5,8±0,01ab	5,8±0,02ab	5,67±0,02b	4,9±0,3c	6,01±0,02a
Clorofila b	7,5±0,2c	8,3±0,2b	9,56±0,04a	3,9±0,5d	8,33±0,02b

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde ao valor maior e menor respetivamente.

Os extratos aquosos para análise dos compostos antioxidantes hidrofílicos (Tabela nº 19) tiveram um rendimento de extração médio para as amostras da parte vegetativa correspondentes a plantas em fim de ciclo de cultivo das diferentes variedades de 11,07±2,06 %.

Tabela nº 19: Rendimento de extração (g/100 g fw), composição em compostos fenólicos (fenóis (mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de extrato) e flavonoides (mg de equivalentes de catequina (CE) por g de extrato totais) e propriedades antioxidantes (valores de EC₅₀, mg/mL) da parte vegetativa plantas em fim de ciclo de cultivo de quatro variedades diferentes de *Solanum lycopersicum* L. (média±desvio padrão, n=3).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260	Acesso 12446	Acesso 12465
Rendimento de extração	8,0±0,1	14,36±0,08	10,7±0,3	11,5±0,2	11,5±0,4	10,3±0,2
Fenóis totais	59±2b	57±1c	64±2a	55,41±0,4c	56±2c	39±2d
Flavonoides totais	24,94±0,7a	21,72±1,3c	18,1±0,1d	23,3±0,8b	23,82±0,1b	21±1c
Atividade bloqueadora de radicais DPPH	1,13±0,04d	1,25±0,01b	1,06±0,04e	1,04±0,03e	1,18±0,03c	2,41±0,02a
Poder redutor	0,58±0,01f	0,8±0,01c	0,83±0,01b	0,763±0,003d	0,67±0,03e	0,853±0,004a

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde ao valor maior e menor respetivamente.

O extrato da parte vegetativa correspondente a plantas em fim de ciclo de cultivo da variedade tomate “coração de boi” de Teixeira, Guarda (acesso 13034), foi o que mostrou ter maior quantidade de fenóis totais, enquanto que a variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12437) obteve a maior quantidade de flavonoides totais o que pode indicar uma maior capacidade antioxidante. Pelo contrário, a variedade de tomate “sem varas” de Peredo da Bemposta, em Bragança (acesso 12465) registou a menor quantidade de fenóis e na variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira, na Guarda (acesso 13034), observou-se a menor quantidade de flavonoides.

O extrato da parte vegetativa, plantas em fim de ciclo de cultivo, da variedade que obteve o menor valor de EC₅₀ para a análise de atividade captadora de radicais livres DPPH foi a variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão em Bragança (acesso 12260), enquanto que a variedade tomate “sem varas” de Peredo da Bemposta, Bragança (acesso 12465) foi a que obteve o maior valor, traduzindo assim uma menor capacidade de captar radicais DPPH.

No poder redutor o menor valor de EC₅₀ do extrato da parte vegetativa, plantas em fim de ciclo cultivo, foi obtido pela variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437), enquanto que os valores da variedade de tomate “sem

varas” de Peredo da Bemposta, em Bragança (acesso 12465), correspondem ao pior resultado.

A parte vegetativa plantas em fim de ciclo de cultivo da variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437), é a que tem a maior quantidade de clorofilas a e b. Inversamente, a menor quantidade de clorofila a e b foi determinada na variedade de tomate de Frossos em Aveiro (acesso 12906), como se pode observar na Tabela nº 20.

Tabela nº 20: Composição em clorofila a e clorofila b (mg/100 g de fw) da parte vegetativa plantas em fim de ciclo de cultivo em quatro variedades de *Solanum lycopersicum* L., (média±desvio padrão, n=3).

	Acesso 12437	Acesso 12906	Acesso 13034	Acesso 12260	Acesso 12446	Acesso 12465
Clorofila a	9,49±0,03a	7,18±0,06e	7,66±0,01c	7,26±0,1e	7,45±0,1d	8,25±0,2b
Clorofila b	11,07±0,2a	6,94±0,3e	7,35±0,1d	8,39±0,1b	7,89±0,03c	7,96±0,08c

Letras diferentes significam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) onde “a” e “d” corresponde ao valor maior e menor respetivamente.

Os resultados do estudo preliminar da atividade antioxidante dos subprodutos do cultivo do tomateiro permitem afirmar que este material vegetal é uma boa fonte destes compostos bioativos, podendo ser de interesse para a indústria alimentar e farmacêutica.



Conclusões

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Conclusões

Através da realização deste projeto de mestrado foi possível compreender e destacar o papel que desempenha o Banco Português de Germoplasma Vegetal e qual a importância da conservação dos recursos genéticos nos nossos dias. Nesta dissertação descrevem-se os principais traços da história da espécie *Solanum lycopersicum* L., desde o seu surgimento, passando pelos principais focos de diversificação, até à expansão da espécie. Identificam-se os aspetos prementes relacionados com a importância económica e sociocultural desta planta no mundo, e o seu papel fundamental, quer na agricultura por ser uma espécie cosmopolita, possível de cultivar em várias regiões e climas, quer na alimentação por produzir frutos com composição rica em nutracêuticos.

A revisão bibliográfica realizada permitiu fazer o enquadramento taxonómico atual da espécie *Solanum lycopersicum* L., bem como, uma completa descrição botânica da planta e das condições edafoclimáticas mais favoráveis ao seu cultivo.

A caracterização morfológica, permitiu determinar diferenças morfológicas entre variedades e definir morfotipos, para tal selecionaram-se descritores morfológicos a partir de referências internacionais, das mais utilizadas no âmbito da caracterização e valorização de germoplasma vegetal, protocolos de caracterização desenvolvidos por organizações com responsabilidade na conservação de germoplasma e da diversidade agrícola, tais como o IPGRI, a UPOV ou o ECPGR.

Avaliaram-se as características morfológicas e agronómicas de variedades regionais de tomate *Solanum lycopersicum* L. para consumo em fresco, conservadas no BPGV, e identificaram-se as principais diferenças entre os acessos estudados. Quanto às dimensões da planta foi a variedade de tomate “antigo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12446) que apresentou a maior altura da planta na época de maturação ($185,50 \pm 28,43$ cm). Relativamente à quantidade de inflorescências, a variedade de tomate de “salada” de Relva da Loiça em Castelo Branco (acesso 16388) registou o maior número de inflorescências ($6,5 \pm 1,78$). No que se refere ao rendimento de produção, foi a variedade de tomate de “cachos lisos e redondos” de Manique do Intendente Lisboa (acesso 11350) que obteve o maior número de frutos por planta ($12,70 \pm 5,83$), a variedade de tomate “maçã” de Manique do Intendente, em Lisboa (acesso 11098) foi a que obteve os frutos com maior peso individual ($504,0 \pm 289,59$ g),

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

enquanto que a variedade de tomate “coração de boi” de Arroquelas, em Santarém (acesso 11363) teve o maior peso total de frutos por planta ($6000,57 \pm 2567,69$ g). Relativamente à duração das fases do ciclo vegetativo, foi a variedade tomate “coração de boi” (acesso 12506) que demorou menos tempo entre a germinação da semente e a maturação de frutos (colheita) ($119,6 \pm 8,6$ dias). A data de início de colheita mais precoce pertenceu à variedade de tomate “coração de boi” de Marvila em Santarém (acesso 11732), com início a 24 de Outubro de 2016.

Utilizaram-se os métodos e técnicas de caracterização nutricional e análise das propriedades bioativas, considerados os mais adequados para o tipo de amostras estudadas, com os quais se avaliaram as características nutricionais dos frutos e a bioatividade, nomeadamente a capacidade antioxidante dos frutos e dos subprodutos de origem vegetativa (lançamentos de poda em verde e parte aérea de plantas em fim de ciclo vegetativo) destas variedades regionais de tomate.

Quanto às características nutricionais, concluiu-se que a variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira na Guarda (acesso 13034) foi a que obteve os melhores resultados para a quantidade de água ($95,2 \pm 0,9$ g/100 fw), proteínas ($0,75 \pm 0,03$ g/100 fw), gordura ($0,06 \pm 0,002$ g / 100 g fw), mas foi a variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão, em Bragança (acesso 12260), que registou a maior quantidade de hidratos de carbono ($4,38 \pm 0,02$ g/100 fw), açúcares totais ($4,079 \pm 0,03$ g/100 fw) e, conseqüentemente, o maior valor energético ($20,99 \pm 0,07$ kcal/100g fw).

Nos compostos bioativos presentes nos frutos foi a variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira na Guarda (acesso 13034) que teve a maior quantidade total de ácidos orgânicos (462 ± 3 mg/100g fw). A variedade de tomate de Frossos em Aveiro (acesso 12906) foi a que mostrou ter maior quantidade total de tocoferóis ($8,69 \pm 0,03$ µg/100g de fw), mas foi a variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12437) que teve a maior quantidade de licopeno ($17,95 \pm 0,07$ mg/100g de fw), β-caroteno ($22,91 \pm 0,66$ mg/100g de fw) e clorofila B ($8,04 \pm 0,28$ mg/100g de fw), a variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão em Bragança (acesso 12260) apenas teve a maior quantidade de clorofila A ($4,99 \pm 0,16$ mg/100g de peso fw). Relativamente aos compostos fenólicos dos frutos e dos subprodutos (lançamentos de poda em verde, plantas em fim de ciclo cultural), concluiu-se que foi o subproduto, lançamentos de poda em verde que teve as maiores quantidades de fenóis (acesso 12437; $70,80 \pm 0,41$ mg de equivalente de ácido gálico (GAE) por g de extrato) e de flavonoides (acesso 13034; $32,27 \pm 0,32$ mg de equivalente de catequina (CE) por g de

extrato), seguida do subproduto plantas em fim de ciclo cultural, e por fim dos frutos, que são a parte da planta onde estes compostos estão em menor concentração, tanto para os fenóis (acesso 12260; $15,58 \pm 0,04$ mg de equivalente de ácido gálico (GAE) por g de extrato) como para os flavonoides (acesso 12906; $2,59 \pm 0,05$ mg de equivalente de catequina (CE) por g de extrato).

Nos testes de atividade bloqueadora de DPPH e poder redutor os resultados mostraram que foi o subproduto, lançamentos de poda em verde, que obteve os melhores resultados com a variedade tomate “amarelo” de Águas Vivas, Bragança (acesso 12437), obteve um valor de EC_{50} de $0,77 \pm 0,04$ mg/mL para a atividade bloqueadora de DPPH e com a mesma variedade obteve um valor de EC_{50} de $0,36 \pm 0,005$ mg/mL para o poder redutor. No subproduto plantas em fim de ciclo de cultivo os melhores valores EC_{50} foram obtidos com a variedade de tomate “coração de boi” de Santulhão, Bragança (acesso 12260) obteve atividade bloqueadora de DPPH ($1,04 \pm 0,03$ mg/mL) e com a variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, Bragança (acesso 12437) de EC_{50} para o poder redutor ($0,58 \pm 0,01$ mg/mL). Nos frutos a variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas em Bragança (acesso 12437) obteve os melhores valores de EC_{50} na atividade captadora de DPPH ($3,69 \pm 0,03$ mg/mL), enquanto que os de poder redutor ($2,94 \pm 0,02$ mg/mL) pertenceram à variedade de tomate “coração de boi” de Teixeira na Guarda (acesso 13034).

Na concentração em clorofilas a e b foi a parte vegetativa, plantas em fim de ciclo de cultivo, que teve as maiores concentrações, clorofila a ($9,49 \pm 0,03$ mg/100 g fw) e clorofila b ($11,07 \pm 0,2$ mg/100 g fw) com a variedade de tomate “amarelo” de Águas Vivas, em Bragança (acesso 12437).

Confirma-se que estas variedades de *Solanum lycopersicum* L. são uma boa fonte de compostos nutracêuticos nomeadamente antioxidantes e vitaminas, têm boas características nutricionais o que lhes confere propriedades benéficas para a saúde.

Assim sendo, a caracterização morfológica e química, tal como, a avaliação das principais características nutricionais e bioativas destas variedades regionais de tomate constituem informação de grande importância quer para programas de melhoramento genético de variedades de tomate, como para a seleção de variedades de tomate para consumo em fresco.

O ensaio realizado permitiu ainda aumentar a quantidade armazenada de semente destes acessos (variedades de *Solanum lycopersicum* L.) preservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.



Referências Bibliográficas

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Referências bibliográficas

- A.O.A.C. (2016). *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, 20th Ed. Editors Dr. George Latimer, Jr. Edition Publication date: April 1, 2016.
- Anderlini, R. (1982). *A cultura do tomate*. Biblioteca Agrícola Litexa, Lisboa.
- 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(6), 2075-2081.
- Aguiar, C., (2013a). *Botânica para as Ciências Agrárias e do Ambiente*. Vol. 1 Morfologia e função (fasc.1), Instituto Politécnico de Bragança.
- Aguiar, C., (2013b). *Botânica para as Ciências Agrárias e do Ambiente*. Vol. 1 Morfologia e função (fasc.2), Instituto Politécnico de Bragança.
- Aguiar, C. (2013c). *Botânica para as Ciências Agrárias e do Ambiente. Sistemática*. Vol 3. Instituto Politécnico de Bragança Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/6970/3/2013%203%C2%BA%20Vol%20Sistema%CC%81tica.pdf>. Consultado em 19/01/2017.
- Alves, M. J. T., (2012). Caracterização de *Arbutus unedo* L.: estudo da maturação dos frutos na composição química e atividade antioxidante. Dissertação de Mestrado em *Qualidade e Segurança Alimentar* apresentada á Escola Superior Agrária de Bragança.
- Arranz, S., Martínez-Huélamo, M., Vallverdu-Queralt, A., Valderas-Martinez, P., Illán, M.; Sacanella, E., Escribano, E., Estruch, R. & Lamuela-Raventos, R. M. (2015). Influence of olive oil on carotenoid absorption from tomato juice and effects on postprandial lipemia. *Food Chemistry*, 168, 203-210.
- Baiano, A., & Del Nobile, M. A. (2016). Antioxidant compounds from vegetable matrices: Biosynthesis, occurrence, and extraction systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56 (12), 2053-68.
- Barata, A. M., Rocha, F., Reis, A., & Lopes, V. R. (2011). O Banco Português de Germoplasma Vegetal e a conservação dos recursos genéticos em Portugal. In *Agrorrural: Contributos Científicos*, Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I. P. e Imprensa Nacional-Casa da Moeda, S. A., edited by Paula S. Coelho, Pedro Reis. Chapter V - *Ecofisiologia, recursos genéticos e melhoramento de plantas*, pp. 964-974.
- Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R., (2010a). Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chem.* 120 (1), 247–254.
- Barros, L., Heleno, S.A., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R., (2010b). Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: Vitamins and phenolics. *LWT - Food Sci. Technol.* 43 (3), 544–550.
- Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

- Barros, L., Dueñas, M., Pinela, J., Carvalho, A. M., Buelga, C.S. & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Characterization and quantification of phenolic compounds in four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmers varieties in northeastern Portugal homegardens. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(3), 229-234.
- Bianchi, M., Antunes, L., (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição Campinas*, (12), 123-130.
- Boileau, T. W., Boileau, A. C., Erdman, J. W. Jr. (2002) Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood) 227(10, 914-9.
- Bolagay, I., Ortiz, D. R., Idrovo, N. S., Tulcan, M., Manjunatha, B., Rajesh, R. K., Mulla, S. I. & Raju, M. N. (2015). Agronomic and molecular characterization of four genotypes of *Solanum betaceum*. Cav tolerant to *Colletotrichum acutatum* from the region of Patate in Ecuador. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7 (7): 933-939.
- Brown – Guedira, G.I., J.A., Thompson, R.I., Nelson and M.I., Warburton, (2000). Evaluation of genetic diversity of soybean introductions and North American Ancestors using RAPD and SSR markers. *Crop Science* 40, 815-823.
- Burton, G. W., & Traber, M. G. (1990). Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annual Review of Nutrition*, 10(1), 357-382.
- Chase M.W., Christenhusz M.J.M., Fay M.F., Byng J.W., Judd W.S., Soltis D.E., Soltis P.S., Mabberley D.J., Sennikov A.N., Stevens P.F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, Vol. 182, 1-20.
- Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Barba, F. J., Esteve, M. J., & Frigola, A. (2014). Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(2), 155-171.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013a). The role of Phenolic Compounds in the fight against cancer. A review. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 13(8), 1236-1258
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013b). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- Cebolla-Cornejo, J., Rosello, S., Nuez, F., (2013). Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Journal of Scientia Horticulturae*, 162, 150-164.
- Connor, W.E. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71, 171S–175S.
- Cook, R. (2015). Fresh tomato production and Marketing Trends in the N. American Market. Disponível em:

http://arefiles.ucdavis.edu/uploads/filer_public/fd/de/fddea761-ecf0-48c6-ac9a-223763d6ce23/cooknatomatoupdate150501.pdf, consultado dia 22/10/2015.

- Cruz, D.C., (2001). Programa GENES (versão Windows) aplicativo computacional, em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648 p. Versão 2005. 0.0, Universidade Federal do Paraná, Brasil.
- Darrigues, A., Schwartz, S. J., & Francis, D. M. (2008). Optimizing sampling of tomato fruit for carotenoid content with application to assessing the impact of ripening disorders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(2), 483-487.
- D.G.A.V., Direção Geral de Agricultura e Veterinária (2016) - Disponível em http://www.dgav.pt/fitofarmacuticos/guia/finalidades_guia/Insec&Fung/Cultura/tomateiro.htm, consultado dia 07/05/17.
- Djousse, L., Arnett, D.K., Pankow, J.S., Hopkins, P.N., Province, M.A., Ellison, R.C. (2005). Dietary linolenic acid is associated with a lower prevalence of hypertension in the NHLBI family heart study. *Hypertension*, 45 (3), 368-373.
- Dumas, Y., Dadomo, M., Dilucca, G., & 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.
- ECPGR, European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources (2008) Minimum descriptors for eggplant, Capsicum (sweet and hot pepper) and tomato. Disponível em: http://www.ecpgr.cgiar.org/fileadmin/templates/ecpgr.org/upload/NW_and_WG_UPLOADS/Solanaceae_Misc/Solanaceae_descriptors.pdf, consultado a 19/01/17.
- Escarpa, A., & Gonzalez, M. C. (2001). An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(2), 57-139.
- FAO (1998). The State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*. Rome. 510 pp.
- FAOSTAT, F. (2016). *Agriculture Organization of the United Nations. Statistical database*. Disponível em <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> , consultado a 11/01/2017
- Farias, R. & Marcelino, F.R. (1993) O Banco Português de Germoplasma Vegetal guardião do Tesouro Nacional. *Vida Rural*, (17/93), 7-10.
- Ferreira, I., Abreu, R. (2007). Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Sociedade Portuguesa de Bioanalistas da Saúde*. 32 – 39.
- Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Abreu, R.M.V. (2009) Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*. 16 (12), 1543-1560.

- Frusciante, L., Carli, P., Ercolano, M. R., Pernice, R., Di Matteo, A., Fogliano, V., & Pellegrini, N (2007). Antioxidant nutritional quality of tomato. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(5), 609-617.
- Gongolee; G. A.K. (2014). Evaluation of some introduced fresh market tomato (*Solanum lycopersicum* L) for genetic variability and adaptability in Ghana using morphological and molecular markers". Thesis of *Crop and Soil Sciences*, Faculty of Agriculture Knust, Kumasi, Ghana.
- Gould, W.A. (1974) *Tomato Production, Processing and Quality Evaluation*. The AVI Publishing Company, Inc, Connecticut. Westport CT, pp. 334-346.
- Gualazzi, R. J. V. (2002). *Lycopersicum esculentum*: Una breve historia del tomate. *Horticultura*, (158), 18-27.
- Guimarães, R., Barros, L., Barreira, J. C. M., Sousa, M. J., Carvalho, A. M., Ferreira, I.C.F.R. (2010) Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime, and orange. *Food and chemical toxicology*, V. 48, n 1, pp. 99-106.
- Hackam, D. G., & Anand., S. S. (2003). Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: a critical review of the evidence. *Jama*, 290(7), 932-940
- Halliwell, B. (1995). How to characterize an antioxidant: an update. *Biochemical Society Symposia* (61), 73-101.
- Hair, J.R., Anderson, R.E., Tatham, R.I., Black, W.C. (1995). *Multivariate data analysis with readings*. 4th edition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., & Ferreira, I. C. (2015). Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry*, 173, 501-513.
- Instituto Nacional de Estatística (2016) *Graficos de produção agrícola, Portugal*. Visitado dia 07/05/17 Site: <http://ine.gov.pt/xportal/xmain?xpid=ine>
- Ihme, N., Kiesewetter, H., & Jung, F. A., Hoffmann, K. H., Birk, A., Müller, A., & Grütznert, K. I. (1996). Legooedema protection from a buckwheat herb tea in patients with chronic venous insufficiency: a single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 50(6), 443-44.
- IPGRI, (1996) “*International Plant Genetic Resource Research Institute*” disponível em <http://www.ecpgr.cgiar.org/working-groups/solanaceae/solanaceae-working-group-documents-and-publications-of-interest/>, consultado a 19/01/2017.
- Joseph Campbell & Company, (1876), disponível em <http://mundodasmarcas.blogspot.pt/2006/06/campbells-mm-mm-good.html>, consultado a 19/01/2017.
- Kaniala, (2017). *Tomate História - A história do tomate como alimento*. Disponível em <http://www.kaniala.com/tomate-historia-a-historia-do-tomate-como-alimento/>, consultado dia 5/1/17.

- Karp, A., S. Kresovich, K.V. Bhat, W.G. Ayad and T. Hadkin, (1997). *Molecular tools in plant genetic resources conservation: A guide to the technologies*. IPGRI, Rome.
- Khachik, F., Carvalho, L., Bernstein, P. S., Muir, G. J., Zhao, D. Y., & Katz, N. B. (2002). Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Experimental Biology and Medicine*, 227(10), 845-851.
- Kurlovik, B. S. Rep ev, S. I., Petrova, M. V., Buravtseva, T. V., Kartuzova, L. T., & Voluzneva, T. A. (2000). The significance of Vavilov's scientific expeditions and ideas for development and use of legume genetic resources. *Plant Genetic Resources*, 124, 23-32.
- Lanfer-Marquez, U., Barros, R.M., Sinnecker, P., (2005) Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*. 38, 885-891.
- Laza, V. (2014) Tomatoes and lycopene in the athletes diet. *Palestrica of the third millennium - Civilization and Sport*, 15, 72-79.
- Maxted, N., Hawkes, J. G., Ford-Lloyd, B. V. & Williams, J. T. (1997). A practical model for in situ genetic conservation. In Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., and Hawkes, J.G. (eds). *Plant Genetic Conservation: the in situ approach*, pp. 339-367, Chapman & Hall.
- Melchinger, A.E., (1993). Use of RFLP markers for analysis of genetic relationship among breeding materials and predictions of hybrid performance. In D.R. Buxton (ed.) *Proceedings of the international Crop Science Congress, 1st, Ames, IA. July 1992,*. pp 621-628.
- Moco, S., Capanoglu, E., Tikunov, Y., Bino, R. J., Boyacioglu, D., Hall, R. D., Vervoort, J., Vos, R. C. H. (2007). Tissue specialization at the metabolite level is perceived during the development of tomato fruit. *Journal of Experimental Botany*, 58(15-16), 4131-4146.
- Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M., (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants, salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43, 1235-1248.
- Nagata, M., Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Journal Japan Society Food Science Technology*, 39, 925-928.
- Naika, S., Jeude J. V. L., Goffau, M., Hilmi, M., Dam, B. V., (2006). *A cultura do tomate, produção, processamento e comercialização*. Agrodok 17.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5 (35), 27986-28006.
- Norman, J. (1992). *Tropical vegetable crops*. Arthur H. Stockwell Ltd.. 252, Elms Court, United Kingdom.
- Nkansah, G.O., Owusu, E.O., Bonsu, K.O. and Dennis, E.A. (2003). Effect of Mulch Types on Growth, Yield and Fruit Quality of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Ghana Journal of Horticulture*. 1, 55-60.

- Osei, M. K., Akromah, R., Shilh, S.L. and Green, S.K. (2010). Evaluation of some tomato Germplasm for resistance to Tomato Yellow leaf curls Virus disease (TYLCV) in Ghana. *Aspects of Applied Biology*, 96, 315-323.
- Packer, L., Weber, S. U., & Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of α -tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *The Journal of Nutrition*, 131(2), 369S-373S.
- Peralta, I.E., Spooner, D. M., (2000). Classification of wild tomatoes: a review. *Tomo*, Vol. 28 (1) 45-54.
- Peralta, I. E., Spooner D. M., (2005). Morphological characterization and relationships of wild tomatoes (*Solanum* L. Sect. *Lycopersicon*). *Monographs in Systematic Botany*, Vol. 104, 227-257.
- Pereira, C., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R., (2011). Nutritional composition and bioactive properties of commonly consumed wild greens: potential sources for new trends in modern diets. *Food Research International* (44), 2634-26640.
- Pereira, C., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R., (2013). Use of UFLC-PDA for the Analysis of Organic Acids in Thirty-Five Species of Food and Medicinal Plants. *Food Analytical Methods* 5(6), 1337–1344.
- Pinela, J. (2012). Efeito do processo de secagem no potencial antioxidante e na composição fitoquímica de plantas medicinais da família Fabaceae. Dissertação de *Mestrado em Biotecnologia* apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança.
- Pinela, J., Barros, L., Carvalho, A. M., Ferreira, I.C.F.R. (2011). Influence of drying methods in the antioxidante potential and chemical composition of four shrubby flowering plants from the tribe Genisteeae (Fabaceae). *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2983-2989.
- Pinela, J., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R. (2012). Nutritional composition and antioxidant activity of four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmer varieties in Northeastern Portugal homegardens. *Food and chemical Toxicology*, 50(3), 829-834.
- Pinela, J., Beatriz, M. P. P. O., Ferreira, I.C.F.R. (2016). Bioactive compounds of tomatoes as health promoters. In L. R. Silva & B. M. Silva (2016). *Natural Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables*, Vol 2, Chapter 3, 48-91. Bentham Science Publishers.
- Portas, C.M., Oliveira, W., Stilwell, M. R., Calado, A. M., Dias, U.M., Ruiz-Altisent, M. (1986). The tomato processing industry in Portugal. *Hortscience*, 21(1), 10-20.
- Raupp, D.S., Gardingo J.R., Schebeski L.S., Amadeu, C.A., Borsato, A.V.. (2009). Processamento de tomate seco de diferentes cultivares. *Acta Amazonica*, vol. 39 (2), 415-422.
- Rocha, F., (2002). Conservação e utilização sustentada de variedades tradicionais. *O Minho a terra e o Homem*, DRAEDM, Braga, 46, 13-18.

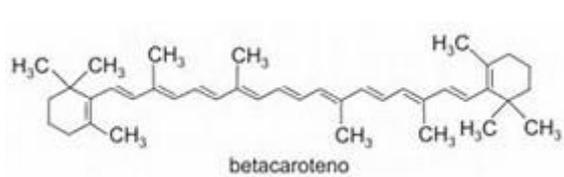
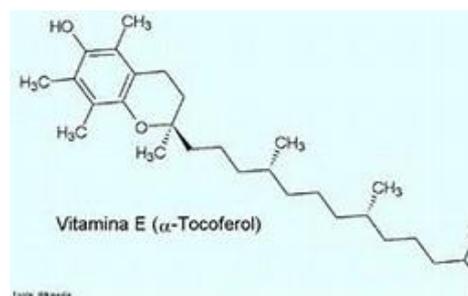
- Rocha, F., Gaspar, C., & Barata, A. M. (2017). The legacy of collecting missions to the valorization of agro-biodiversity. *Agriculture and Florestry*, 63 (2), 25-38.
- Sacco, A., Ruggieri, V., Parisi, M., Festa, G., Rigano, M. M., Picarella, M. E., Mazzucato, A., Barone, A. (2015). Exploring a Tomato Landraces Collection for Fruit-Related Traits by the Aid of a High Throughput Genomic Platform. *Plos One*, 10(9): e0137139.
- Santos, F. F. B. (2009). Obtenção e Seleção de híbridos de tomate yellow vein Streak virus (ToYVSV). Dissertação de Mestrado em *Agricultura Tropical e Subtropical Área de Concentração em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia*, Campinas, São Paulo.
- Selhub, J., Jacques, P. F., Wilson, P. W., Rush, D., Rosenberg, I. H. (1993). Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *Jama*, 270 (22), 2693-2698.
- 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, 189-210.
- Tanksley, S. D., & Khush, G. S. (2002). Charles Madera Rick. *Bibliographical Memoirs*, 84, 307-319.
- Terry, P.D., Terry, J.B. Rohan, T.E. (2004). Long-chain (n-3) fatty acid intake and risk of cancers of the breast and prostate: recent epidemiological studies, biological mechanisms, and directions for future research. *Journal of Nutrition*. 134, 3412S-3420S.
- Tetens, I. (2010). Scientific opinion on the modification of the authorisation of a health claim related to water-soluble tomato concentrate and helps to maintain a healthy blood flow and benefits circulation pursuant to Article 13 (5) of Regulation (EC) No 1924/2006 following a request in accordance with Article 19 of the Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2010, 8(7), 1689 (pp. 1-9).
- Tomatoland, (2011). World consumption: Table tomato and processed products. Paper disponível em: <http://www.tomatoland.com/documents/2248.pdf> consultado dia 22/10/2017
- Unlu, N. Z., Bohn, T., Francis, D., Clinton, S. K., Schwartz, S. J. (2007). Carotenoid absorption in humans consuming tomato sauces obtained from tangerine or high-beta-carotene varieties of tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(4), 1597-1603.
- USDA. United States Department of Agriculture (2017). Clasification of *Solanum lycopersicum* L.. Disponível em <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=SOLY2> Em *United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service*, consultado a 11/01/2017.

- UPOV (2011) "International Union For The Protection of New Varieties of Plants" disponível em <http://www.upov.int/portal/index.html.en> consultado dia 19/01/17.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., Mazul, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Viskelis, P., Jankauskiene, J., & Bobinaite, R. (2008). Content of carotenoids and physical properties of tomatoes harvested at different ripening stages. In: *Conference proceedings of the 3rd Baltic, Conference on Food Science and Technology*, Jelgava, Latvia (pp. 166-170).
- Warburton, M., and Crossa, J. (2000). *Data analysis in the CIMMYT. Applied Biotechnology Center for fingerprinting and genetic diversity studies*. CIMMYT, Mexico.
- Wiley, E.O., Lieberman, B. S. (1981). *Phylogenetics: The theory and practice of phylogenetics and systematics*. John Wiley, New York.
- Wolfe, K., Wu, X., Liu, R.H., (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51 (3), 609-614.
- Zhang, J., Hou, X., Ahmad, H., Zhang, H., Zhang, L., & Wang, T. (2014). Assessment of free radicals scavenging activity of seven natural pigments and protective effects in AAPH-challenged chicken erythrocytes. *Journal of Food chemistry*, 145 (15), 57-65.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64 (4), 555-559.
- Zubay, G. (2006). *Biochemistry*, 5th ed, Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, L.A., U.S.A..



UPOV

UPOV stands for
Union for the
Protection
Of New
Varieties of Plants



Anexos

Caraterização morfológica e química de acessos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)
 conservados no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Anexo 1: Compostos de interesse na planta e no fruto da espécie *Solanum lycopersicum* L.

- **Compostos fenólicos**, derivados de **ácidos hidróxicinâmicos** tais como o ácido cafeico e o ácido clorogénico; **flavonoides** Quercetina, Canferol, Naringenina ou geninas (antocianina); (Pinela *et al.*, 2016).
- **Vitaminas**, ácido ascórbico ou vitamina C (Pinela *et al.*, 2016), Tiamina ou vitamina B1; Rivo flavina ou vitamina B2; Ácido pantoténico ou vitamina B3; Niacina ou ácido nicotínico ou vitamina PP; (Perveen *et al.*, 2015), Piri-doxina ou vitamina B6; (Perveen *et al.*, 2015), Biotina ou vitamina B7 (Hoffman *et al.*, 1987), Ácido fólico ou vitamina B9; Rutina ou vitamina P; (flavonoide); Tocoferol totais incluem β -tocoferol, α -tocoferol, γ -tocoferol, δ -tocoferol; (vitamina E) (Pinela *et al.*, 2016).
- **Carotenoides** Crócina (carotenoide); Licopeno (caroteno); β -caroteno (caroteno); Vitamina A (retinóides, é um caroteno); γ -caroteno (caroteno); Luteína (caroteno); (Pinela *et al.*, 2016).
- **Glicoalcalóides**, Tomatina (glicoalcalóide); Esculeósido A (glicoalcalóide); (Pinela *et al.*, 2016).
- **Estibenos**; (Barros *et al.*, 2012).
- **Lectinas**; (Pinela *et al.*, 2016).

Anexo 2: Lista de descritores utilizados na caracterização morfológica e agronómica

Descritores	Escalas usadas nas medições	Instruções para fazer as medições	Tipo de descritor e fonte
1 – Tipo de crescimento da planta	1 – Determinado 2 – Semi - determinado 3 – Indeterminado	Observar o estado da planta completamente desenvolvida.	Agronómico e morfológico, qualitativo, (ECPGR 2008).
2 - Largura da planta na floração	Medição (cm)	Medir todas as plantas da população, utilizando a régua. Calcular a média.	Morfológico, quantitativo (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
3 – Altura da planta na floração	Medição (cm)	Medir todas as plantas da população, utilizando a régua. Calcular a média.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
4 – Largura da planta na maturação	Medição (cm)	Medir todas as plantas da população, utilizando a régua. Calcular a média.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
5 – Altura da planta na maturação	Medição (cm)	Medir todas as plantas da população, utilizando a régua. Calcular a média.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
6 – Cor das folhas	Escolher a cor através da comparação no catálogo de cores.	Utilização do catálogo de cores, RHS (Royal Horticultural Society) – Color chart.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011).
7 – Atitude das folhas	1 Semi erecto 2 Horizontal 3 Semi caído	Antes de podar a planta. Ver figuras em anexo.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
8 – Atitude da inflorescência	1 Semi erecto 2 Horizontal 3 Semi caído	Antes de podar a planta. Ver figuras em anexo.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
9 – Largura da folha	Medição (cm)	Medir a população toda utilizando uma régua, e calcular a média. Medir 10 folhas de cada população. O tamanho dos folíolos deve ser medido a meio da folha.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011).
10 – Altura da folha	Medição (cm)	Medir a população toda utilizando uma régua, e calcular a média. Medir 10 folhas de cada população. O tamanho dos folíolos deve ser medido a meio da folha.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
11 – Tipo da folha	1 Anã 2 Tipo folha de batata 3 Padrão 4 Peruvianum 5 Pimpinellifolium 6 Hirsutum	Comparar com os desenhos em anexo.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).

12 – Tipo do lóbulo da folha	1 Folha normal 2 Folha composta	Observar os desenhos em anexo.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011).
13 – Data de início de floração	Registrar a data com um calendário.	Observar a data da 3ª flor na 2ª ou 3ª inflorescência de cada planta. Não é recomendada na 1ª inflorescência porque esta é mais influenciada pelo vigor da semente e pela qualidade da plantação. Registrar a data média da população.	Agronômico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
14 – Data do fim de floração	Registrar a data com um calendário.	Observar a data de fim de floração. Registrar data média da população.	
15 – Tempo de floração	Data registada em termos da média da população (numero de dias).	Fazer os cálculos com a data de germinação e a data de inicio de floração. A data é registada através da média do grupo.	Agronômico, quantitativo, (IPGRI, 1996).
16 – Tempo entre a germinação e a floração	Número de dias.	Fazer os cálculos entre a data de germinação e o inicio da floração.	Agronômico, quantitativo, (IPGRI, 1996).
17 – Tipo de inflorescência	1 - 1 ramo (Unipara); 2 - 2 ramos (Bipara); 3 – 3 ou mais ramos (Múltipla).	Observar a 2ª ou 3ª inflorescência de pelo menos 10 plantas. Observar os desenhos em anexo.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).
18 – Número de inflorescência		Contar o numero por planta e calcular a média.	Agronômico, quantitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).
19 – Número de flores por inflorescência		Contar o numero de planta e calcular a média.	Agronômico, quantitativo, (IPGRI, 1996).
20 – Número de frutos por inflorescência		Contar o numero por planta e calcular a média.	Agronômico, qualitativo.
21 – Cor das flores	Escolher uma cor por comparação com o catálogo de cores.	Utilização do catálogo de cores, RHS (Royal Horticultural Society) – Colour chart.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011).
22 – Data de início de frutificação	Registrar a data com um calendário.	Observar a data de inicio de frutificação da 3ª flor na 2ª ou 3ª inflorescência de cada planta. Não é recomendado o 1ª porque a expressão na 1ª inflorescência é mais influenciada pelo vigor da semente e a qualidade da plantação. Fazer os cálculos com a data de germinação e a data de inicio de frutificação. Registrar a data média da população.	Agronômico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).

23 – Data do fim de frutificação	Registrar a data com um calendário.	Observar a data de fim de frutificação. Registrar data média da população.	
24 – Tempo de frutificação	Registrar a data média da população (numero de dias).	Fazer os cálculos com a data de germinação e a data de inicio de frutificação. A data é registada através da média do grupo.	Agronómico, quantitativo. (IPGRI, 1996).
25 – Tempo entre germinação e frutificação	Número de dias.	Fazer os cálculos entre a data de germinação e a de inicio de frutificação.	Agronómico, qualitativo.
26 - Data de início de colheita	Registrar a data com um calendário.	Registrar o dia de colheita do primeiro fruto.	Agronómico, qualitativo.
27 – Data de fim colheita	Registrar a data com um calendário.	Registrar o dia de colheita do ultimo fruto.	Agronómico, qualitativo.
28 – Época de colheita (Tempo de maturação)	Registrar a data média do grupo (numero de dias).	Fazer os cálculos com a data de germinação e a data de inicio de colheita. A data é registada através da média do grupo.	Agronómico, qualitativo.
29 - Tempo entre germinação e colheita	Número de dias.	Calcular através da data de germinação e de inicio de colheita.	Agronómico, qualitativo.
30 – Comprimento do pedicelo	Medição (cm)	Medir desde o cálice até á extremidade oposta do pedúnculo. Medir com uma régua a população inteira e calcular a média. Ver os desenhos em anexo.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
31 - Presença / ausência de união do pedúnculo	0 Ausência 1 Presença	Observe o pedicelo e faça a comparação com o desenho em anexo.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).
32 – Tamanho da cicatriz do pedúnculo	Medição (cm)	O pedúnculo deve ser removido e observar o anel verde, não a cicatriz completa. Medir a parte com maior distância. Medir com uma régua a população completa e estimar a média.	Morfológico, quantitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
33 – Nervura na terminação do cálice	1 Muito fraca 3 Fraca 5 Intermédia 7 Forte	Observar quando o fruto tenha o máximo tamanho, inspeção visual e comparação com os desenhos em anexo.	Morfológica, qualitativa, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).

34 – Forma do ombro do fruto	1 Plano 2 Ligeiramente recuado 3 Moderadamente recuado 4 Fortemente recuado	Observar quando o fruto tenha o máximo tamanho, inspeção visual e comparação com os desenhos em anexo.	Morfológica, quantitativa, (IPGRI, 1996).
35 – Forma da terminação do fruto	1 Recuado 2 Recuado a plano 3 Plano 4 Plano a pontiagudo 5 Pontiagudo	Observar quando o fruto tenha o máximo tamanho, inspeção visual e comparação com os desenhos em anexo.	Morfológica, qualitativa, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
36 – Cor exterior do fruto imaduro	Escolha uma cor por comparação com o catálogo de cores.	Utilização do catálogo de cores, RHS (Royal Horticultural Society) – Colour chart.	Morfológica, qualitativa, (IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).
37 – Cor exterior do fruto maduro	Escolha uma cor por comparação com o catálogo de cores.	Registrar a maturação fisiológica. A cor da maturação deve ser observada depois de uma complete troca de cor, quando a placenta é claramente encontrada no fruto cortado ao meio. Utilização do catálogo de cores, RHS (Royal Horticultural Society) – Colour chart.	Morfológico, qualitativo, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
38 – Forma predominante do fruto	1 Achatado 2 Ligeiramente achatado 3 Arredondado 4 Muito arredondado 5 Forma de coração 6 Cilindrico 7 Piriforme 8 Elipsoide (forma de ameixa) 9 Outro	Inspeção visual e comparação com os desenhos em anexo.	Morfológico, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).
39 – Peso do fruto	Peso (g)	Medição com uma balança.	Agronómico, quantitativo. (IPGRI, 1996).
40 – Comprimento do fruto	Medição (cm)	Medir o diâmetro mais largo do fruto na maturação (Vertical).	Morfológica, quantitativa, (IPGRI, 1996).

41 – Tamanho do fruto	1 Muito pequeno (<3cm) 2 Pequeno (3 - 5cm) 3 Médio (5.1 – 8cm) 4 Largo (8.1 – 10cm) 5 Muito largo (>10cm)	Medição na maturação.	Morfológica, quantitativa, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
42 – Largura do fruto	Medição (cm)	Medir o diâmetro mais largo do fruto na maturação (Horizontal).	Morfológica, quantitativa, (IPGRI, 1996).
43 – Diametro do fruto	1 Muito pequeno (<3cm) 2 Pequeno (3 - 5cm) 3 Médio (5.1 – 8cm) 4 Largo (8.1 – 10cm) 5 Muito largo (>10cm)	Medição na maturação.	Morfológico, quantitativo, (IPGRI, 1996).
44 – Forma do fruto seccionado ao meio	1 Redonda 2 Angular 3 Irregular	Inspeção visual e comparação com o desenho em anexo.	Morfológica, qualitativa, (IPGRI, 1996).
45 – Cor interior do fruto	Escolha uma cor por comparação com o catálogo de cores.	Registrar a maturação fisiológica. A cor da maturação deve ser observada depois de uma complete troca de cor, quando a placenta é claramente encontrada no fruto cortado ao meio. Utilização do catálogo de cores, RHS (Royal Horticultural Society) – Colour chart.	Morfológica, qualitativa, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996).
46 – Diametro do interior do fruto	Medição (cm)	Medir o diâmetro mais largo do fruto cortado ao meio, na maturação.	Morfológica, qualitativa, (IPGRI, 1996).
47 – Número de lóculos por fruto		Ver o desenho em anexo.	Morfológica, qualitativa, (UPOV, 2011; IPGRI, 1996; ECPGR, 2008).
48 – Número de frutos	Contar o número total de frutos	Contar o número de plantas por fruto e calcular a média.	Agronómico, quantitativo, (IPGRI, 1996).
49 – Peso total dos frutos	Pesar (g)		Agronómico, quantitativo, (IPGRI, 1996).

Descritor 8 – Atitude da folha e atitude da inflorescência



3
semi-erect



5
horizontal

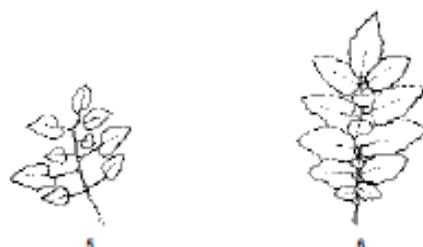
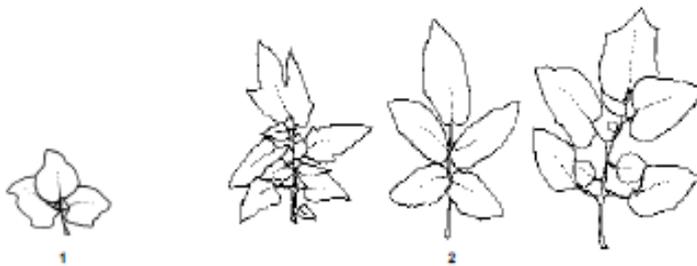


7
semi-drooping



9
drooping

Descritor 11 – Tipo de folha



Descritor 12 - Tipo de lóbulo da folha

1
pinnate



2
bipinnate

Descritor 17 – Tipo de inflorescência/distribuição de frutos

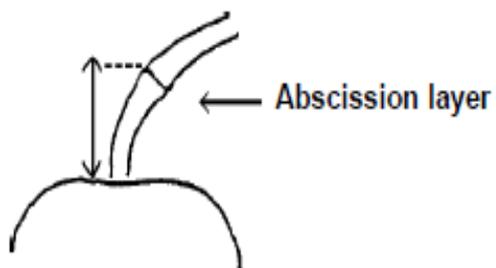
uniparous

multiparous (biparous)



multiparous (triparous)

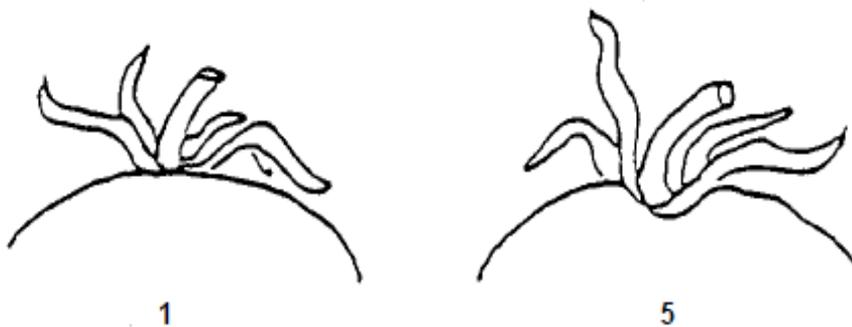
Descritor 31 – Presença ou ausência de união do pedúnculo



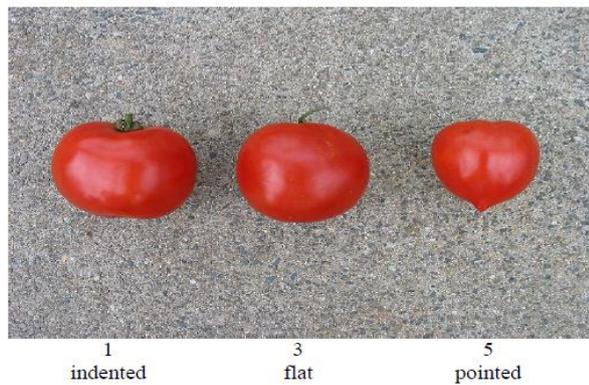
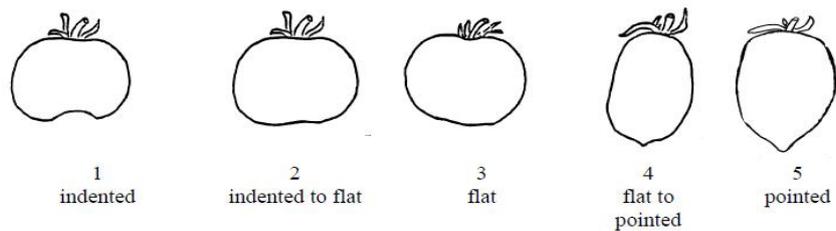
Descritor 33 – Nervura na terminação do cálice do fruto



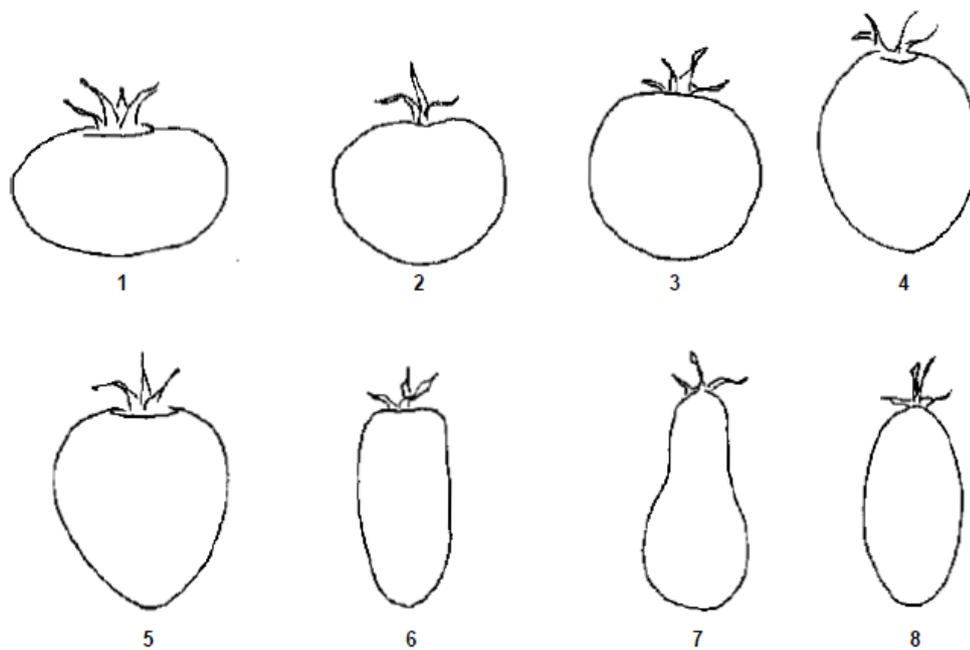
Descritor 34 – Forma do ombro do fruto



Descritor 35 – Forma da terminação do fruto



Descritor 38 – Forma predominante do fruto



Descritor 44 – Forma do fruto seccionado ao meio

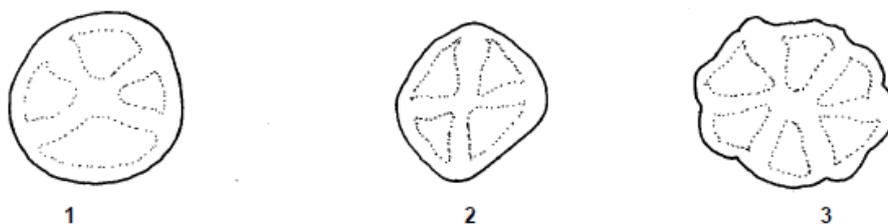


Fig. 7 Fruit cross-sectional shape

Descritor 47 – Número de lóculos do fruto



1
only two



2
two and three



3
three and four



4
four, five or six



5
more than six

Anexo 3: Lista de acessos ensaiados de tomate, *Solanum lycopersicum* L.

Nº Acesso	Proveniência	Local de colheita	Nome vulgar
BPGV11098	Lisboa (PRT)	Azambuja	Tomate Maçã
BPGV11350	Lisboa (PRT)	Azambuja	Tomate de Cachos Lisos e Redondos
BPGV11363	Santarém (PRT)	Rio Maior	Tomate Coração de Boi
BPGV11372	Leiria (PRT)	Porto de Mós	Tomate
BPGV11400	Santarém (PRT)	Santarém	Tomate Maçã
BPGV11465	Santarém (PRT)	Mação	Tomate Vermelho
BPGV11681	Santarém (PRT)	Abrantes	Tomate
BPGV11696	Santarém (PRT)	Coruche	Tomate Redondo
BPGV11732	Santarém (PRT)	Chamusca	Tomate Coração de Boi
BPGV11803	Portalegre (PRT)	Marvão	Tomate Grosso
BPGV11907	Portalegre (PRT)	Avis	Tomate Cabecinhas
BPGV12260	Bragança (PRT)	Vimioso	Tomate Coração de Boi
BPGV12437	Bragança (PRT)	Miranda do Douro	Tomate Amarelo
BPGV12446	Bragança (PRT)	Miranda do Douro	Tomate Antigo
BPGV12465	Bragança (PRT)	Mogadouro	Tomate Sem Varas
BPGV12506	Santarém (PRT)	Santarém	Tomate Coração de Boi
BPGV12906	Aveiro (PRT)	Albergaria-a-Velha	Tomate
BPGV12954	Aveiro (PRT)	Ovar	Tomate Coração de Boi
BPGV13034	Guarda (PRT)	Seia	Tomate Coração de Boi
BPGV16388	Castelo Branco (PRT)	Proença a Nova	Tomate Salada

Anexo 4: Matriz de correlações residuais entre descritores morfológicos quantitativos

Correlação de Pearson	Resíduo para PWF	Resíduo para PHF	Resíduo para PWM	Resíduo para PHM	Resíduo para LW	Resíduo para LH	Resíduo para FT	Resíduo para TBGF	Resíduo para IN	Resíduo para NFPI	Resíduo para NFrPI	Resíduo para FrT
Resíduo para PWF	1											
Resíduo para PHF	,721**	1										
Resíduo para PWM	,661**	,639**	1									
Resíduo para PHM	,726**	,775**	,556*	1								
Resíduo para LW	,047	,202	,135	,106	1							
Resíduo para LH	,198	,317	,367	,247	,862**	1						
Resíduo para FT	,446*	,584**	,583**	,633**	,401	,442	1					
Resíduo para TBGF	,476*	,390	,016	,111	,043	,001	,077	1				
Resíduo para IN	-,400	-,150	-,118	-,021	,149	,199	-,151	-,686**	1			
Resíduo para NFPI	,015	,065	-,173	,278	-,004	,023	,159	,186	-,230	1		
Resíduo para NFrPI	,043	,122	-,055	,244	,332	,291	,020	,130	,159	,566**	1	
Resíduo para FrT	,257	,319	,521*	,429	,312	,482*	,237	-,219	,204	,051	,266	1
Resíduo para TBGFr	,206	,107	-,138	-,020	-,095	-,231	,062	,694**	-,628**	,150	-,112	-,553*
Resíduo para HT	,010	,186	,149	,287	,260	,416	,152	-,072	,227	,105	,279	,636**
Resíduo para TBGH	,294	,223	,082	,073	-,036	-,144	,208	,517*	-,647**	,007	-,229	-,431
Resíduo para PL	,477*	,403	,469*	,522*	,220	,325	,475*	,088	-,303	,161	-,110	,248
Resíduo para SPS	,680**	,560*	,587**	,500*	-,025	,121	,381	,218	-,266	-,163	-,234	,228
Resíduo para RACE	,783**	,515*	,567**	,566**	,037	,202	,504*	,372	-,592**	,094	-,119	,207
Resíduo para FrWei	,546*	,387	,458*	,542*	-,036	,175	,419	,178	-,298	,075	-,180	,325
Resíduo para FrL	,207	,224	,472*	,311	-,356	-,101	,180	-,035	-,197	,012	-,018	,152
Resíduo para FrWid	,523*	,411	,369	,531*	,049	,209	,427	,097	-,202	,115	-,200	,238
Resíduo para DIFr	,581**	,465*	,361	,561*	,053	,213	,403	,175	-,229	,142	-,135	,248
Resíduo para NLPFr	,305	,277	,336	,430	-,145	,099	,304	-,011	-,223	,351	-,135	,442
Resíduo para NOFr	-,081	,087	-,005	,328	,475*	,424	,154	-,173	,586**	,229	,733**	,383
Resíduo para TWFr	,189	,296	,294	,551*	,344	,490*	,413	-,009	,158	,328	,363	,626**

Resíduo para TBGFr	Resíduo para HT	Resíduo para TBGH	Resíduo para PL	Resíduo para SPS	Resíduo para RACE	Resíduo para FrWei	Resíduo para FrL	Resíduo para FrWid	Resíduo para DIFr	Resíduo para NLPFr	Resíduo para NOFr	Resíduo para TWFr
1												
-,516 [*]	1											
,900 ^{**}	-,568 ^{**}	1										
-,109	,362	-,059	1									
-,164	,375	-,106	,749 ^{**}	1								
,106	,203	,243	,709 ^{**}	,725 ^{**}	1							
-,187	,512 [*]	-,158	,807 ^{**}	,819 ^{**}	,757 ^{**}	1						
,008	,073	,161	,247	,140	,401	,347	1					
-,267	,388	-,230	,812 ^{**}	,815 ^{**}	,683 ^{**}	,928 ^{**}	,113	1				
-,228	,375	-,197	,783 ^{**}	,814 ^{**}	,688 ^{**}	,913 ^{**}	,093	,986 ^{**}	1			
-,358	,510 [*]	-,316	,668 ^{**}	,590 ^{**}	,577 ^{**}	,844 ^{**}	,283	,833 ^{**}	,816 ^{**}	1		
-,231	,375	-,332	-,156	-,304	-,318	-,198	-,093	-,229	-,224	-,239	1	
-,284	,802 ^{**}	-,319	,452 [*]	,307	,250	,578 ^{**}	,168	,452 [*]	,447 [*]	,550 [*]	,549 [*]	1