

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

TALITA SLOTA KUTZ

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE  
GENÓTIPOS DE TOMATEIRO DO BANCO ATIVO DE  
GERMOPLASMA DA UTFPR – PATO BRANCO

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2018

TALITA SLOTA KUTZ

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE  
GENÓTIPOS DE TOMATEIRO DO BANCO ATIVO DE  
GERMOPLASMA DA UTFPR – PATO BRANCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Agronomia – Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Thiago de Oliveira Vargas

Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Taciane Finatto;  
Prof. Dr. Antonio Carlos de Souza Abboud

PATO BRANCO

2018

K97c

Kutz, Talita Slota.

Caracterização morfológica e molecular de genótipos de tomateiro do Banco Ativo de Germoplasma da UTFPR, Pato Branco / Talita Slota Kutz. -- 2018. 77 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Tiago de Oliveira Vargas

Coorientadora: Profa. Dra. Taciane Finatto

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Carlos de Souza Abboud

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2018.

Bibliografia: f. 67 - 77.

1. Tomate - Melhoramento genético. 2. Agrobiodiversidade. 3. Marcadores genéticos. I. Vargas, Tiago de Oliveira, orient. II. Finatto, Taciane, coorient. III. Abboud, Antonio Carlos de Souza, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. V. Título.

CDD (22. ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por  
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630  
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Pato Branco  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título da Dissertação nº xxx**

# **CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DA UTFPR – PATO BRANCO**

por

**TALITA SLOTA KUTZ**

Dissertação apresentada às 14 horas e trinta minutos do dia 02 de fevereiro de 2018 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

---

**Dr. Giovani Olegário da Silva**  
Embrapa Hortaliças

---

**Dr<sup>a</sup>. Dalva Paulus**  
UTFPR/Dois Vizinhos

---

**Dr. Thiago de Oliveira Vargas**  
UTFPR/Pato Branco  
**Orientador**

---

**Prof. Dr. Dr. Moeses Andrigo  
Danner**  
Coordenador do PPGAG

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa”

Dedico, com grande carinho, aos meus pais Lúcia S. Kutz e Augusto Kutz e minha irmã Maria Carolina S. Kutz.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida e por iluminar meu caminho sempre.

Aos meus pais que amo e admiro, Lúcia S. Kutz e Augusto Kutz, que apesar das dificuldades sempre deram o máximo de si para que eu chegasse até aqui. Também agradeço minha irmã Maria Carolina S. Kutz, pelas grandes “filosofias de vida”, apoio e ajuda em algumas etapas da execução do experimento.

Ao meu orientador Thiago de Oliveira Vargas e minha coorientadora Taciane Finatto, agradeço imensamente pela paciência, atenção, oportunidade, orientação e contribuições na condução deste trabalho, e ainda, pelo exemplo como profissionais.

Ainda agradeço ao meu coorientador Prof. Dr. Antonio Carlos de Souza Abboud pelo apoio e colaboração.

Agradeço a Eliane Carneiro e a Franciele Paludo, pela ajuda com as análises moleculares. Maria Fernanda no Laboratório de Alimentos. Brendo Costa, John Modesto, Suélen Mazon, Vanessa Zanon e minha irmã Maria Carolina, com as análises de fruto. Aos demais colegas do grupo de Agroecologia, e amigos que auxiliaram na execução do experimento de campo, obrigada vocês tiveram valiosa contribuição!

Agradeço também a todos os funcionários da UTFPR, em especial ao Sr. Wilson Belusso e ao ex-funcionário o Sr. Otávio Semler.

“As melhores coisas da vida, não podem ser vistas  
nem tocadas, mas sim sentidas pelo coração”

Dalai Lama

## RESUMO

KUTZ, Talita Slota. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DA UTFPR – PATO BRANCO. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2018.

No melhoramento de plantas, a variabilidade é fundamental na escolha dos genitores. Em contrapartida, quando comparado a outras espécies do gênero *Solanum*, o tomateiro dispõe de uma base genética estreita. Atualmente, na região sudoeste do Paraná há carência de cultivares de tomateiro de polinização aberta adaptadas a região e ao cultivo agroecológico. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade morfológica e molecular de genótipos de tomateiro de polinização aberta do BAGT da UTFPR – Pato Branco. O experimento foi conduzido na Área Experimental da UTFPR – Câmpus de Pato Branco, em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. A caracterização morfológica foi realizada em 17 genótipos, a partir de 41 descritores quantitativos e qualitativos de fruto e planta, avaliação de doenças e pragas e análises físico-químicas de frutos. A variabilidade molecular foi analisada por meio de 20 iniciadores SSR em 19 genótipos de tomateiro. Os dados obtidos foram submetidos a diferentes análises multivariadas. Na caracterização da qualidade de fruto, 76,44% da variabilidade encontrada foi composta pelos descritores cromáticos b\* (44,43%) e L\* (7,21%), diâmetro da cicatriz do pedicelo (16,78%), número de lóculos (8,02%) e comprimento do fruto (8,02%). A dissimilaridade média morfológica geral entre os genótipos foi considerada baixa, os valores encontrados para os agrupamentos baseados nos caracteres quantitativos de planta foram de 0,34, 0,32 para os de frutos e para os caracteres gerais de 0,33. Dez dos 20 iniciadores que apresentaram bandas visíveis tiveram PIC superior à 0,58. A similaridade média obtida a partir dos fragmentos polimórficos amplificados através de 20 iniciadores SSR foi de 0,72. O genótipo comercial GA é morfológicamente e geneticamente semelhante ao genótipo UTFPR\_046. O UTFPR\_016 e UTFPR\_029 apresentaram 90% de similaridade genética e ficaram alocados no mesmo agrupamento em todas as análises morfológicas, indicando alto grau de parentesco entre esses materiais. Os genótipos de fruto amarelo-alaranjado, UTFPR\_008 e UTFPR\_015, são morfológicamente semelhantes, no entanto, geneticamente são 41% divergentes. A dissimilaridade média morfológica (0,33) foi muito próxima da molecular (0,28). As análises morfológicas e moleculares permitiram identificar agrupamentos com características de interesse e a existência ou não da duplicidade no BAGT da UTFPR – Pato Branco. Os resultados deste trabalho contribuíram para a formação e caracterização do BAGT da UTFPR – Pato Branco e podem auxiliar no melhoramento genético de variedades de tomateiro de polinização aberta para o cultivo agroecológico na região sudoeste do Paraná.

**Palavras-chave:** Tomate – Melhoramento genético, Agrobiodiversidade, Marcadores genéticos, Descritores morfológicos, Marcador molecular SSR.

## ABSTRACT

KUTZ, Talita Slota. MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF TOMATO GENOTYPES OF THE ACTIVE GERMOPLASM BANK OF UTFPR – PATO BRANCO. 77 f. Dissertation (Master in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Area of Concentration: Plant Production), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2018.

In plant breeding, variability is critical in choosing the parents. In contrast, when compared to other species of the genus *Solanum*, the tomato has a narrow genetic base. Currently, in the southwestern region of Paraná there is a lack of open-pollinated tomato cultivars adapted to the region and agroecological cultivation. Thus, the objective of this work was to characterize the morphological and molecular variability of the open – pollinated tomato genotypes of BAGT UTFPR – Pato Branco. The experiment was conducted in the Experimental Area of UTFPR – Pato Branco Campus, in a randomized block design, with four replications. The morphological characterization was performed in 17 genotypes, from 41 quantitative and qualitative descriptors of fruit and plant, evaluation of diseases and pests and physical-chemical analyzes of fruits. The molecular variability was analyzed by means of 20 SSR primers in 19 tomato genotypes. The data were submitted to different multivariate analyzes. In the characterization of fruit quality, 76.44% of the variability was composed by the chromatic descriptors  $b^*$  (44.43%) and  $L^*$  (7.21%), pedicel scar diameter (16.78%), number of loci (8.02%) and fruit length (8.02%). The general morphological average dissimilarity among the genotypes was considered low, the values found for the groupings based on the quantitative plant characters were 0.34, 0.32 for the fruits and for the general characters 0.33. Ten of the 20 primers that showed visible bands had PIC above 0.58. The average similarity obtained from polymorphic fragments amplified through SSR primers was 0.72. The commercial GA genotype is morphologically and genetically similar to the UTFPR\_046 genotype. UTFPR\_016 and UTFPR\_029 presented 90% genetic similarity and were allocated in the same cluster in all morphological analyzes, indicating a high degree of kinship among these materials. The yellow-orange fruit genotypes, UTFPR\_008 and UTFPR\_015, are morphologically similar, however, genetically they are 41% divergent. The mean morphological dissimilarity (0.33) was very close to the molecular (0.28). Morphological and molecular analyzes allowed the identification of clusters with characteristics of interest and the existence or not of duplicity in BAGT UTFPR – Pato Branco. The results of this work contributed to the formation and characterization of UTFPR – Pato Branco BAGT and may help in the genetic improvement of open pollinated tomato varieties for agroecological cultivation in the southwestern region of Paraná.

**Keywords:** Tomato – Genetic improvement, Agrobiodiversity, Genetic markers, Morphological descriptors, Molecular marker SSR.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Processamento de sementes para formação do BAGT da UTFPR – PB. (A) Fermentação; (B) Secagem; (C) Acondicionamento das sementes para armazenagem. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....29
- Figura 2 – Controle alternativo de vaquinha (*Diabrotica speciosa*). (A) Planta de tomate com ataque inicial; (B) Isca atrativa de tajuá e barreira física; (C) Alta infestação de vaquinhas atraídas pela isca de tajuá (*Cayaponia tayuya*). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017....42
- Figura 3 – Porcentagem média de genótipos descartados com sintomas da virose “vira-cabeça”. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....43
- Figura 4 – Dendrograma de dissimilaridade entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, a partir de 12 caracteres qualitativos e quantitativos de planta. Dissimilaridade média 0,34. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....51
- Figura 5 – Frutos dos genótipos UTFPR\_008 e UTFPR\_029 do BAGT – UTFPR Pato Branco. (A) Genótipo UTFPR\_008; (B) Genótipo UTFPR\_029; (C) Corte para contagem do número de lóculos do genótipo UTFPR\_029. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....52
- Figura 6 – Exemplos de diferentes densidades de folhagem (DF) de genótipos de tomateiro do BAGT – UTFPR Pato Branco. (A) Genótipo UTFPR\_008 com DF considerada densa; (B) Genótipo UTFPR\_115 caracterizado como DF escassa. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....53
- Figura 7 – Dendrograma de dissimilaridade entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, a partir de 29 caracteres qualitativos e quantitativos de fruto. Dissimilaridade média 0,32. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....55
- Figura 8 – Características externas da coloração mesclada do genótipo UTFPR\_021 e análise da coloração da pele de diferentes frutos. (A) Visão frontal do fruto do genótipo UTFPR\_021; (B) Parte inferior do fruto do genótipo UTFPR\_021; (C) Cortes de diferentes peles dos frutos de tomateiro. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....56
- Figura 9 – Dendrograma de dissimilaridade entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, a partir de 41 caracteres qualitativos e quantitativos gerais. Dissimilaridade média 0,33. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....59
- Figura 10 – Dendrograma de similaridade genética entre os 19 genótipos a partir dos resultados dos pares de iniciadores SSR (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21 e 22). Similaridade média 0,72. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Iniciadores SSR utilizados para análise da dissimilaridade genética em genótipos de tomateiro ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) UTFPR, Pato Branco – PR, 2017.....	38
Tabela 2 – Contribuição relativa dos caracteres quantitativos de fruto para a divergência entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, baseada na distância generalizada de Mahalanobis. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....	45
Tabela 3 – Agrupamento dos 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, baseado em 15 caracteres quantitativos de fruto. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....	46
Tabela 4 – Caracterização morfológica de genótipos de tomateiro do BAGT – UTFPR de Pato Branco, baseada em alguns descritores qualitativos e quantitativos de fruto e planta. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....	48
Tabela 5 – Lista dos iniciadores SSR polimorficos, com base no Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC ). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....	61

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AL	Alambra®
AVDR	<i>Vegetable Reseach and Development Center</i>
BAGT	Banco Ativo de Germoplasma de Tomateiro
BGH – UFV	Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa
CEAGESP	Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo
CTAB	Brometo de Cetil Trimetil de Amônia
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
GA	Gaúcho
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPGRI	<i>International Plant Genetic Resources Institute</i>
NTSYS-PC	<i>Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System for personal computers</i>
OP	<i>Open Pollination</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PIC	<i>Polymorphic information Content</i>
SC	Santa Clara
SSR	<i>Simple Sequence Repeats</i>
TGRD	<i>Tomato Genomic Resource Database</i>
Tm	Temperatura de Melting
TOMSatdb	<i>Tomato Microsatellite database</i>
UPGMA	<i>Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average</i>
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
2.1 MELHORAMENTO GENÉTICO DO TOMATEIRO PARA O CULTIVO AGROECOLÓGICO.....	17
2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE TOMATEIRO.....	21
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
3.1 GERAL.....	27
3.2 ESPECÍFICOS.....	27
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA.....	29
4.1.1 Condições Experimentais.....	29
4.1.2 Análises de Caracteres de Qualidade de Fruto.....	31
4.1.3 Análises de Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Planta.....	33
4.1.4 Análises de Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Fruto.....	34
4.1.5 Análises de Caracteres Qualitativos e Quantitativos Gerais.....	35
4.1.6 Análises Estatísticas.....	36
4.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR.....	37
4.2.1 Obtenção do Material Vegetal.....	37
4.2.2 Escolha dos Iniciadores.....	37
4.2.3 Extração, Integridade e Quantificação de DNA.....	39
4.2.4 Reação de PCR.....	40
4.2.5 Eletroforese.....	40
4.2.6 Análise de Dados.....	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA.....	44
5.1.1 Caracteres de Qualidade de Frutos.....	44
5.1.2 Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Planta.....	50
5.1.3 Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Fruto.....	55
5.1.4 Caracteres Qualitativos e Quantitativos Gerais.....	58
5.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR.....	60
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>65</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) orgânico é considerada um desafio para agricultores e pesquisadores, já que há carência de materiais genéticos e formas de manejo fitossanitário e nutricional disponíveis. Em contrapartida é uma excelente oportunidade de negócio, principalmente quando se trata dos tipos de tomates do tipo de mesa (HEALY, *et al.*, 2017; MELO *et al.*, 2017). Na região sudoeste do Paraná é de grande interesse o cultivo do e tomateiro de mesa pelos olericultores agroecológicos. No entanto, há carência de cultivares de polinização aberta adaptadas a essa região e ao cultivo orgânico.

Isso se deve principalmente ao fato de que ao longo do tempo o melhoramento genético das culturas vem priorizando o desenvolvimento de variedades e híbridos voltados para o cultivo convencional. Alguns desses materiais quando implantados nos sistemas que utilizam uma menor carga de insumos, como os agroecológicos, podem sofrer com a falta de adaptação. Isso ocorre porque o avanço genético é realizado em um local fora daquele onde a planta será cultivada, com acesso à nutrientes prontamente disponíveis e sem competição com plantas espontâneas. Acarretando muitas vezes em materiais com sistema radicular reduzido e mais sensíveis aos estresses abióticos, quando comparados as variedades tradicionais (CHAPAGAIN *et al.*, 2014; IBYEHKO *et al.*, 2015; NEWTON *et al.*, 2017).

Especialmente no sudoeste Paranaense, os olericultores sofrem com as condições peculiares de cultivo na época de verão, determinadas pela associação de alta pluviosidade e elevadas temperaturas. Combinados com esses fatores, a expansão da produção de tomates orgânicos ainda é limitada pelo alto custo das sementes híbridas, sua incapacidade de reprodutibilidade pelos próprios produtores e a falta de sementes orgânicas certificadas disponíveis no mercado (MELO *et al.*, 2017).

A utilização de sementes de variedades de polinização aberta ou OP (termo utilizado da língua inglesa *Open Pollination*) é uma alternativa a esses sistemas de cultivo (BUEREN *et al.*, 2011). Os programas de melhoramento genético que tem como objetivo a obtenção de uma cultivar/variedade OP devem levar em

consideração na seleção de genótipos a adaptação ao agroecossistema local de produção, nível de rendimento, resistência à doenças e a qualidade de fruto (BOYHAN *et al.*, 2014).

Nesse sentido, a implantação de um programa de melhoramento genético que atenda essas demandas é essencial no desenvolvimento da tomaticultura de base agroecológica na região Sudoeste do Paraná. Contudo, para iniciar um programa como esse é imprescindível a obtenção de um material genético base oriundo de variedades locais ou de acessos de germoplasma previamente caracterizados e que apresentem variabilidade genética (SACCARO, 2011). É preferível que a seleção dos materiais seja feita dentro do ambiente-alvo e se possível com a participação dos agricultores (DINSSA *et al.*, 2016).

No tomateiro cultivado a diversidade genética é estreita, por isso novas fontes de variabilidade são buscadas, principalmente em acessos conservados nos bancos de germoplasmas (BAI; LINDHOUT, 2007). Os materiais genéticos disponíveis podem ser caracterizados fenotipicamente através de descritores morfológicos (KARASAWA *et al.*, 2005) e genotipicamente por meio do uso de marcadores moleculares (PEREIRA *et al.*, 2009). Assim, a associação destes permite diferenciar genótipos morfológicamente diferentes, mas geneticamente análogos e o contrário também é observado.

Apesar da utilização de descritores morfológicos, como a determinação da forma e tamanho de fruto, hábito de crescimento e os dias até a maturidade, a caracterização molecular é essencial quando pretende-se explorar de forma mais detalhada o germoplasma de tomate (BHATTARAI *et al.*, 2016). Vários são os marcadores moleculares existentes, no entanto os marcadores de microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) estão entre um dos mais utilizados na investigação de variabilidade genética (LEAL *et al.*, 2010).

Com a utilização dessas duas ferramentas de caracterização, este trabalho tem como objetivo caracterizar morfológicamente e geneticamente a variabilidade dos genótipos do Banco Ativo de Tomateiro da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Pato Branco (BAGT – UTFPR Pato Branco). Possibilitando dessa forma, auxiliar nos programas de melhoramento genético que pretendam trabalhar para a obtenção de cultivares do tomateiro de

polinização aberta adaptadas ao cultivo de base agroecológica e a região sudoeste paranaense.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 MELHORAMENTO GENÉTICO DO TOMATEIRO PARA O CULTIVO AGROECOLÓGICO

O tomateiro cultivado (*Solanum lycopersicum* L.) é uma espécie diploide ( $2n= 2X= 24$ ), pertencente a família Solanaceae (ARUMUGANATHAN; EARLE, 1991; PERALTA *et al.*, 2008). Nativo da América do Sul (oeste do Equador, norte da Bolívia e Chile), originária da silvestre *S. pimpinellifolium*, que foi domesticada primeiramente no Peru e Equador e mais tarde no México (PERALTA *et al.*, 2008; FLINT-GARCIA, 2013). Posteriormente, o tomate foi levado para a Europa, onde se disseminou por todo o mundo e ao longo desse caminho foi sofrendo seleções que levaram ao desenvolvimento de cultivares com um tamanho dos frutos até 100 vezes maior que sua antecessora (LIN *et al.*, 2014).

Trata-se de uma das mais importantes plantas cultivadas, haja vista que no mundo são produzidas cerca de 161,8 milhões de toneladas de tomate fresco por ano, em uma área de 4,8 milhões de hectares (FAO, 2014). Em 2015 os brasileiros produziram cerca de 3,69 milhões de toneladas de tomate e o Paraná 261,351 mil toneladas (IBGE, 2016). No Brasil 27% das sementes de hortaliças comercializadas são de tomate de mesa onde o grupo Salada representa 52,2%, o Saladete 25,1%, Santa Cruz com 21,9% e o de pequenos tomates 0,8% (PEREIRA-CARVALHO, 2014). Em relação a utilização de sementes, a maioria dos materiais cultivados pelos agricultores brasileiros são de tomates híbridos, de modo que as variedades OP ocupam apenas 1,37% da área plantada (ABCSEM, 2010).

Quando comparado a outros familiares do gênero *Solanum*, o tomateiro apresenta grande diversidade morfológica e baixa variabilidade genética (MILLER; TANKSLEY, 1990; BAI; LINDHOUT, 2007). No melhoramento genético, quando o genitor apresenta variabilidade muito reduzida, não é capaz de contribuir por meio de cruzamento para a variação fenotípica (INNAN; KIM, 2004).

A variabilidade provém dos genes que sofreram mutações por meio da exclusão ou de inserções de elementos transponíveis, que acarretaram em efeitos

fenotípicos observados durante a evolução de determinada cultura (MEYER *et al.*, 2012). Durante a domesticação a variação no genoma é reduzida porque geralmente um pequeno número de genitores é escolhido para reprodução da espécie e a variabilidade ainda pode variar conforme o sistema reprodutivo da planta e quanto mais artificial for essa seleção (TENAILLON *et al.*, 2004).

A variabilidade é buscada pelos programas de melhoramento em germoplasmas de parentes silvestres, variedades tradicionais e/ou em acessos cultivados que apresentem características de interesse (BAI; LINDHOUT, 2007; FLINT-GARCIA, 2013). Apesar de *Solanum l.* ser autocompatível, cruzamentos interespecíficos realizados com o objetivo de aumentar a variabilidade genética podem resultar em incompatibilidade (ARAGÃO *et al.*, 2002; SCHWARZ *et al.*, 2014).

Variedades tradicionais, de herança, landraces, Kyo-yasai (termo em japonês), heirloom (termo da língua inglesa) ou variedades crioulas (no Brasil), referem-se às que foram hortaliças preservadas utilizando métodos de cultivo tradicionais e que normalmente apresentam sabores mais característicos, como maior doçura, do que as convencionais (NAKAMURA *et al.*, 2017). Comercialmente, os frutos de tomate obtidos a partir de plantas silvestres não são comercializados e as variedades de herança são muitas vezes marginalizadas, principalmente no Brasil. Ficando por conta dos bancos de germoplasmas, agricultores familiares e principalmente os guardiões de sementes preservarem essas fontes de recursos genéticos.

Mundialmente o tomate é consumido tanto fresco quando na forma processada, sendo largamente reconhecido como um alimento nutracêutico, por possuir compostos bioativos (ácido ascórbico, carotenoides, compostos fenólicos, entre outros) (GEORGE *et al.*, 2004; KAUR *et al.*, 2013). No entanto, devido o padrão comercial imposto ao longo dos anos, os consumidores têm a disposição um tomate restrito à qualidade sensorial e ao aspecto visual do fruto, que geralmente é grande, de coloração vermelha e sem sabor (VARGAS *et al.*, 2015).

Os atributos de qualidade são os principais responsáveis pela variação no valor do tomate de mesa, em mercados atacadistas como no CEAGESP, por exemplo. Em pesquisa de opinião, realizada por De Oliveira *et al.* (2012) nessa

companhia, os dirigentes responsáveis pela compra de produtos, levam em consideração no momento da compra o tamanho (tipo ou calibre), a coloração do fruto, a ausência de defeitos, durabilidade, embalagem e o °Brix do fruto.

A fim de quebrar paradigmas, o consumidor aos poucos vem buscando produtos fora dos padrões estabelecidos pelas grandes redes de comércio atacadista e varejista. De modo que cada vez mais vem ganhando espaço nos vários nichos de mercado, segmentos diferenciados, não estando aprisionado a um padrão de formato, cor, margem de tamanho ou massa média ideais (PRECZENHAK *et al.*, 2014).

As variedades tradicionais de tomateiro, apresentam características peculiares, pouco exploradas, mas que podem ser utilizadas no melhoramento genético. Possuem altos teores de compostos funcionais, como o ácido ascórbico, licopeno e  $\beta$ -caroteno (CORTÉS-OLMOS *et al.*, 2014). Além, de que quando comparadas às variedades comerciais são mais saborosas, com elevadas quantidades de compostos voláteis e sólidos solúveis (SS) (TIEMAN *et al.*, 2017). O teor de SS é um indicador que está atrelado a doçura do fruto. A composição do sabor do tomate é dada pela combinação dos teores de açúcares, ácidos livres e compostos orgânicos voláteis, assim, frutos mais saborosos podem também ser considerados mais nutritivos (GOFF *et al.*, 2006). Isso acontece, como por exemplo, com o MHO (*6-metil-5-hepten-2-ona*), volátil derivado da clivagem oxidativa do licopeno, que está presente no fruto de modo proporcional ao teor de licopeno e tem grande representatividade no sabor (VOGEL *et al.*, 2008; TIEMAN *et al.*, 2017).

Programas de melhoramento que visem materiais produtivos associados a qualidade do fruto, devem considerar esse parâmetro nas fases de caracterização e seleção de genitores (AGUIRRE CABRERA, 2012; FIGUEIREDO *et al.*, 2017).

Apesar do tomateiro ser visto como uma planta modelo, com um dos frutos carnosos mais estudados, cultivado em uma ampla gama de ambientes é considerada uma cultura que demanda muitos cuidados (SCHWARZ *et al.*, 2014). De modo que, a produção e a qualidade final dos frutos sofre grande influência das condições de manejo, clima e solo. Isso ocorre principalmente pela sua susceptibilidade a doenças e pragas e a sensibilidade aos estresses ambientais,

como elevadas temperaturas que causam o abortamento de flores, por exemplo (ALVARENGA *et al.*, 2013).

Desde a década de 90, estudos brasileiros visando o melhoramento genético do tomateiro vêm decaindo e as empresas multinacionais que atuam neste ramo vêm buscando apenas adaptar no Brasil os híbridos obtidos em outros países (MELO; VILELA, 2005). Além de que para a maioria das culturas, o melhoramento genético vem priorizando o desenvolvimento de variedades e híbridos voltados para o cultivo convencional. Alguns desses materiais quando implantados nos sistemas que utilizam uma menor carga de insumos, como os agroecológicos, podem sofrer com a falta de adaptação. Isso ocorre porque o avanço genético é realizado em um local fora daquele onde a planta será cultivada, com acesso à nutrientes prontamente disponíveis e sem competição com plantas espontâneas. Acarretando muitas vezes em materiais com sistema radicular reduzido e mais sensíveis aos estresses abióticos, quando comparados as variedades de herança (CHAPAGAIN *et al.*, 2014; IBЧEHKO *et al.*, 2015; NEWTON *et al.*, 2017).

Há uma grande carência de informações sobre o comportamento agrônomo das cultivares disponíveis, e de novas cultivares ainda em desenvolvimento pelos programas de melhoramento genético, conduzidas em sistema orgânico de produção (ARAUJO *et al.*, 2016). Uma nova cultivar é pensada pela maioria dos programas de melhoramento genéticos atuais como um negócio, onde não são levados em consideração os aspectos locais. Desta forma, produtos diferenciados e adaptados ao local de cultivo, podem vir a ser uma forma de diversificar a produção e aumentar a fonte de renda do agricultor familiar (BROUWER *et al.*, 2016).

A utilização de sementes de variedades de polinização aberta ou OP, é uma alternativa para os sistemas de cultivo de base agroecológica. Já que apresentam como características favoráveis, o menor custo inicial da semente e a possibilidade de reutilizá-la por vários anos agrícolas (BISOGNIN *et al.*, 1997). Ao avaliar a produtividade total de cultivares híbridas e de polinização aberta, Araújo *et al.* (2016) observou que a cultivar Santa Clara de polinização aberta produziu 56,7 t ha<sup>-1</sup>, ficando entre uma das cinco cultivares com maior produtividade, sob o sistema de produção orgânica, em ambiente aberto.

Os programas de melhoramento genético que tenham como objetivo a obtenção de uma cultivar/variedade OP devem levar em consideração na seleção de genótipos a adaptação desses ao agroecossistema local de produção, o nível de rendimento, resistência a doenças e a qualidade de fruto (BOYHAN *et al.*, 2014; MELO *et al.*, 2017). Para o sucesso desses programas Brouwer *et al.* (2016) destaca quatro aspectos que devem ser levados em consideração pelos melhoristas: (1) Seleção de uso final centralizado, em um sistema ou ambiente agrícola específico; (2) Desejo do consumidor; (3) Necessidade dos agricultores; e (4) Melhoramento participativo.

Programas de desenvolvimento de cultivares adaptadas ao sistema local de cultivo, que apresentem características aceitáveis tanto para produtores quanto para consumidores são de extrema relevância no cenário mundial atual. Como na África, onde programas participativos de desenvolvimento de hortaliças tradicionais contribuíram para o aumento do apoio do setor hortícola em relação à nutrição, segurança alimentar e geração de renda, principalmente de famílias rurais, periurbanas e urbanas mais pobres (DINSSA *et al.*, 2016).

A produção de tomate orgânico principalmente do tomate de mesa é uma excelente oportunidade de negócio, no entanto, encontrar cultivares adaptadas a esse sistema é considerado um desafio tanto para agricultores, como para os pesquisadores (MELO *et al.*, 2017).

## 2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE TOMATEIRO

Recurso genético é considerado o conjunto da variabilidade genética presente em espécies que fazem parte de determinada biodiversidade e despertam o interesse da sociedade nos âmbitos socioeconômico e ambiental (SACCARO, 2011). Nos bancos de germoplasma é onde boa parte dos recursos genéticos são preservados e podem ser propagados. A manutenção de coleções regionais em bancos de germoplasma é uma forma de se evitar a erosão genética, já que estes mantêm a identificação e descrição de cada item de amostra armazenada, as quais podem ser reintroduzidas ou usadas em programas de melhoramento genético (GONZALEZ-CEBRINO *et al.*, 2011).

A verificação da variabilidade e da existência de duplicatas em bancos de germoplasma é de suma importância para a conservação e a diminuição na redução de custos de manutenção dessas coleções (MARIM *et al.*, 2009). Com o interesse no seu valor agrícola, análises detalhadas da diversidade genética de inúmeras espécies de culturas são realizadas nessas coleções (MEYER *et al.*, 2012).

O genoma do tomate é mundialmente estudado e caracterizado, devido sua grande representatividade no mercado (ICHIHASHI; SINHA, 2014). Haja vista que em 31 de maio de 2012 foi publicado o sequenciamento de seu genoma, resultado de anos de trabalho de uma equipe multinacional de cientistas de 14 países (THE TOMATO GENOME CONSORTIUM *et al.*, 2012).

Estima-se que mais de 75.000 acessos de tomateiro sejam conservados em todo o mundo (NICK; BORÉM, 2016). Os bancos de germoplasma de maior relevância encontram-se nos Estados Unidos (EUA). Na Ásia o *Vegetable Reseach and Development Center* (AVDR), apresenta o maior número de acessos, após os bancos de germoplasmas dos EUA. No Brasil os principais bancos de germoplasma são o Banco Ativo de Germoplasma de Tomate da Embrapa Hortaliças (cerca de 1600 acessos de tomate) e o Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV (BGH – UFV) (900 acessos).

Trabalhos que objetivam fornecer dados para a conservação desses acessos em bancos de germoplasma, possibilitam a demonstração da variabilidade adquirida ao longo do tempo, durante a fase de evolução e adaptação as condições ambientais e de cultivo ao qual esses genótipos foram expostos (CORRADO *et al.*, 2013). Apesar da riqueza mantida pelos bancos de germoplasma, a maioria do tomate cultivado apresenta base genética estreita, e a partir da década de 40, cruzamentos com espécies selvagens foram realizados e novas características antes não expressas foram sendo acopladas às espécies cultivadas (BAI; LINDHOUT, 2007).

Com o objetivo de atingir novos consumidores, os novos programas de melhoramento buscam nos bancos de germoplasma, genótipos adaptados às condições edafoclimáticas regionais e com propriedades funcionais de fruto (KAUR *et al.*, 2013; PRECZENHAK *et al.*, 2014; KAVITHA *et al.*, 2014). Para que essa

identificação seja feita com sucesso, a caracterização dos acessos deve estar disponível ao pesquisador.

A falta de materiais adaptados ao sistema de cultivo orgânico estão entre um dos gargalos que impedem a expansão desse tipo de produção, de modo que o uso de sementes híbridas é considerado controverso e a adoção de variedades tradicionais em desuso e cultivares OP podem vir a ser identificadas como fontes de variabilidade (MELO *et al.*, 2017). A combinação de genótipos tradicionais de polinização aberta com linhas comerciais pode ser uma alternativa ao melhoramento, seja para obtenção de híbridos ou cultivares. Isso ocorre porque esses genótipos possuem alelos importantes que podem ser passados às gerações via cruzamentos combinados, que são definidos pelos melhoristas em estudos de herança com genótipos previamente caracterizados (MARTÍNEZ-VÁZQUEZ *et al.*, 2017).

Os materiais genéticos disponíveis podem ser caracterizados fenotipicamente através de descritores morfológicos (KARASAWA *et al.*, 2005) e genotipicamente por meio do uso de marcadores moleculares (PEREIRA *et al.*, 2009). Assim, a associação destes permite diferenciar genótipos morfológicamente diferentes, mas geneticamente análogos e o contrário também é observado. A caracterização realizada com base em descritores morfológicos possui relação direta com a adoção de estratégias de cruzamentos via formação de agrupamentos. Já a caracterização molecular é essencial quando pretende-se explorar uma caracterização mais detalhada do germoplasma (BHATTARAI *et al.*, 2016).

A utilização de descritores em um programa de melhoramento atua de forma a quantificar as características dos acessos avaliados, permitindo que o melhorista selecione seus potenciais genitores (KARASAWA *et al.*, 2005). As avaliações dos descritores morfológicos são baseadas na caracterização de fácil observação e mensuração, como em características botânicas de alta herdabilidade e de baixa influência do ambiente (VALLS, 1988). A caracterização realizada com base em descritores morfológicos como forma e tamanho de fruto, hábito de crescimento e os dias até a maturidade, apresentam relevância econômica para os programas de melhoramento genético de tomateiro, já que influenciam tomada de decisões (BHATTARAI *et al.*, 2016).

Para cada tipo de acesso há descritores específicos, que são padronizados e regulamentados internacionalmente pela organização *Bioversity International* (anterior *International Plant Genetic Resources Institute* – IPGRI), sendo que para o tomateiro existem 203 descritores IPGRI, (1996). No Brasil, para o lançamento de uma nova cultivar são necessárias diversas avaliações e com a documentação deve ser entregue um formulário com os dados dos descritores mínimos avaliados, esses são definidos de acordo com a espécie ou grupos de espécies do mesmo gênero (SANTOS; BETTENCOURT, 2001).

Ao avaliarem 70 acessos de tomateiro do BGH-UFV (Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa), Marim *et al.* (2009), puderam recomendar o cruzamento entre dois grupos de acessos avaliados, sendo um deles muito similar às cultivares comerciais e o outro com excelente qualidade de frutos. Concluíram que esses cruzamentos resultariam em aumentos de produtividade e qualidade dos frutos.

No trabalho de Costa *et al.* (2015) com 40 acessos de *Capsicum spp.* originárias de diferentes locais do Amazonas, comprovaram que a utilização de descritores morfológicos é eficiente na diferenciação de acessos de determinada coleção, pois, indica com base nas características quantitativas e qualitativas sua potencial utilização como genitores em futuros cruzamentos.

Para verificar a diversidade genética, os resultados das avaliações com descritores morfológicos podem passar por diversos métodos de análise multivariada, entre eles de dispersão gráfica, agrupamento e coeficientes de dissimilaridade e similaridade genética (COSTA *et al.*, 2015). Muitos dos trabalhos tratam separadamente as variáveis qualitativas das quantitativas, no entanto maior eficiência é obtida na análise simultânea, que permite maior conhecimento da divergência genética, como no método de Gower, por exemplo (ROCHA, 2010).

Já o uso de marcadores moleculares possibilita por meio da análise de DNA, sem a interferência ambiental determinar a diversidade, as relações genéticas existentes entre os progenitores a serem escolhidos, quais serão os cruzamentos mais vantajosos, além de permitir a observação dos genes introgrididos ao longo do processo de melhoramento (PEREIRA *et al.*, 2009). Os marcadores moleculares são àqueles que sinalizam o polimorfismo de sequência de ácido desoxirribonucleico,

atuando também na caracterização de recursos genéticos e atualmente são utilizados para genotipagem em larga escala (FERREIRA; RANGEL, 2005).

Vários são os marcadores moleculares existentes, no entanto os marcadores de microssatélites ou SSR estão entre um dos mais utilizados na investigação de variabilidade genética (LEAL *et al.*, 2010). São muito utilizados na gestão de germoplasma, por poderem também identificar a associação entre áreas codificadoras do genoma (IQUEBAL *et al.*, 2013). Ou ainda, pela utilização na rastreabilidade de produtos ao longo da cadeia produtiva, como na indústria de tomate para melhorar os programas de reprodução, controle de qualidade e rastreabilidade interna (SARDARO *et al.*, 2013).

Os Microssatélites são regiões dos genomas eucariotos, onde são encontradas sequências de um a seis nucleotídeos repetidos em tandem. Flanqueadas em sequências únicas de acordo com a espécie, de modo que com a seleção de iniciadores, através da técnica de PCR estes podem ser amplificados e identificados em gel de poliacrilamida e agarose (CAIXETA *et al.*, 2009). Essas regiões foram descobertas e desenvolvidas por Litt; Luty (1989) e por Edwards *et al.* (1991) em seres humanos e foram primeiramente aplicados a plantas por Akkaya *et al.* (1992).

Apresentam como vantagem o alto nível de polimorfismo, simplicidade, reprodutibilidade elevada e baixo custo, por outro lado a maioria dos marcadores desenvolvidos só servem para indivíduos da mesma espécie. De modo que a taxa de transferibilidade pode variar conforme a complexidade dos genomas e distância evolutiva existente entre as espécies, já seu desenvolvimento (quando inexistentes em bibliotecas genômicas) é um processo oneroso, pois requer tempo e reflete-se em maior custo (CAIXETA *et al.*, 2009).

Para o tomateiro, no início das pesquisas com marcadores SSR, o primeiro conjunto destes, era composto de 150, já em 2013 eram mais 2400 marcadores SSR disponíveis para a análise genética (LONG *et al.*, 2013). Esses marcadores podem ser encontrados em bases de dados disponíveis a população, como na *Tomato Microsatellite database* (TOMSatdb) (IQUEBAL *et al.*, 2013) e *Tomato Genomic Resource Database* (TGRD) (SURESH *et al.*, 2014), ambas

específicas para o tomateiro e mais recentemente na PMDBase, que engloba uma série de plantas (YU, *et al.*, 2017).

Em tomateiro, diversos estudos utilizam os SSRs. Na identificação de genótipos resistentes a doenças, como no trabalho de Nogueira *et al.* (2011), onde puderam observar através da presença do alelo *Ty* a resistência ao Begomovirus. Nas análises de diversidade e caracterização genética de tomateiro como no de Ranc *et al.* (2008), que utilizaram um conjunto de 20 marcadores SSR no levantamento da diversidade genética presente em uma amostra de 360 acessos de tomateiros cultivados e silvestres, identificaram que a forma domesticada de *S. lycopersicum* apresentava baixa diversidade molecular.

Na Itália, sementes crioulas e de tomates longa vida mantidas em coleções de germoplasmas foram avaliadas por Mercati *et al.* (2014) utilizando marcadores SSR, os quais constataram uma baixa variação intravarietal e uma maior variabilidade intervarietal, possibilitando com o estudo a divisão das sementes em quatro grupos, no qual um deles é passível de características de interesse agrônômico para o melhoramento genético.

Os trabalhos envolvendo a caracterização por meio marcadores moleculares SSR no tomateiro podem ser utilizados tanto isolados (NAIR *et al.*, 2017; VELPULA *et al.*, 2017) quanto em conjunto com os morfológicos (KHAPTE; JANSIRANI, 2014; MERCATI *et al.*, 2014; ISLAM *et al.*, 2016; CHIME *et al.*, 2017; KUMAR *et al.* 2017).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Caracterizar a variabilidade morfológica e molecular de genótipos de tomateiro de polinização aberta, por meio de descritores morfológicos e marcadores moleculares SSR.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Analisar a variabilidade morfológica quantitativa e qualitativa de genótipos de tomateiro de polinização aberta;
  - Avaliar os caracteres de qualidade dos frutos destes genótipos;
  - Realizar avaliações visuais da intensidade de doenças e do ataque de insetos praga ocorrentes ao longo do ciclo de cultivo do tomateiro por meio de chaves descritivas;
- Analisar a variabilidade genética dos genótipos de tomateiro de polinização aberta e uma cultivar híbrida, utilizando marcadores moleculares Microssatélites (SSR);
  - Iniciar as atividades do Banco Ativo de Germoplasma de Tomateiro da UTFPR – Câmpus Pato Branco;
  - Observar o comportamento dos genótipos de tomateiro de polinização aberta no cultivo em campo, frente a adoção de práticas agroecológicas.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em duas etapas, onde foram utilizados 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta de mesa, oriundas do BAGT – UTFPR Pato Branco (UTFPR\_008, UTFPR\_013, UTFPR\_014, UTFPR\_015, UTFPR\_016, UTFPR\_021, UTFPR\_028, UTFPR\_029, UTFPR\_030, UTFPR\_031, UTFPR\_033, UTFPR\_037, UTFPR\_038, UTFPR\_040, UTFPR\_046, UTFPR\_115 e UTFPR\_117), duas variedades comerciais já consolidadas no mercado como sendo de polinização aberta ('Santa Clara' e 'Gaúcho') e uma cultivar híbrida (Alambra®) para fins de comparações moleculares. Os materiais comerciais foram escolhidos devido a sua conhecida utilização pelos agricultores agroecológicos da região sudoeste do Paraná.

A primeira etapa consistiu da caracterização morfológica quantitativa e qualitativa dos genótipos do tomateiro por meio de descritores morfológicos essenciais, altamente discriminantes, padronizados internacionalmente pelo antigo *International Plant Genetic Resource Institute* (IPGRI, 1996), órgão da FAO, atualmente denominado de Biodiversity International. Além, da inclusão de avaliações de doenças e pragas e de caracteres de qualidade de frutos, obtidas através de outras metodologias de análises físico-químicas. Na segunda parte, os genótipos foram caracterizados geneticamente por meio de marcadores moleculares microssatélites (SSR).

Paralelo às caracterizações dos genótipos foi realizada a coleta de sementes para a montagem e regeneração do BAGT UTFPR – Pato Branco. O processo foi adaptado de Silva *et al.* (2009) e contou com a retirada das sementes dos frutos (não utilizados em avaliações, totalmente maduros, oriundos de plantas livres de viroses), fermentação em sua própria polpa por 24 horas, posterior lavagem em água corrente, secagem à sombra em folhas de jornal, identificação e armazenamento em câmara fria em sacos plásticos zipados (Figura 1).



**Figura 1** – Processamento de sementes para formação do BAGT da UTFPR – PB. (A) Fermentação; (B) Secagem; (C) Acondicionamento das sementes para armazenagem. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

## 4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

### 4.1.1 Condições Experimentais

O experimento para realização das análises morfoagronômicas foi conduzido em um ciclo de cultivo, sob manejo orgânico, na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A área está localizada à 26° 06' 59" S e 52° 40' 59" W em uma altitude de 760 m. A região apresenta clima subtropical úmido mesotérmico (CAVIGLIONE *et al.*, 2000). O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico (EMBRAPA, 2006), com características químicas na camada de 0 a 0,20 m de: pH em CaCl<sub>2</sub> = 5,4; P (Mehlich<sup>-1</sup>) = 3,28 mg dm<sup>-3</sup>; K, Ca, Mg, H+Al, SB, CTC = 0,18, 5,40, 2,10, 4,61, 7,68, 12,29 cmolc dm<sup>-3</sup>, respectivamente; V = 62,49% e MO = 37,53 g dm<sup>-3</sup>.

Foram utilizados 19 genótipos de tomateiro de polinização aberta: UTFPR\_008, UTFPR\_013, UTFPR\_014, UTFPR\_015, UTFPR\_016, UTFPR\_021, UTFPR\_028, UTFPR\_029, UTFPR\_030, UTFPR\_031, UTFPR\_033, UTFPR\_037, UTFPR\_038, UTFPR\_040, UTFPR\_046, UTFPR\_115, UTFPR\_117, Santa Clara (SC) e Gaúcho (GA).

O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, com dez plantas por parcelas em quatro blocos, além das linhas de bordadura, totalizando 924 plantas, conduzidas no espaçamento de 1,2 m entre linhas e 0,6 m entre plantas.

A semeadura dos genótipos ocorreu no dia 23 de agosto de 2016, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, contendo substrato comercial. As bandejas foram alocadas e mantidas em ambiente protegido por 48 dias, com irrigação via microaspersão até a data de transplante no campo, quando atingiram três folhas verdadeiras.

A área foi previamente preparada, com a realização da calagem (2,24 t ha<sup>-1</sup> do calcário calcítico Calfort®) e as adubações foram baseadas na análise química do solo e na necessidade da cultura do tomateiro (CQFS-RS/SC, 2016). A cobertura de solo utilizada foi a *Avena sativa* L., manejada com cerca de um metro de altura, em oito de setembro com o auxílio de um triturador de palha. Para a geração de barreira vegetal, se utilizou o capim-Sudão.

Para a marcação da linha de plantio foram utilizadas duas hastes sulcadoras. No sulco, foi realizada a adubação de pré plantio com 1,2 kg por metro linear do fertilizante orgânico Terraplant® (pH= 8, MS= 80%, N= 2,56%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>= 4,12% e K<sub>2</sub>O= 3,31%) a base de cama de aviário, seguida de incorporação. Posteriormente a adubação de base, foi instalado o sistema de tutoramento vertical com fitilhos e condução do tomateiro com duas hastes. Nesse sistema, uma vez por semana era realizada a desbrota manual dos brotos com o auxílio de uma tesoura de poda previamente esterilizada em álcool 70% e a capação foi executada quando a planta atingira a altura máxima do tutor de 2,0 m.

O sistema de irrigação utilizado foi o localizado, por meio de fita gotejadora espaçadas de 20 em 20 cm, onde a frequência de irrigação adotada foi a visual, de acordo com a necessidade da cultura e as condições ambientais. Normalmente o sistema era ligado uma vez ao dia por cerca de 15 minutos.

No dia do transplante, ocorrido na data de 10 de outubro de 2016, junto ao berço das mudas incorporou-se 81 g de Yoorin Master®. As adubações de cobertura foram realizadas quinzenalmente ao redor do colo da planta, com 211 g por planta do fertilizante orgânico Terraplant®.

Para o manejo de plantas espontâneas presentes na área, foram feitas capinas manuais até que as mudas se estabelecessem sem competição. Posteriormente realizou-se o mulching da área através de cobertura morta com palhada de aveia, facilitando o manejo de todo o cultivo, além da manutenção da umidade do solo.

Adotando-se escalas de pulverização preventivas, foram utilizados alguns produtos liberados para o cultivo orgânico. Como agente inseticida foi aplicado o óleo de Nim (*Azadiracta indica* A. Juss). Para as pragas, como lagartas e insetos no geral, foram utilizados produtos contendo agentes de controle biológico, como o Turin Organo+® à base do *Bacillus thuringiensis* e o Beauveril® (*Bauveria bassiana*), respectivamente. A fim de se obter efeito nutricional e de controle de doenças utilizou-se Bordasul® e Supera®, ambos produtos comerciais a base de cobre. Para a prevenção de danos fisiológicos, foram realizadas pulverizações foliares de 1 g<sup>-1</sup> de ácido bórico dissolvido em água, aplicados antes das mudas irem para o campo e aos 50 e dias após o transplante no campo.

As pulverizações iniciaram no mês de agosto indo até o fim do mês de janeiro, sendo a frequência e a dosagem seguidas de acordo com a recomendação dos produtos e a incidência de pragas e/ou doenças. Devido a alta incidência de vaquinha (*Diabrotica speciosa*) foram confeccionadas armadilhas de tajuja (*Cayaponia tayuya*) e a instalação na área mais desprotegida do experimento de uma barreira física lateral, com dupla tela do tipo sombrite 30% preta estendida a três metros de altura. Além destas tentativas, as vaquinhas capturadas pelas armadilhas foram moídas, fermentadas por 24 horas, diluídas na proporção de 1000 insetos por litro de água, e pulverizadas nas plantas de tomate.

#### 4.1.2 Análises de Caracteres de Qualidade de Fruto

A variabilidade dos genótipos foi mensurada com base em 15 caracteres de qualidade de fruto, que incluíram avaliações de dados quantitativos, seguindo os descritores para o tomateiro (IPGRI, 1996) e outras metodologias de análises físico-químicos de frutos. As avaliações foram realizadas de acordo com o delineamento experimental do campo.

Os frutos foram coletados separadamente, quando estavam maduros, sendo um fruto por planta, de três plantas de cada parcela, dando preferência para o terceiro fruto do terceiro ou segundo cacho. Em todos os frutos, foram avaliados:

a) Comprimento do fruto (CF) e Diâmetro do fruto (DF): dados em mm, mensuradas com o auxílio de um paquímetro digital na posição do fruto em que resultava a maior medida;

b) Diâmetro da cicatriz do pedicelo do fruto (DCPF): dado em mm, mensuradas com o auxílio de um paquímetro digital, de uma borda externa da cicatriz até a outra;

c) Massa do fruto (MF): em g, cada fruto pesado individualmente em balança digital;

d) Parâmetros de coloração ( $L^*$ ;  $a^*$ ;  $b^*$ ;  $C^*$  e  $h$ ): foram estimados com o auxílio de um colorímetro CR-400, calibrado no sistema  $L^* a^* b^*$ , pelo método Cielab. As leituras foram realizadas em três pontos diferentes da região equatorial do fruto, para posterior cálculo da média.

e) Firmeza de fruto (FF): Utilizou-se um texturômetro eletrônico, modelo TAXT – Express®, com ponteira de 3 mm de diâmetro, introduzida a uma profundidade de 5 mm em lados opostos ao diâmetro equatorial do fruto com casca, com velocidades pré-teste, teste e pós-teste de 10, 5 e 10 mm s<sup>-1</sup>, respectivamente. Os resultados foram expressos em Newton.

f) Número de lóculos (NL): O fruto foi cortado ao meio no sentido transversal com o auxílio de um estilete para contagem do número de lóculos;

Após a abertura dos frutos, estes foram devidamente separados e imediatamente congelados com as sementes em freezer a -18°C. As amostras foram descongeladas e trituradas com o auxílio de um mixer doméstico até a obtenção de uma polpa homogênea, para a realização das análises seguintes:

g) pH: Com o auxílio de um potenciômetro modelo MA522®, sendo o resultado expresso em unidades de pH, diretamente na polpa de tomate triturada.

h) Sólidos Solúveis (SS): Mensurados por refratometria, onde a polpa foi analisada em refratômetro digital portátil (modelo PALM-1 Pocket®), sendo os valores expressos em °Brix.

i) Acidez Total Titulável (ATT): determinada pelo método de volumetria potenciométrica, as amostras foram tituladas com NaOH a 0,1 mol/L, até pH 8,2 e os resultados expressos em g de ácido cítrico/100 g de polpa, seguindo a metodologia do IAL, (2008);

j) Relação Sólidos Solúveis/Acidez Total Titulável (SS/ATT): obtida pela razão entre os teores de sólidos solúveis e de acidez total titulável.

#### 4.1.3 Análises de Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Planta

A variabilidade dos genótipos foi mensurada com base em 12 caracteres qualitativos e quantitativos de planta, que incluíram os descritores citados como componentes principais propostos pelo IPGRI (1996), além de três avaliações visuais da intensidade de doenças e do ataque de insetos praga, ocorrentes ao longo do ciclo de cultivo do tomateiro.

As avaliações foram realizadas em várias fases de desenvolvimento da planta, onde o número de plantas observadas foram de três por parcela. Os descritores qualitativos e quantitativos avaliados foram:

a) Tipo de inflorescência (TI): Geralmente unípara, geralmente múltipara ou ambos (parcialmente unípara e parcialmente múltipara), essas características foram observadas no segundo cacho.

b) Hábito de crescimento (HC): Anão, determinado ou indeterminado;

c) Densidade da folhagem (DH): Escassa, intermediária ou densa;

d) Número de flores do segundo cacho (NFSC): Contagem do número de flores por inflorescência do segundo cacho;

e) Número de dias para abertura da primeira flor após a semeadura (NDAPFS) e após o transplante (NDAPFT): Contagem diária do número de dias até a abertura da primeira flor na planta;

f) Número de dias para maturação do primeiro fruto após a semeadura (NDMPFS) e após o transplante (NDMPFT): Contagem diária do número de dias até o amadurecimento do primeiro fruto na planta;

g) Comprimento do pedicelo (CP): em mm mensurado no terceiro fruto do terceiro cacho a partir da abscisão, com o auxílio de um paquímetro digital.

Adicionalmente à caracterização de planta, ainda foram englobadas avaliações adaptadas do IPGRI (1996) para estimar o aparecimento de eventuais pragas e doenças, através de medições visuais de intensidade, por meio de chaves descritivas. As observações de doença ou inseto praga ocorrente foram feitas na planta inteira. Nas datas de 13 de dezembro de 2016 foram realizadas as avaliações para a vaquinha (*Diabrotica speciosa*) e mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) e no final do ciclo do tomateiro, em 23 de janeiro de 2017 avaliou-se a Septoriose (*Septoria lycopersici*), conforme:

h) Vaquinha (*Diabrotica speciosa*) (DIA): Muito baixa (sem sinais visíveis), baixa, intermediário, alta ou muito alta;

i) Septoriose (*Septoria lycopersici*) (SEP): Muito baixa (sem sinais visíveis), baixa, intermediário, alta ou muito alta;

j) Mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*)(XAN): Muito baixa, baixa, intermediário, alta ou muito alta.

#### 4.1.4 Análises de Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Fruto

Para melhor discriminação dos resultados, a variabilidade dos genótipos também foi mensurada através do somatório dos 15 caracteres de fruto do subitem 4.1.2 e mais 14 descritores qualitativos citados como componentes principais de fruto propostos pelo IPGRI (1996), totalizando 29 avaliações.

Os caracteres qualitativos de fruto, foram analisados um fruto do terceiro ou segundo cacho de uma planta, sendo avaliadas três plantas na parcela, sendo mensurados:

a) Cor exterior do fruto antes da maturação (CEFAM): Branco esverdeado; verde claro; verde; Verde escuro ou verde muito escuro;

b) Homogeneidade de tamanho de fruto (HTF): Pouco variável, mediamente variável ou muito variável;

c) Ombro verde (OV): Ausente ou presente;

- d) Forma predominante do fruto (FPF): Achatado; ligeiramente achatado; redondo; redondo alongado; cordiforme); cilíndrico; periforme; elipsóide ou outro;
- e) Cor exterior do fruto maduro (CEFM): Verde, amarelo, laranja, rosa, vermelho, outro ou mesclado;
- f) Costela no final do cálice (CFC): Muito ligeiro, ligeiro, intermediário ou forte;
- g) Tamanho da cicatriz do pedicelo (TCP): Pequena coberta pelo cálice, média, envolta do cálice ou grande;
- f) Cor da pele (CPF): Incolor ou amarela;
- i) Cor interna do pericarpo (CIPF): Verde, amarelo, laranja, rosa, vermelho, outro ou mesclado;
- j) Forma do corte transversal (FCTF): Redonda, angular ou irregular;
- k) Forma da cicatriz do pistilo (FCP): Ponteadada, estrelada, linear ou irregular;
- l) Forma terminal da floração (FTFF): Recuada, plana ou pontiaguda;
- m) Rachadura radial no fruto (RRF): Linhas sem depressão, ligeiro, intermediário ou grave;
- n) Rachadura concêntrica no fruto (RCF): Linhas sem depressão, ligeiro, intermediário ou grave.

#### 4.1.5 Análises de Caracteres Qualitativos e Quantitativos Gerais

Também foi realizada a análise conjunta de todos os caracteres avaliados (subitens 4.1.3 e 4.1.4) a fim de averiguar a variabilidade existente entre os genótipos. Desse modo, a análise dos caracteres qualitativos e quantitativos gerais foi baseada na somatória de 41 variáveis.

#### 4.1.6 Análises Estatísticas

Para melhor discriminação dos resultados as análises estatísticas dos dados morfológicas foram divididas em duas partes. Na primeira foram avaliados os resultados dos caracteres de qualidade de frutos, formados por 15 variáveis quantitativas. Onde os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, para o agrupamento das médias entre os genótipos foi utilizado o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Adicionalmente, foi realizada análise multivariada baseada na distância ( $D^2$ ) de Mahalanobis, e a importância relativa dos caracteres foi estimada por meio da participação dos componentes relativos a cada caractere no total da dissimilaridade observada utilizando o critério de Singh (1981). Através da matriz obtida pela análise da distância generalizada de Mahalanobis, a análise de agrupamento foi realizada com o grupo original de caracteres levando em consideração a técnica de otimização proposta por Tocher (RAO, 1952).

Na segunda etapa, foram analisados os caracteres quantitativos e qualitativos de planta, composto por 12 variáveis, de fruto com 29 variáveis (somatória dos 15 caracteres da etapa 1 e o restante de dados qualitativos de fruto) e gerais compostos por 41 caracteres (somatória de todos os caracteres avaliados). Uma análise conjunta dos dados qualitativos e quantitativos foi realizada para determinação da distância genética, com base no algoritmo de Gower (1971). Os agrupamentos dos genótipos foram obtidos pelos métodos de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average*). A validação dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenética (SOKAL; ROHLF, 1962), através do teste de Mantel com 1000 permutas (MANTEL, 1967).

Os programas estatísticos utilizados foram GENES (CRUZ, 2013) para ANOVA, o teste de Scott-Knott, o cálculo da importância relativa dos caracteres, agrupamento pelo método de otimização de Tocher, cálculo da distância de Mahalanobis e para a análise de distância genética, com base no algoritmo de Gower (1971). O programa NTSYS-PC (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System for personal computers, Version 2.1, Applied Biostatistics, Inc.*) (ROHLF, 2007) foi utilizado para as análises de agrupamentos (UPGMA),

construção dos dendrogramas e verificação do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma (correlação cofenética).

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

### 4.2.1 Obtenção do Material Vegetal

Em primeiro de abril de 2017 foram semeadas 30 sementes do híbrido Alambra® (AL) e os 18 genótipos cultivados no experimento anterior, exceto o material UTFPR\_013 que quando conduzido a campo foi detectado como genótipo com provável mistura de sementes. A semeadura foi realizada em bandejas de 200 células em substrato comercial, na casa de vegetação da UTFPR – Câmpus Pato Branco.

A irrigação das bandejas ocorreu por meio de microaspersão até as plântulas atingirem a formação do primeiro par de folhas verdadeiras. Neste ponto, as amostras foram coletadas procedendo-se do corte da parte aérea de 20 indivíduos de cada genótipo, que foram alocadas em conjunto, em envelopes de alumínio identificados e imediatamente congelados em nitrogênio líquido para posterior armazenamento em ultrafreezer à - 80°C até a extração do DNA.

### 4.2.2 Escolha dos Iniciadores

Os iniciadores foram escolhidos de acordo com a literatura e banco de dados. Os 10 primeiros pares de iniciadores SSR iniciadores (Tabela 1) utilizados para a amplificação do DNA foram escolhidos com base nos níveis de polimorfismo observados em trabalhos anteriores (HE *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2011; SARDARO *et al.*, 2013; MERCATI *et al.*, 2014). Os demais iniciadores foram selecionados na base de dados *Tomato Genomic Resource Database* (TGRD) (SURESH *et al.*, 2014), a seleção levou em consideração a distribuição, onde foi escolhido um par de iniciadores para cada cromossomo do tomateiro. Levou-se em

consideração a discriminação de vários fatores para a sua escolha, desde a complexidade do motivo SSR, o número de vezes que este se repete no genoma e a sua posição no cromossomo.

**Tabela 1** – Iniciadores SSR utilizados para análise da dissimilaridade genética em genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) UTFPR, Pato Branco – PR, 2017.

Iniciadores	SSR ID	Sequência	Tm
1	SSR450_Forward	CAATGCGTTACATCTTGCCA	53.8
	SSR450_Reverse	ACATGAGCCCAATGAACCTC	55.1
2	SSR248_Forward	GCATTCGCTGTAGCTCGTTT	55.9
	SSR248_Reverse	GGGAGCTTCATCATAGTAACG	52.7
3	SSR13_Forward	GGGTCACATACACTCATACTAAGGA	55.5
	SSR13_Reverse	CAAATCGCGACATGTGTAAGA	53.3
4	SSR19_Forward	CCGTTACCTTGGTCCATCAC	55.5
	SSR19_Reverse	GGGAGATGCCACATCACATA	54.4
5	SSR63_Forward	CCACAAACAATTCCATCTCA	50.6
	SSR63_Reverse	CTTCCGCCATACTGATACG	52.6
6	SSR47_Forward	TCCTCAAGAAATGAAGCTCTGA	53.7
	SSR47_Reverse	CCTTGGAGATAACAACCACAA	52.6
7	SSR50_Forward	CCGTGACCCTCTTTACAAGC	55.7
	SSR50_Reverse	TTGCTTTCTTCTTCGCCATT	52.9
8	SSR65_Forward	GGCAGGAGATTGGTTGCTTA	55.1
	SSR65_Reverse	TTCCTCCTGTTTCATGCATTC	53.2
9	SSR111_Forward	TTCTTCCCTTCCATCAGTTCT	53.3
	SSR111_Reverse	TTTGCTGCTATACTGCTGACA	54.3
10	SSR603_Forward	GAAGGGACAATTCACAGAGTTTG	54
	SSR603_Reverse	CCTTCAACTTCACCACCACC	56
11	Chr-01-5681_Forward	CAATGCGTTACATCTTGCCA	53.8
	Chr-01-5681_Reverse	GGGCATAGGGTTCCTGTCTT	56.8
12	Chr-02-1353_Forward	TCAATTCGGCCACCTCTAC	54.8
	Chr-02-1353_Reverse	GCTATGGAGAGCAATTATGCAA	53.2
13	Chr-03-1717_Forward	TTTTTATAAATCAATGTCTCACGC	50.2
	Chr-03-1717_Reverse	AATAAATATTATGGACGAATGGAGT	50.8
14	Chr-04-1652_Forward	GGGAAATCGTGTATCCCAAG	53.1
	Chr-04-1652_Reverse	TCTTCGATGCTCTCCTCGAT	55.2

15	Chr-05-3867_Forward	CCTTATGGCCAACTAGTGCAA	55.2
	Chr-05-3867_Reverse	GCGTGTTACTGGAGGTTGTG	56.2
16	Chr-06-3500_Forward	TACTCTTTCCGGCGTGTTTT	54.6
	Chr-06-3500_Reverse	GGATGGGACCTATTTCCGTC	54.9
17	Chr-07-4485_Forward	AAAGTTGAACACCCTTGCCA	55.2
	Chr-07-4485_Reverse	AAAGCCAGAAGTTCGTGTCC	55.4
18	Chr-08-1484_Forward	TTCAGTTGCAAAGGCAAAA	51.6
	Chr-08-1484_Reverse	TTTCACTGAGCCTGTAGGGG	56.6
19	Chr-09-4241_Forward	AAGAAGAAGATTCCCCCTCG	54
	Chr-09-4241_Reverse	CCATTACCCGCAAATTTATAAGAG	52.1
20	Chr-10-1451_Forward	GGCCTCAAATTCGAAACCTA	52.7
	Chr-10-1451_Reverse	GTTTAGGGCTAGGGCTAGGG	56.8
21	Chr-11-1588_Forward	ATAAAGGGGCAAATGCAACA	53.1
	Chr-11-1588_Reverse	TCCTACTGCTCCTCGTCCTC	57.8
22	Chr-12-1593_Forward	TTCAAAGTGCAGACTGTAAATGG	53.6
	Chr-12-1593_Reverse	TCTTGAGCCATTTCTCTCCC	54.3

T<sub>m</sub>: temperatura de *melting* do primer em graus Celsius.

As sequências selecionadas foram sintetizadas artificialmente (Tabela 1). Após aquisição dos oligonucleotídeos, os iniciadores passaram por processo de eluição conforme indicação do fabricante (100 µM) e posterior diluição para formação de uma solução de trabalho a 10 µM em Tris-EDTA, pH 8,0 do DNA.

A informatividade dos iniciadores de microssatélites foi medida com base no conteúdo de informação de polimorfismo PIC (*Polymorphic information Content*), segundo Botstein et al. (1980).

#### 4.2.3 Extração, Integridade e Quantificação de DNA

As amostras do material vegetal congelado foram maceradas em nitrogênio líquido e a extração do DNA genômico procedeu-se seguindo o método do CTAB descrito por Doyle; Doyle (1990) com modificações. Após a extração, o precipitado de DNA foi ressuspenso em tampão Tris-EDTA, pH 8,0 e verificada sua qualidade/integridade em gel de agarose 0,8% corado com GelRed (Biotium),

visualizado em transluminador sob luz ultravioleta e fotografado em equipamento de fotodocumentação.

Espectrofotometricamente por leitura de absorbância e da relação 260/280 nm foi determinada a quantidade DNA. Com base nesses resultados de quantificação, as amostras foram diluídas em Tris-EDTA, pH 8,0, para que a concentração final de DNA da solução de trabalho esteja padronizada à 100 ng/μL e possa ser utilizado na reação de PCR (reação em cadeia da DNA polimerase).

#### 4.2.4 Reação de PCR

A amplificação do DNA utilizando os iniciadores SSR foi realizada com volume final de reação de 12,5 μL, constituído de: 1,25 μL de Tampão de reação 10X; 0,625 μL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM; 0,25 μL do dNTPs mix (dATP, dTTP, dGTP e dCTP) 10 mM; 0,5 μL dos iniciadores SSR (*forward* e *reverse*) 100 mM; 0,125 μL de *Taq DNA polimerase* 5 U/μL; 1,25 μL de DNA extraído 100 ng/μL e 8,5 μL de água ultrapura autoclavada congelada.

As amostras foram levadas a um termocilador seguindo as seguintes condições de amplificação: Etapa inicial de 2 minutos a 94 °C, seguida de 35 ciclos de 45 segundos a 94 °C, 1 minuto a temperatura de anelamento de acordo com o primer utilizado (3 °C abaixo da T<sub>m</sub>) e 1 minuto a 72 °C. Por fim, uma etapa de 10 minutos a 72 °C.

#### 4.2.5 Eletroforese

Os produtos de amplificação foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,8% a 80 V usando corante fluorescente *Blue Green loading dye I* (LGC *Biotecnologia*). Para determinação do tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado o marcador de peso molecular de 100 pb e 50 pb (*Ludwig Biotecnologia Ltda*).

O resultado da eletroforese foi visualizado em transluminador sob luz UV e fotodocumentado por sistema de captura digital. A partir desta análise, os

iniciadores foram classificados em presença (1) e ausência (0) de bandas nos genótipos, gerando uma matriz de dados binários.

#### 4.2.6 Análise de Dados

As análises estatísticas foram realizadas somente com aqueles iniciadores cujos produtos de amplificação (bandas) possuíram um padrão de resolução visível de qualidade. Com base nas bandas geradas de cada iniciador foi construída uma matriz binária e para a análise de similaridade genética com base na matriz de similaridade, utilizando o coeficiente de Dice (DICE, 1945), foi construído um dendrograma por meio do método de agrupamento UPGMA.

Para a verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o dendrograma, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética conforme Sokal; Rohlf, (1962). Para estimar o grau de correlação da matriz de similaridade obtida foi realizado teste de Mantel com 1000 permutas (MANTEL, 1967).

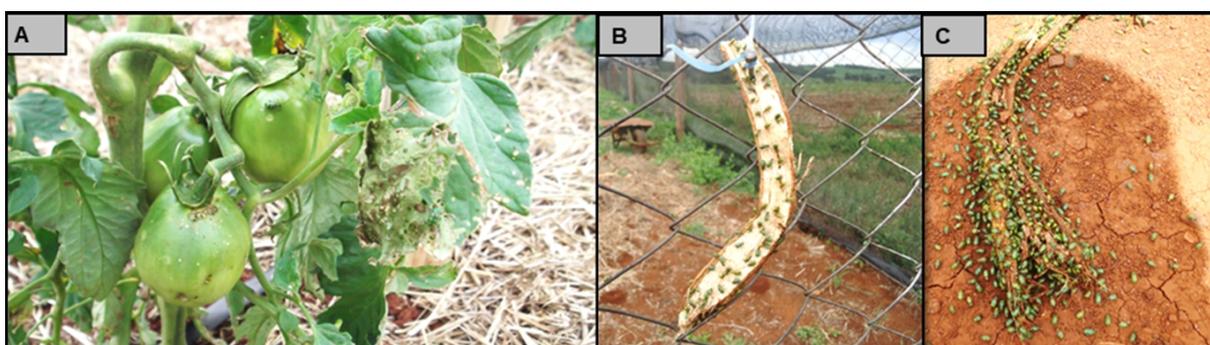
A similaridade entre os genótipos foi analisada utilizando o software NTSYS-PC (ROHLF, 2007).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Além da caracterização morfológica e molecular, o experimento foi conduzido também com o propósito de avaliar o desempenho agrônômico dos genótipos. No entanto, as avaliações foram encerradas depois da quinta colheita, haja vista a ocorrência de ataques severos de vaquinha (*Diabrotica speciosa*), que acarretaram em danos severos nas folhas, flores e principalmente nos frutos de tomateiro.

A alta incidência dessa praga pode estar atrelada a diversos fatores como: a) a época de condução do experimento coincidiu com o vazio sanitário da soja, fazendo com que a praga tivesse que se deslocar para fontes alternativas de alimentação; b) o ambiente em que se realizou o experimento não encontrava-se em equilíbrio ecológico e c) o experimento era delimitado por outros projetos conduzidos de forma convencional com aplicações de agroquímicos.

Desse modo, por mais que fossem adotadas medidas de controle alternativas, como pulverizações de caldas, utilização de armadilhas de tajuá e instalação de uma barreira física lateral (Figura 2), a pressão populacional da praga foi grande ao ponto do controle não ser efetivo.

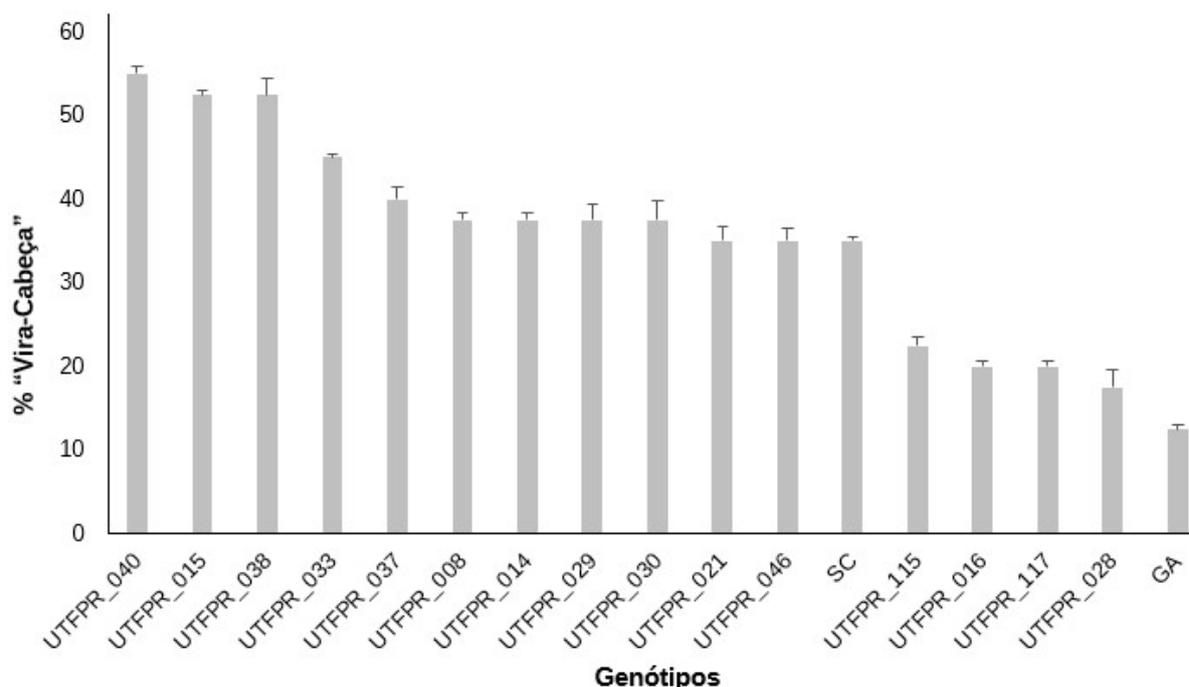


**Figura 2** – Controle alternativo de vaquinha (*Diabrotica speciosa*). (A) Planta de tomate com ataque inicial; (B) Isca atrativa de tajuá e barreira física; (C) Alta infestação de vaquinhas atraídas pela isca de tajuá (*Cayaponia tayuya*). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Outro problema que influenciou na condução do experimento foi a alta incidência do vírus “vira-cabeça”, complexo viral – tospovírus (gênero *Tospovirus*; família *Bunyaviridae*), cujo principal agente vetor é a tripes (*Frankliniella schulzei*) (LIMA; MICHEREFF FILHO, 2015). Como medidas de controle e prevenção, foram adotados o “roguing”, a esterilização das ferramentas de desbrote e poda com álcool 70% e pulverizações com inseticida natural (nim). Apesar de se terem sido adotadas

essas medidas e poucos tenham sido os insetos vetores observados no campo, a incidência dessa virose levou à perda de 35 % do total de plantas de tomateiro no experimento.

O genótipo UTFPR\_031 teve que ser descartado das análises morfológicas, haja vista que restaram na parcela menos de três plantas (número mínimo para a realização das avaliações). Com base nos 17 genótipos restantes, o genótipo que apresentou maior número de plantas descartadas foi o UTFPR\_040 e o menor foi a variedade comercial GA, com perdas médias de 55% e 12,5%, respectivamente (Figura 3).



**Figura 3** – Porcentagem média de genótipos descartados com sintomas da virose “vira-cabeça”. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Esses resultados podem ser um indicativo de susceptibilidade ou maior tolerância dos genótipos a esta virose. No entanto, estudos mais específicos de identificação do vírus incidente e trabalhos de verificação da resposta desses genótipos frente ao “vira-cabeça”, devem ser realizados para mais precisas conclusões.

O cultivo orgânico de tomate realizado a campo, sob condições que possam tornar a planta mais suscetível às pragas, doenças e intempéries climáticas, podem obter uma maior taxa de frutos não comercializáveis maior que o cultivo convencional em ambiente protegido (ARAUJO *et al.*, 2016). Desse modo, quando

se pretende desenvolver materiais que tolerem esses intemperes nos cultivos de base agroecológica, é importante que a pesquisa se disponha a instalar e conduzir seus ensaios em condições reais de cultivo, como no caso deste trabalho.

O genótipo UTFPR\_013 também teve que ser descartado, tanto das análises de caracterização morfológicas quanto da molecular. Essa medida foi necessária por perceber-se mistura de sementes, devido a identificação no campo de plantas de tomate do tipo cereja em conjunto na mesma parcela do UTFPR\_013.

## 5.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

### 5.1.1 Caracteres de Qualidade de Frutos

Os caracteres de qualidade de frutos com maiores contribuições relativas para a avaliação da diversidade dos genótipos no presente trabalho, segundo o método de Singh (1981), contribuíram juntos com 76,44% da variabilidade encontrada. Com destaque para o descritor cromático  $b^*$  (44,43%), que representa o grau da cor amarela ( $b^{*+}$ ) até o grau da cor azul ( $b^{*-}$ ). Seguido do diâmetro da cicatriz do pedicelo do fruto (DCPF), número de lóculos (NL), comprimento do fruto em mm (CF) e o descritor acromático  $L^*$ , com 16,78%, 8,02% e 7,21%, respectivamente (Tabela 2). O descritor  $L^*$  determina a luminosidade do fruto, quanto maior o valor de  $L^*$  mais clara é a amostra e quanto menor mais escura.

Os parâmetros de coloração  $C^*$  e  $h^\circ$ , contribuíram com 0% e 2,19%, respectivamente, para diversidade. Apesar da baixa contribuição, o Chroma ( $C^*$ ) expressa a relação entre  $a^*$  e  $b^*$ , ou seja a saturação da cor. O Ângulo Hue ( $h^\circ$ ) representa a tonalidade, de modo que a angulação mais perto de  $0^\circ$  demonstra uma coloração avermelhada mais pura (ARIAS *et al.*, 2000). Dentre todos os materiais estudados o genótipo UTFPR\_046, apresentou o menor valor médio de  $h^*$  (38,16), o qual era visivelmente o fruto com vermelho mais forte. Desse modo, valores menores são observados nos frutos verdes.

**Tabela 2** – Contribuição relativa dos caracteres quantitativos de fruto para a divergência entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, baseada na distância generalizada de Mahalanobis. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Variáveis	Frequência (%)
SS	2,31
pH	0,94
ATT	2,67
ATT/SS	0,35
FF	2,95
L*	7,21
a*	0
b*	44,43
C*	0
h°	2,19
CF	8,02
DF	0
DCPF	16,78
MF	3,54
NL	8,59

SS (Sólidos Solúveis em° Brix); pH (potencial hidrogeniônico, dado em unidades de pH); ATT (Acidez Total Titulável em g de ácido cítrico/100 g de polpa); ATT/SS (Relação Sólidos Solúveis/Acidez Titulável); FF (Firmeza de fruto em N); Parâmetros de coloração (L\*; a\*; b\*; C\* e h°); CF (Comprimento do fruto em mm); DF (Diâmetro do fruto em mm); DCPF (Diâmetro da cicatriz do pedicelo do fruto em mm); MF (Massa do fruto em kg) e NL (Número de lóculos).

Já em estudos realizados na Espanha por Cebolla-Cornejo *et al.* (2013) e na Itália por Mercati *et al.* (2014), a massa de fruto (MF) foi uma das características que mais contribuiu para a variabilidade dos acessos estudados por esses autores, enquanto neste trabalho a MF contribuiu com apenas 3,54%. Esta diferença pode estar atribuída ao número e aos tipos de caracteres que foram levados em consideração na análise de contribuição.

O parâmetro a\* foi dado pela análise como sugestão de caractere para descarte. No entanto, está variável não foi descartada, devido este ser um carácter componente do sistema que utiliza o método Cielab, o qual inclui os parâmetros de coloração (L\*; a\*; b\*; C\* e h). Ao avaliar o descarte de variáveis, Rego *et al.* (2003), comenta que é considerável não excluir nenhuma característica, já que pode-se estar eliminando uma variável importante para o conjunto de dados.

Mediante a análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher, realizado a partir da matriz de distâncias, com base nos caracteres quantitativos de qualidade de fruto, os genótipos foram separados em cinco grupos dissimilares (Tabela 3). O primeiro grupo, representado por 70,59% dos genótipos, é composto por 10 materiais oriundos do BAGT – UTFPR Pato Branco e mais duas variedades comerciais de tomateiro de polinização aberta (Santa Clara e Gaúcho). Indicando de maneira geral que esses genótipos possuem características similares às variedades comerciais. No estudo com 70 acessos, Marim *et al.* (2009) também encontraram o maior número de genótipos alocados no mesmo grupo das duas cultivares comerciais, utilizadas como testemunha. O autor justifica o fato como sendo positivo, já que caso algum genótipo deste agrupamento apresente determinada característica de interesse, este poderia ser incluído no programa de melhoramento sem causar um grande efeito nas demais características. O contrário ocorre quando se incorpora no cruzamento um parental silvestre, resistente a determinada doença por exemplo, mas que pode trazer consigo alguma característica indesejável.

**Tabela 3** – Agrupamento dos 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, baseado em 15 caracteres quantitativos de fruto. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Grupo	Genótipos
I	UTFPR_016, UTFPR_028, UTFPR_117, UTFPR_033, UTFPR_029, UTFPR_037, UTFPR_046, UTFPR_014, UTFPR_030, UTFPR_038, SC e GA
II	UTFPR_008 e UTFPR_015
III	UTFPR_040
IV	UTFPR_021
V	UTFPR_115

Ao avaliarem a qualidade dos frutos de genótipos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa, Mattedi *et al.* (2011), encontraram valores de SS para a variedade Santa Clara (SC) de 3,53 °Brix e pH de 4,22. Enquanto neste trabalho, o teor de SS para SC foi de 4,14 °Brix e pH de 4,08. Essas são características que influenciam na preferência do consumidor, já que o teor de °Brix infere o sabor adocicado ao fruto e os valores de

pH mais baixos estão relacionados a maior conservação pós-colheita e ao sabor mais ácido do fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005; BALDWIN *et al.*, 2008; NASCIMENTO *et al.*, 2013). Frutos que apresentam mais 3% de SS já são considerados de qualidade de acordo com Kader *et al.* (1978). De modo que neste trabalho todos os genótipos apresentaram valores médios superiores a 3, 26%.

Ao avaliar tomates produzidos em sistema orgânico e convencional Neto *et al.*, 2016, puderam perceber através de análise sensorial que na hora do consumidor decidir qual alimento é melhor ele leva em consideração as características químicas relacionadas ao sabor. Características visuais de fruto, como firmeza ao toque e aparência geral externa tiveram menor peso na avaliação da qualidade global.

No segundo grupo (Tabela 3), foram alocados dois genótipos UTFPR\_008 e UTFPR\_015, que se destacam dos demais por apresentarem os maiores valores de SS expressos em °Brix (5,68 e 6,07, respectivamente) e por serem os únicos com coloração amarelo-alaranjada ( $b^*$ = 54,73 e 53,43, respectivamente). Haja visto, que o carácter  $b^*$  foi, segundo a análise de importância dos caracteres a característica que mais contribuiu para a divergência entre genótipos.

O terceiro, quarto e quinto grupo apresentam apenas um acesso. O UTFPR\_040 componente do terceiro grupo destaca-se por ter o maior fruto de todos os genótipos analisados, apresentando as maiores médias de número de lóculos (NL= 14), massa de fruto (MF= 406 g) e cicatriz de pedicelo (DCPF= 31,58 mm). O UTFPR\_021, representante do quarto grupo é o único genótipo que apresenta coloração mesclada (amarelo, laranja, rosa, vermelho e verde) e que por este motivo apresentou o menor valor de  $a^*$  (11,49), o qual é o parâmetro que representa a região que compreende do vermelho ( $a^{*+}$ ) até o verde ( $a^{*-}$ ), além de diferenciar-se pela baixa firmeza de fruto (FF= 2,60 N). O grupo V formado pelo UTFPR\_115, que apresenta o menor °Brix (SS= 3,26) e o menor tamanho de cicatriz de pedicelo (DCPF= 9,62 mm).

Muitos caracteres apresentam correlação, seja ela positiva ou negativa na expressão fenotípica dos genótipos. Por isso, nos programas de melhoramento a correlação é levada em consideração no momento de seleção dos genitores. Por

exemplo, em estudos realizados por Kaur *et al.* (2017) com genótipos elite de tomateiro, os autores observaram que a escolha de materiais com maior MF podem favorecer a seleção de tomateiros com maior rendimento de frutos por planta, maior número de lóculos e menor período para iniciação floral. Esse fato se deve a correlação positiva observada entre esses caracteres.

No entanto, tomates muito grandes (Tabela 4), como o genótipo UTFPR\_2040 alocado no grupo III (Tabela 3), apesar de expressarem alta MF, podem ser frutos não muito bem-aceitos comercialmente. Devido apresentarem uma vida de prateleira reduzida, causada pela maior susceptibilidade a cicatrizes, e no caso do genótipo UTFPR\_021 menor firmeza de fruto. Como ocorre com a cicatriz do pedicelo, que contribuiu com 16,78% da variabilidade morfológica (tabela 2) dos genótipos deste trabalho. De modo que quanto maior for o DCPF, menor será a vida de pós – colheita, acarretada pelo aumento da perda de água do fruto para a superfície (SOBREIRA *et al.*, 2009).

**Tabela 4** – Caracterização morfológica de genótipos de tomateiro do BAGT – UTFPR de Pato Branco, baseada em alguns descritores qualitativos e quantitativos de fruto e planta. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Genótipos	Características Gerais de Fruto	Características Gerais de Planta
UTFPR_008	Fruto laranja plurilocular grande, de formato ligeiramente achatado e tolerante a rachaduras concêntricas.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 8 flores no segundo cacho, comprimento médio de pedicelo acima de 1,5 cm e alta densidade de folhagem.
UTFPR_014	Fruto vermelho plurilocular grande, de formato achatado, com ombro verde presente e apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais graves.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 10 flores no segundo cacho e densidade de folhagem intermediária.
UTFPR_015	Fruto amarelo-alaranjado plurilocular médio a grande, de formato predominantemente redondo a ligeiramente achatado e tolerante a rachaduras concêntricas.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 7 flores no segundo cacho, comprimento médio de pedicelo acima de 1,4 cm e alta densidade de folhagem.
UTFPR_016	Fruto vermelho plurilocular médio a grande, de formato ligeiramente achatado e apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais graves.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 9 flores no segundo cacho, comprimento médio de pedicelo acima de 1,6 cm e alta densidade de folhagem.
UTFPR_021	Fruto mesclado plurilocular muito grande, de formato achatado, com ombro verde presente e apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais intermediária.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 3 flores no segundo cacho e densidade de folhagem de intermediária a alta.
UTFPR_028	Fruto vermelho plurilocular médio a grande, de formato ligeiramente	Hábito de crescimento indeterminado, média de 9 flores no segundo cacho e densidade

	achatado, apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais ligeiras a intermediárias.	de folhagem de intermediária a alta.
UTFPR_029	Fruto vermelho plurilocular grande, com variabilidade no formato (predominantemente redondo alongado a redondo alongado e codiforme) e tolerante a rachaduras concêntricas.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 7 flores no segundo cacho e alta densidade de folhagem.
UTFPR_030	Fruto vermelho bilocular pequeno a médio, de formato ligeiramente achatado, apresenta susceptibilidade concêntricas intermediárias.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 7 flores no segundo cacho, comprimento médio de pedicelo acima de 1,4 cm e densidade de folhagem intermediária.
UTFPR_033	Fruto laranja-amarronzado plurilocular grande, de formato ligeiramente achatado, com ombro verde presente e apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais intermediária.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 5 flores no segundo cacho e densidade de folhagem de intermediária a alta.
UTFPR_037	Fruto vermelho plurilocular médio a grande, de formato predominante cilíndrico a codiforme.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 5 flores no segundo cacho, comprimento médio de pedicelo acima de 1,4 cm e densidade de folhagem intermediária.
UTFPR_038	Fruto plurilocular pequeno vermelho, de formato ligeiramente achatado.	Precoce com hábito de crescimento determinado, média de 10 flores no segundo cacho e densidade de folhagem intermediária.
UTFPR_040	Fruto vermelho plurilocular muito grande, de formato predominantemente achatado a ligeiramente achatado e apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais graves.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 7 flores no segundo cacho e densidade de folhagem intermediária.
UTFPR_046	Fruto vermelho plurilocular grande, de formato achatado, com ombro verde presente e apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais graves.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 8 flores no segundo cacho e densidade de folhagem intermediária.
UTFPR_115	Fruto rosa plurilocular médio, de formato predominantemente cordiforme a ligeiramente achatado, apresenta susceptibilidade a rachaduras concêntricas intermediárias.	Hábito de crescimento determinado, média de 10 flores no segundo cacho e densidade de folhagem baixa.
UTFPR_117	Fruto vermelho plurilocular médio, de formato cordiforme e redondo, apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais muito graves e é tolerante a rachaduras concêntricas.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 5 flores no segundo cacho e densidade de folhagem intermediária.
SC	Fruto bilocular vermelho médio, de formato redondo a redondo alongado.	Mais tardia com hábito de crescimento indeterminado, média de 8 flores no segundo cacho e densidade de folhagem intermediária.

---

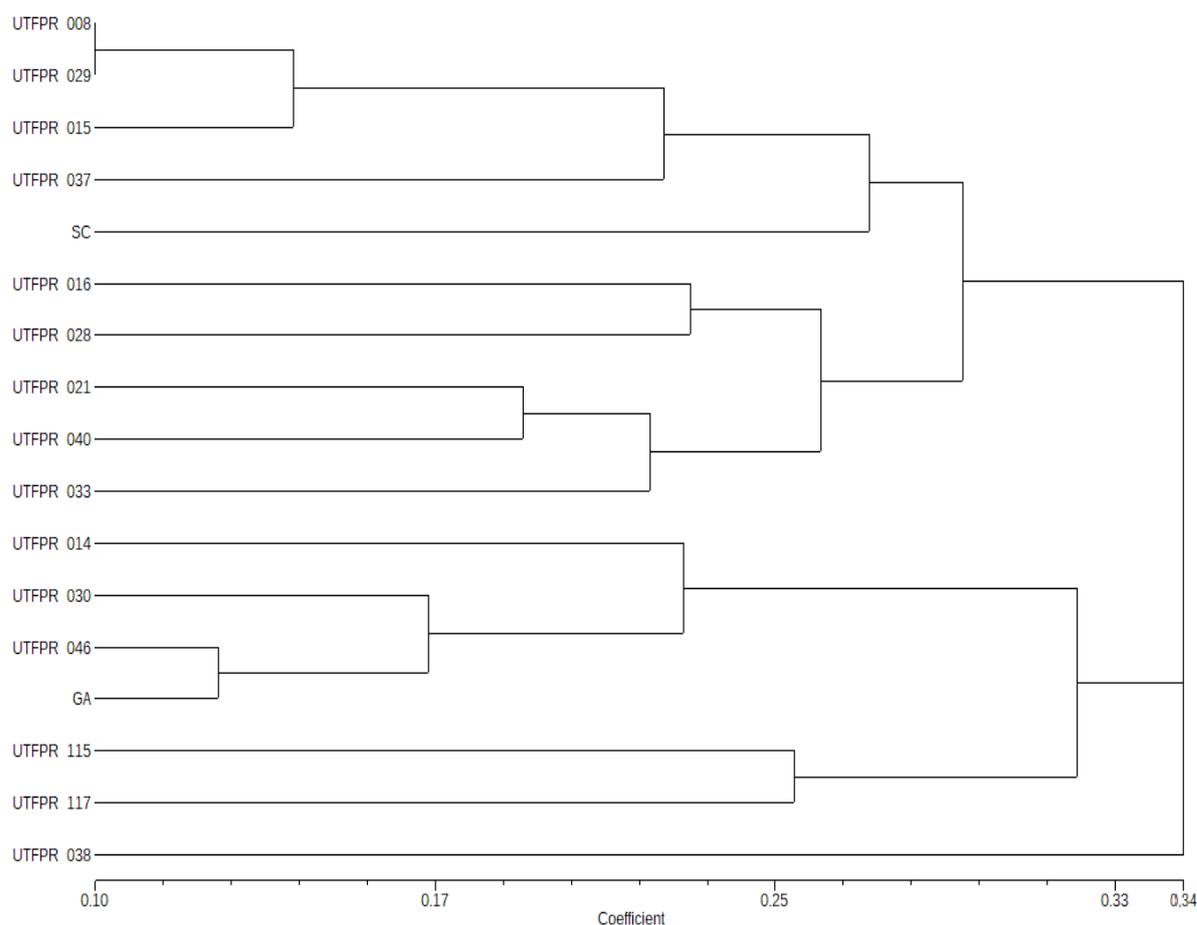
GA	Fruto vermelho plurilocular grande, de formato achatado, com ombro verde presente, apresenta susceptibilidade a rachaduras radiais e concêntricas intermediárias.	Hábito de crescimento indeterminado, média de 9 flores no segundo cacho e densidade de folhagem intermediária.
----	---	--

---

### 5.1.2 Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Planta

A dissimilaridade morfológica entre os 17 genótipos de tomateiro obtida a partir dos caracteres qualitativos e quantitativos de planta, apresentou uma dissimilaridade média baixa, com valor de 0,34, considerando que o valor de máxima é de 1,0. A correlação cofenética obtida a partir do dendrograma e a matriz da distância genética foi de 0,65, indicando o menor ajuste de matrizes, quando comparado aos resultados obtidos a partir dos caracteres qualitativos e quantitativos de fruto e gerais, que apresentaram correlações cofenéticas médias de 0,80 e 0,70, respectivamente.

No dendrograma construído foi possível observar a formação de dois grupos e mais o genótipo UTFPR\_0,38, isolado (Figura 4). Fazem parte do grupo I o UTFPR\_117, UTFPR\_115, GA, UTFPR\_046, UTFPR\_030 e UTFPR\_014 e do grupo II os demais genótipos. Os descritores responsáveis por formarem os agrupamentos, foram principalmente os que indicam a precocidade da planta, sendo eles o número de dias para abertura da primeira flor e para a maturação do primeiro fruto após a semeadura (NDAPFT e NDAPFS) e após o transplante (NDMPFT e NDMPFS). O grupo I reuniu os genótipos que apresentaram NDAPFT e NDAPFS inferiores a 29 e 77 dias, respectivamente.



**Figura 4** – Dendrograma de dissimilaridade entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, a partir de 12 caracteres qualitativos e quantitativos de planta. Dissimilaridade média 0,34. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

O genótipo UTFPR\_038 se destacou dos demais por expressar maior precocidade que o grupo I, com médias de NDAPFT= 25, NDAPFS= 73, NDMPFT= 68 e NDMPFS= 116. Já o tomate SC, componente do grupo II, com dissimilaridade para o UTFPR\_038 de 0,75, mostrou-se o mais tardio (médias de NDAPFT= 25; NDAPFS= 73; NDMPFT= 68 e NDMPFS= 116) dentre os genótipos. Estes caracteres estão diretamente relacionados com o maior ou menor número de dias que os frutos levarão para estarem no ponto de colheita. De modo que segundo Kaur *et al.* (2017) o menor número de dias para a colheita esta relacionada a um maior teor de SS e acidez titulável no fruto. Estas informações podem ser relevantes na determinação de genótipos que imprimam maior qualidade de fruto e também no planejamento do escalonamento da colheita.

Quando comparado aos demais 16 acessos, o UTFPR\_038 apresentou o menor tamanho de pedicelo (CP= 10,14 mm), isso pode ter ocorrido pelo fato de

que esse genótipo apresenta um fruto considerado pequeno (MF= 0,072 kg; CF= 45,75 mm e DF= 54,53 mm), sobretudo quando comparado ao UTFPR\_040, constituinte do grupo II, que atingiu uma MF de 0,406 kg, os quais apresentaram entre si uma dissimilaridade de 0,50. O maior CP foi encontrado nas plantas do UTFPR\_016, com 16,61 mm, que também faz parte do segundo grupo, considerado um fruto padrão do tipo mesa.

Os genótipos UTFPR\_008 e UTFPR\_029 podem ser considerados os genótipos mais próximos entre si, haja vista que apresentaram uma dissimilaridade de 0,10. Ambos apresentam hábito de crescimento indeterminado, média de 7 a 8 flores no segundo cacho e alta densidade de folhagem (Tabela 4). Já quando comparados os caracteres de qualidade de fruto, ficam em grupos diferentes, evidenciado principalmente pela diferença na coloração (Tabela 3 e Figura 5).



**Figura 5** – Frutos dos genótipos UTFPR\_008 e UTFPR\_029 do BAGT – UTFPR Pato Branco. (A) Genótipo UTFPR\_008; (B) Genótipo UTFPR\_029; (C) Corte para contagem do número de lóculos do genótipo UTFPR\_029. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Dentre os 17 genótipos, o UTFPR\_038 e UTFPR\_115 foram os únicos que apresentaram hábito de crescimento determinado, e apesar da baixa dissimilaridade (0,35) não estão no mesmo agrupamento. Esse descritor é importante para o melhoramento, haja vista que os materiais determinados carregam em seu genoma o alelo mutante recessivo *sp*, que faz com que a planta termine com uma inflorescência na sua haste principal, cessando assim seu crescimento (SCHWARZ *et al.*, 2014). O hábito de crescimento pode também influenciar no teor de SS do fruto, haja vista que controla o número de folhas existentes na planta e desta forma a disponibilidade de açúcares para o dreno (fruto). Desse modo, ao comparar o teor de SS em genótipos de tomateiro Fridman *et al.* (2002) encontraram nas plantas de hábito indeterminado cerca de 32% mais SS que nas de hábito determinado.

Os genótipos com maior densidade de folhagem (DF) foram alocados no grupo II, com DF densa (UTFPR\_008, UTFPR\_029; UTFPR\_015 e UTFPR\_016)

e DF intermediária a densa (UTFPR\_033; UTFPR\_028 e UTFPR\_021). UTFPR\_038, UTFPR\_115 e UTFPR\_117 foram os genótipos que apresentaram a menor densidade de folhagem em relação aos demais, com uma DF classificada como escassa (Figura 6). A densidade de folhagem está relacionada particularmente com a capacidade fotossintética da planta e com o microclima favorável ou desfavorável para o desenvolvimento de doenças (LOPES; LIMA, 2015). É considerada um caractere importante na escolha de uma cultivar, um genótipo com DF adensada, permite maior proteção dos frutos contra escaldaduras no cultivo em campo. Já em ambiente protegido, é preferível uma DF menor visando maior aeração, além de que plantas com esta característica permitem o cultivo mais adensado (BLUME; JARA, 2004; ALVARENGA, 2013).



**Figura 6** – Exemplos de diferentes densidades de folhagem (DF) de genótipos de tomateiro do BAGT – UTFPR Pato Branco. (A) Genótipo UTFPR\_008 com DF considerada densa; (B) Genótipo UTFPR\_115 caracterizado como DF escassa. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Na caracterização morfológica de 50 genótipos de tomate selvagem e cultivado, Zhou *et al.* (2015) utilizaram somente descritores de planta (hábito de crescimento; altura da planta; diâmetro do caule; cor do hipocótilo; forma, comprimento e largura da folha; área foliar e pubescência de caule e folha). Mesmo com pequeno número de descritores, os autores obtiveram um resultado de 78,5% da variação fenotípica através de três componentes principais. Os autores enfatizam que essa variabilidade só pode ser observada com a utilização de poucos caracteres morfológicos quando na coleção a ser estudada possui genótipos fenotipicamente muito dissimilares, como o tomate selvagem, por exemplo.

A variabilidade de 71 genótipos de tomateiro, incluindo linhas avançadas, de herança e genótipos selvagens, também foi identificada por Bhattarai *et al.* (2016) com a utilização de apenas oito descritores morfológicos vegetativos e reprodutivos visuais do IPGRI, (hábito de crescimento; altura da planta; tipo e cor de folha; tipo, forma e tamanho do fruto e dias para 50% de maturidade). No dendrograma obtido por esses autores, foi determinada a formação de seis grupos distintos. Em contrapartida, os mesmos mencionam que o hábito de crescimento é um caractere que não apresenta relações com as características desejadas do fruto.

Para as três avaliações visuais da intensidade de doenças e do ataque de insetos praga ocorrentes ao longo do ciclo de cultivo do tomateiro, foi possível observar que o inseto praga que predominou durante toda a implantação do experimento foi a vaquinha (*Diabrotica speciosa*) e as doenças mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*) e a septoriose (*Septoria lycopersici*). Essas pragas não foram específicas para um determinado agrupamento e sim para genótipos.

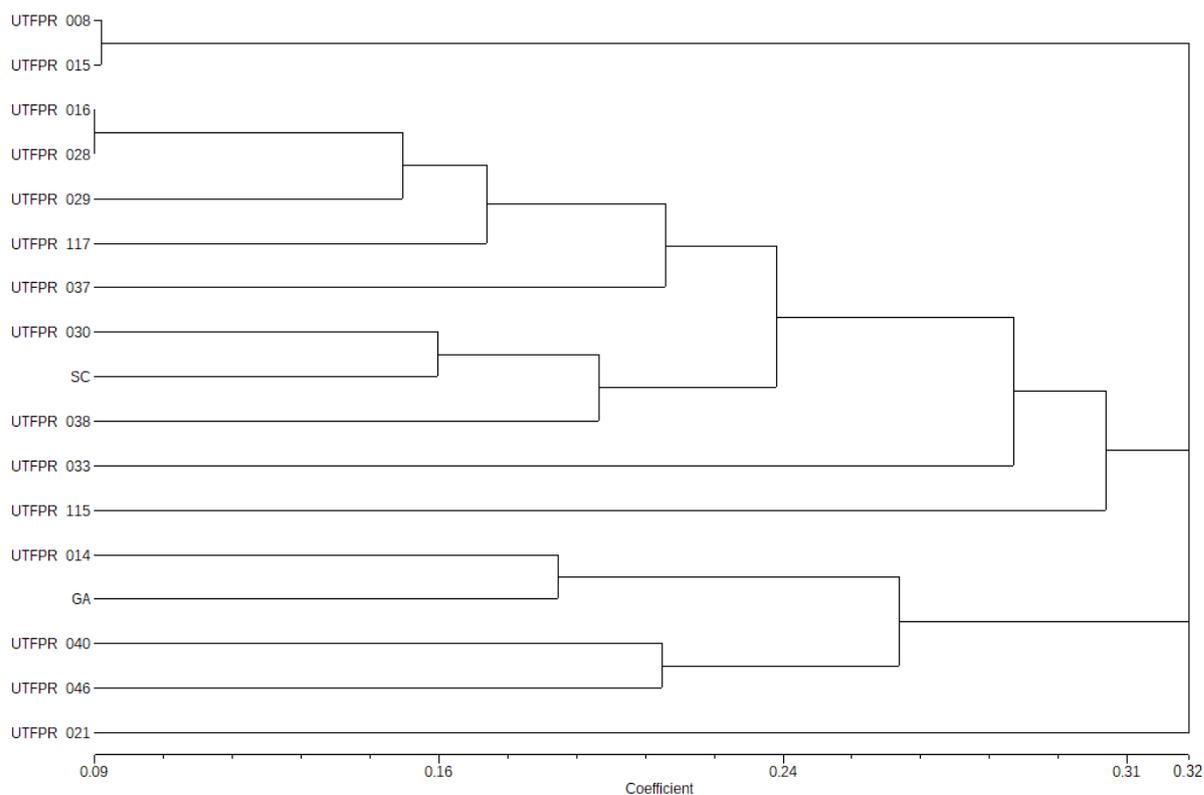
A *Diabrotica speciosa* acometeu especialmente os genótipos UTFPR\_014, UTFPR\_037, UTFPR\_115, UTFPR\_117, com o ataque indo da escala alta até muito alta. A escala baixa foi somente determinada para os genótipos SC, UTFPR\_029, UTFPR\_016 e UTFPR\_008, constituintes do grupo II. Em consequência do ataque das vaquinhas e das altas precipitações, a mancha bacteriana se fez presente moderadamente nos tomateiros SC, UTFPR\_115, UTFPR\_040, UTFPR\_028 e UTFPR\_014, os demais apresentaram um nível baixo de sintomas. Na data de 19/12/2016, segundo dados do AGUASPARANÁ (2018), a precipitação foi de 76,5 mm e nos primeiros 12 dias do mês de janeiro de 2018, choveu cerca de 122,2 mm, o equivalente a 65 % do total do mês inteiro. No final do ciclo do tomateiro, a Septoriose acometeu do nível alto a muito alto a maioria dos genótipos, dando destaque para os afetados intermediariamente a variedade comercial SC e o UTFPR\_016.

Por se tratar de um cultivo utilizando práticas de manejo de base agroecológica, em campo aberto e em um ambiente desequilibrado, a presença de doenças foi muito baixa, quando compara-se aos sistemas convencionais de cultivo do tomateiro. Isso pode estar atrelado a eficiência na aplicação de caldas

alternativas de modo preventivo, nas condições de fornecimento nutricional disponíveis para a planta. Além, desta ser uma área onde nunca havia sido cultivadas espécies de solanáceas, desse modo sem a presença de inóculo inicial (MIZUBUTI; MAFFIA, 2009).

### 5.1.3 Caracteres Qualitativos e Quantitativos de Fruto

O dendrograma gerado a partir da análise conjunta dos caracteres qualitativos e quantitativos de fruto considerando os 17 genótipos resultou na formação de três grupos e o genótipo UTFPR\_021 que manteve-se destacado dos demais sem formação de agrupamento (Figura 7). A dissimilaridade média foi de 0,32 e correlação cofenética de 0,80, valor este que indica um bom ajuste de matrizes.



**Figura 7** – Dendrograma de dissimilaridade entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, a partir de 29 caracteres qualitativos e quantitativos de fruto. Dissimilaridade média 0,32. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

O UTFPR\_021 é caracterizado como um fruto plurilocular grande, com massa média de 0,369 kg, de baixa firmeza e de pele incolor (Figura 8). Não foi

incluso em nenhum agrupamento por ser o fruto fenotipicamente mais distinto, especialmente pela coloração, haja vista que apresentou o pericarpo (CIPF) e coloração externa de fruto (CEFM) como sendo mesclado. Esses dados corroboram com a análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher, que com base nos caracteres de qualidade de fruto, o UTFPR\_021 ficou alocado no grupo IV (Tabela 3).



**Figura 8** – Características externas da coloração mesclada do genótipo UTFPR\_021 e análise da coloração da pele de diferentes frutos. (A) Visão frontal do fruto do genótipo UTFPR\_021; (B) Parte inferior do fruto do genótipo UTFPR\_021; (C) Cortes de diferentes peles dos frutos de tomateiro. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Os genótipos UTFPR\_008 e UTFPR\_015, alocados no grupo III, foram os mais dissimilares em relação ao UTFPR\_021, com uma distância de 0,42 para UTFPR\_008 e 0,47 para UTFPR\_015. Assim como na análise de Tocher, que ficaram agrupados no 2º grupo, são materiais que produzem frutos com características quantitativas e qualitativas de coloração diferenciadas, com CIPF alaranjada e CIFM amarelo-alaranjada.

A cor do fruto é determinada pela cor da pele e da polpa do fruto, que irá variar conforme a quantidade e o tipo de carotenóide e flavonóides, e se a clorofila persiste no fruto após a maturação ou não (SCHWARZ *et al.*, 2014). A coloração amarela nos frutos pode estar relacionada ao alto teor de  $\beta$  caroteno no fruto, ordenado pelo gene *B* (RONEN *et al.*, 2000), pelo acúmulo de deltacaroteno. Já os amarelos tangerinas através do gene *t* responsável pelo acúmulo de zetacaroteno e pró-licopeno (ISSACSON *et al.*, 2002). O fruto rosa ocorre em indivíduos onde há a presença do gene *y* (yellow) recessivo, responsável pela inexistência do acúmulo de flavonóides amarelos na epiderme, codificando assim o fenótipo película incolor com polpa vermelha (BALLESTER *et al.*, 2010).

Além da coloração, os integrantes do grupo III, destacam-se por serem frutos resistentes às rachaduras radiais e concêntricas. Apresentam frutos com rachadura radial sem depressão a ligeira depressão, assim como o UTFPR\_038, pertencente ao grupo II, que possui uma dissimilaridade de 0,37 para UTFPR\_008 e 0,40 para UTFPR\_015. Rachaduras concêntricas com o mínimo de linhas com depressão, assim como o UTFPR\_029 e UTFPR\_117 do grupo II, cujas distâncias foram de 0,28 e 0,34 para o UTFPR\_008 e 0,26 e 0,31 para UTFPR\_015, respectivamente.

As rachaduras são consideradas um atributo importante para a comercialização de tomate do tipo mesa, seja na aceitação pelos grandes centro de distribuição ou do próprio consumidor. Isso ocorre porque determinam a qualidade de pós-colheita e a vida de prateleira do fruto, já que alteram o aspecto visual e de sabor do fruto, por serem porta de entrada para patógenos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012). A tolerância às rachaduras concêntricas e radiais estão entre os atributos desejados para o lançamento de cultivares recomendadas no cultivo de verão, devido esta ser uma época chuvosa onde qualquer abertura no fruto pode ser porta de entrada para a instalação de alguma doença (QUEZADO-DUVAL *et al.*, 2007).

Os genótipos UTFPR\_046, UTFPR\_040, UTFPR\_014, ficaram alocados no grupo I, com características similares à variedade comercial GA. Apresentam frutos vermelhos, mas que quando ainda verdes a coloração externa característica é o branco esverdeado. São grandes, pluriloculares com número médio de lóculos de 11 (UTFPR\_046), 14 (UTFPR\_040), 9 (UTFPR\_014) e 13 (GA), cuja característica é considerada de alta herdabilidade, ou seja, apresenta alta resposta em seleções para o melhoramento genético (SINGH *et al.*, 2017). Ainda outro descritor a se destacar é a homogeneidade de fruto que foi de baixa a média neste agrupamento.

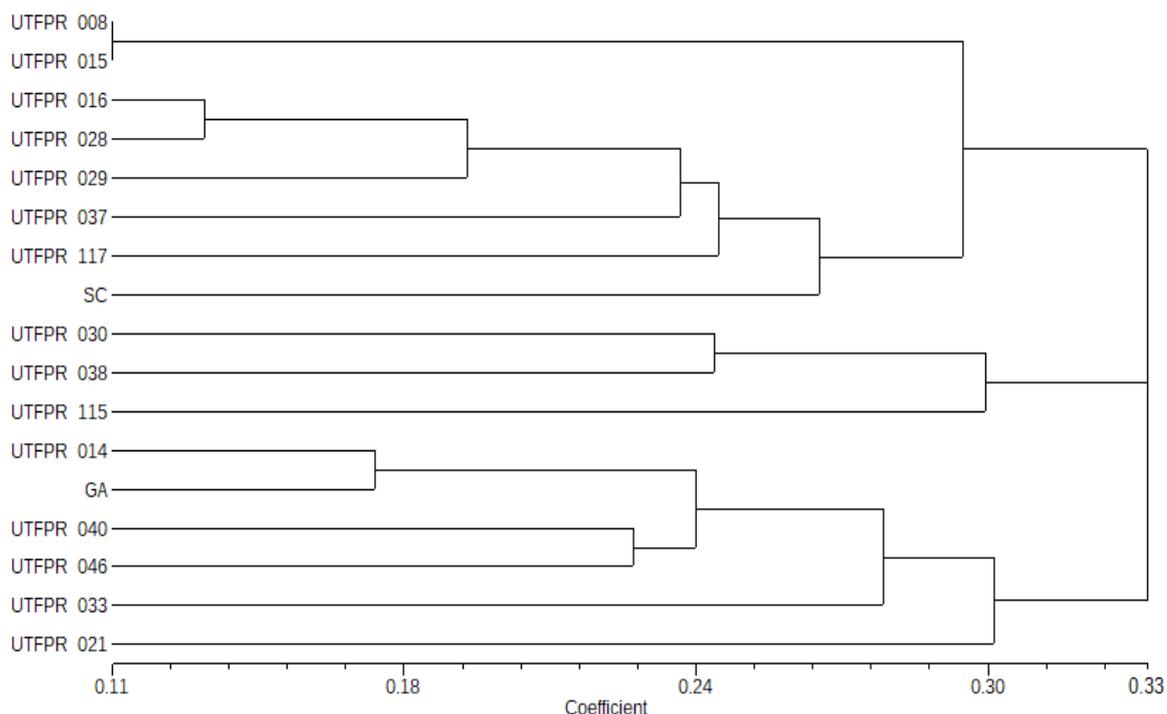
O maior número de genótipos ficou alocado no grupo II (UTFPR\_115, UTFPR\_033, UTFPR\_038, SC, UTFPR\_030, UTFPR\_037, UTFPR\_117, UTFPR\_029, UTFPR\_028 e UTFPR\_016), tendo como referência a variedade comercial SC, onde número médio de lóculos variou de dois a sete. Esse agrupamento foi diferente do realizado pela análise de Tocher, a qual somente levou em consideração os dados quantitativos. O resultado demonstra a importância de

se utilizar descritores qualitativos e quantitativos na identificação da variabilidade em um conjunto de dados. Principalmente porque quando realizou-se a análise conjunta dos caracteres qualitativos e quantitativos de fruto, os genótipos comerciais (SC e GA) ficaram em grupos separados.

Comercialmente essas variedades são bem conhecidas, principalmente por apresentarem características distintas, que os separam em dois grupos: o SC como representante do grupo santa cruz e o GA constituinte do grupo salada. Ambas são considerados do tipo mesa. Os tomates Santa Cruz apresentam como características principais frutos vermelhos de tamanho médio (80 a 220 g), bi ou triloculares e são de hábito de crescimento indeterminado. Já os salada constituem de frutos grandes (até 500 g) mais achatados e pluriloculares e as plantas apresentam hábito de crescimento determinado e indeterminado (ALVARENGA *et al.*, 2013). Esses dados da literatura corroboram com os encontrados neste trabalho (Tabela 4).

#### 5.1.4 Caracteres Qualitativos e Quantitativos Gerais

O dendrograma gerado a partir da análise conjunta dos caracteres qualitativos e quantitativos de planta e fruto considerando os 17 genótipos resultou na formação de três grupos, com dissimilaridade média de 0,33 e correlação cofenética de 0,70 (Figura 9).



**Figura 9** – Dendrograma de dissimilaridade entre os 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, a partir de 41 caracteres qualitativos e quantitativos gerais. Dissimilaridade média 0,33. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Os componentes do grupo I (UTFPR\_021, UTFPR\_033, UTFPR\_046, UTFPR\_040, GA e UTFPR\_014) são caracterizados como frutos achatados pluriloculares grandes, com cicatriz pistilar do tipo irregular, além de exibirem ombro verde, com exceção do UTFPR\_040. Já o grupo II é formado pelo menor agrupamento (UTFPR\_115, UTFPR\_038 e UTFPR\_030), com genótipos de frutos de menor tamanho e com as menores MF.

No terceiro grupo (SC; UTFPR\_117; UTFPR\_037; UTFPR\_029; UTFPR\_028; UTFPR\_016; UTFPR\_015 e UTFPR\_008) foram alocados os genótipos que apresentaram características intermediárias em relação ao grupo I e II. São materiais que apesar de manifestarem diferenças entre si (principalmente para caracteres de qualidade de fruto, como coloração e SS), destacam-se como sendo os genótipos com características interessantes ao melhoramento para cultivares do tipo mesa. Haja vista, que teriam uma boa aceitação do consumidor, devido o seu tamanho e formato (Tabela 4). Além, de apresentarem coloração vermelha, com exceção de UTFPR\_015 e UTFPR\_008, que apesar de serem

amarelo-alaranjados demonstraram um grau tolerância às rachaduras, quando comparados aos demais.

Os genótipos de coloração diferenciada poderiam ser explorados em outros nicho de mercado como os *gourmet*, por exemplo. Para isso, trabalhos de análise sensorial e de composição nutracêutica, que evidenciem o sabor e o valor nutricional desses genótipos diferenciados, poderiam ser realizados em futuros trabalhos.

Em relação às demais análises realizadas, os grupos formados a partir das 41 variáveis exprimem a caracterização morfológica de planta e fruto de modo generalizado. Os agrupamentos formados foram mais semelhantes aos demonstrados pelo dendrograma que levou em consideração os caracteres qualitativos e quantitativos de fruto (Figura 7), quando comparado ao formado a partir dos caracteres de planta (Figura 4). Isso indica que ao realizar a caracterização dos 17 genótipos de tomateiro de polinização aberta, os caracteres relacionados aos frutos foram os mais importantes para identificação da variabilidade morfológica desses materiais. Haja vista que, os caracteres de planta também são importantes, de modo que, podem dar uma ideia ao melhorista de como os materiais dentro dos agrupamentos responderão ao manejo, por exemplo.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

As análises de caracterização molecular foram realizadas utilizando os genótipos das avaliações morfológicas, mais o UTFPR\_031 e o híbrido Alambra®. Os iniciadores 19 e 20, que representavam os cromossomos nove e dez, não apresentaram bandas visíveis, sendo estes descartados das análises.

Nos vinte iniciadores testados (Tabela 5) os valores de conteúdo de informação polimórfica (PIC) variaram de 0,13 para o primer oito (SSR65) a 1,13 (primer 21, representante do cromossomo 11), com uma média de 0,55. Dez dos 20 iniciadores apresentaram um alto PIC, sendo eles o número 2 (SSR248), 3 (SSR13), 4 (SSR19), 5 (63), 6 (47), 9 (SSR111), 12, 18, 21 e 22, com valores de 0,82, 0,80, 0,59, 0,58, 0,65, 1,09, 0,72, 1,13 e 0,58, respectivamente.

**Tabela 5** – Lista dos iniciadores SSR polimórficos, com base no Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC). UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

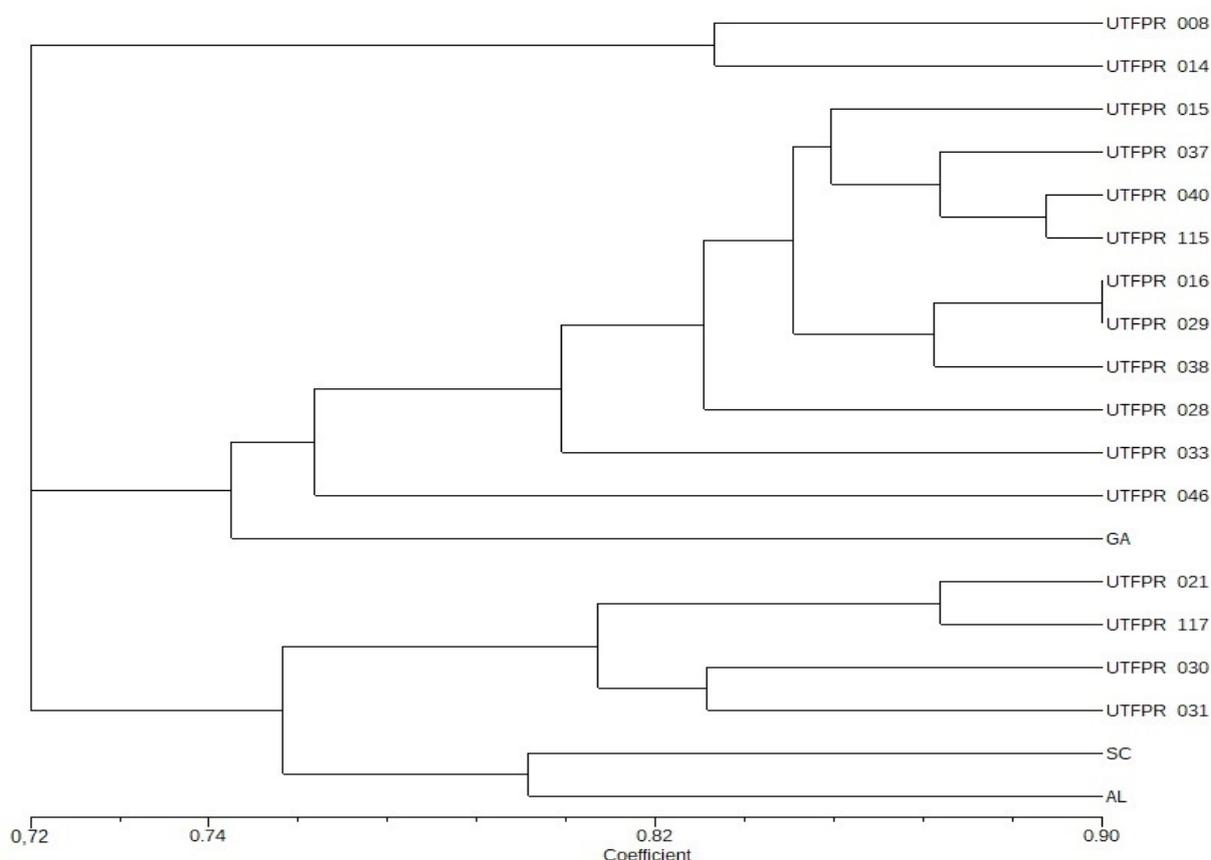
Primer	SSR ID	PIC	Primer	SSR ID	PIC
1	SSR450	0,19	11	Chr-01-5681	0,48
2	SSR248	0,82	12	Chr-02-1353	1,09
3	SSR13	0,80	13	Chr-03-1717	0,28
4	SSR19	0,59	14	Chr-04-1652	0,23
5	SSR63	0,58	15	Chr-05-3867	0,44
6	SSR47	0,65	16	Chr-06-3500	0,46
7	SSR50	0,35	17	Chr-07-4485	0,14
8	SSR65	0,13	18	Chr-08-1484	0,72
9	SSR111	1,01	21	Chr-11-1588	1,13
10	SSR603	0,33	22	Chr-12-1593	0,58

Valores de PIC acima de 0,5 indicam loci altamente polimórficos, PIC com valores entre 0,25 e 0,5 são considerados moderadamente informativo e PIC inferiores a 0,25 são considerados não informativos (BOTSTEIN *et al.*, 1980). Estudos com SSRs em tomateiro têm encontrado uma grande variabilidade nos valores de PIC, Mercati *et al.* (2014) utilizando 11 iniciadores observaram uma variação de 0,046 (SSR28) a 0,738 (SSR63) com uma média de 0,387. Em um estudo mais recente, utilizando 245 marcadores SSR, a partir de 32 genótipos, Velpula *et al.* (2017) verificaram um bom nível de polimorfismo, onde obtiveram PIC médio de 0,34. Do montante total, cerca de 35 (14,28%) iniciadores não amplificaram os fragmentos de PCR esperados.

Em triagem realizada por Kumar *et al.* (2016), a fim de selecionar marcadores SSR passíveis de identificação varietal e de pré-seleção para a distinção de genótipos de tomate, testaram 50 iniciadores SSR. Os autores encontraram um alto grau de polimorfismo em onze dos 50 iniciadores, com PIC variando de 0,979 (SSR-110) a 0,995 (SSR-253), no entanto, não informam o valor de PIC do restante dos iniciadores.

A partir dos fragmentos polimórficos amplificados através de 20 iniciadores SSR, foi realizado o estudo de similaridade genética entre os 19 genótipos de tomateiro. Com a construção de um dendrograma foi possível observar a formação de três grupos (Figura 10). A similaridade média entre todos os

genótipos foi de 0,72 e a correlação cofanética de 0,80, indicando um bom ajuste de matrizes.



**Figura 10** – Dendrograma de similaridade genética entre os 19 genótipos a partir dos resultados dos pares de iniciadores SSR (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21 e 22). Similaridade média 0,72. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

O grupo I é formado pelos genótipos UTFPR\_021, UTFPR\_117, UTFPR\_030, UTFPR\_031, Santa Clara (SC) e o híbrido Alambra® (AL). Com exceção do último, todas são variedades de polinização aberta, que apesar de serem morfológicamente distintas são geneticamente semelhantes. Esse agrupamento pode indicar o parentesco desses genótipos com os materiais comerciais SC e AL. Os constituintes do subgrupo I do grupo I (SC e AL), apresentaram similaridade de 0,80, revelando que o híbrido AL provavelmente deriva do cruzamento de um genótipo muito próximo geneticamente do SC.

Foram alocados no grupo II a variedade comercial GA e os genótipos UTFPR\_046, UTFPR\_033, UTFPR\_028, UTFPR\_038, UTFPR\_029, UTFPR\_016, UTFPR\_115, UTFPR\_040, UTFPR\_037, e UTFPR\_015. Nos agrupamentos

formados a partir de todas as análises morfológicas anteriores (Figuras 4, 7 e 9), o GA mostrou-se como muito semelhante ao genótipo UTFPR\_046 e molecularmente estes apresentaram uma similaridade de 70%. A mesma semelhança morfológica foi encontrada para genótipo UTFPR\_014, no entanto geneticamente ele apresentou 68% de similaridade com GA, ficando desse modo alocado em um agrupamento diferente (grupo III).

Ainda no grupo II é importante ressaltar a semelhança existente entre os genótipos UTFPR\_016 e UTFPR\_029. Estes apresentaram o maior valor de similaridade (0,90) quando comparados a todos os outros genótipos avaliados. Isso indica alto grau de parentesco entre esses materiais, haja vista que conforme todas as análises morfológicas anteriores (Figuras 4, 7 e 9), estes também ficaram alocados no mesmo agrupamento. Isso indica duplicidade no BAGT – UTFPR Pato Branco, no entanto, é interessante manter esses dois genótipos no banco, haja vista que eles ainda podem apresentar características que os diferenciem, como ocorre com o formato do fruto (Tabela 4), observado neste estudo, por exemplo. Além da possibilidade da realização de outras pesquisas, como em estudos de adaptação a diferentes ambientes e formas de manejo.

O grupo III, formado por apenas dois genótipos (UTFPR\_008 e UTFPR\_014), é considerado o mais divergente em relação ao grupo I, de modo que o UTFPR\_008 apresentou uma similaridade com todos os constituintes do grupo I inferior a 48%. Segundo as avaliações morfológicas (Tabela 3 e 4, Figuras 7 e 9), os genótipos UTFPR\_008 e UTFPR\_015 são morfológicamente iguais, no entanto na análise molecular houve a separação destes, em agrupamentos diferentes (UTFPR\_008 no grupo III e UTFPR\_015 no grupo II). Isso indica que não há a necessidade de descarte desses genótipos do BAGT – UTFPR Pato Branco, enfatizando a importância de se compatibilizar ferramentas (descritores morfológicos e marcadores moleculares) na caracterização dos acessos em um banco de germoplasma.

A caracterização molecular de tomateiro é bastante comum, principalmente nos estudos que visam identificar a variabilidade das coleções de germoplasma. Ao avaliarem 47 variedades de tomateiro mais populares na Itália Sardaro *et al.* (2013) realizaram a caracterização por meio de 11 iniciadores SSR,

de, tanto para aqueles vendidos nos mercados na forma fresca quanto aos destinados à transformação industrial, sendo 14 delas consideradas tomates de polinização aberta de herança. Obtiveram como resultado, também três grupos principais, com um coeficiente de 0,75 de similaridade, semelhante ao deste trabalho, o que possibilitou diferenciar as variedades modernas das de polinização aberta, consideradas de herança. Concluíram também que apesar da diversidade genética limitada presente em variedades de tomate comerciais, a utilização de marcadores SSR na caracterização é capaz de discriminar variedades que são morfológicamente semelhantes, mas geneticamente diferentes, e, portanto, pode ser utilizado para a identificação e proteção de materiais geneticamente valiosos.

Ao caracterizar 20 acessos de *C. baccatum* do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Clima Temperado, Villela *et al.* (2014) relatam que os grupos obtidos pela análise de agrupamento oriunda da utilização de marcadores SSR não tiveram relação com as características morfológicas dos frutos. No entanto, enfatizam que é uma ferramenta que colabora para a detecção da variabilidade genética entre acessos e no agrupamento de acessos.

A variabilidade encontrada no conjunto de genótipos, pelas análises de caracterização morfológicas e moleculares realizadas neste trabalho pode estar atrelada às relações existentes entre as raças primitivas que deram origem a esses genótipos e a forma como foram sendo selecionados (MERCATI *et al.*, 2014). Já que as espécies oriundas do BAGT – UTFPR Pato Branco foram doadas e não apresentam uma catalogação de sua origem. Desse modo, a combinação dessas duas ferramentas de caracterização permitiu identificar agrupamentos com características de interesse, que se fossem utilizados isoladamente, não seriam capazes de identificar.

## 6 CONCLUSÕES

A dissimilaridade média morfológica geral entre os genótipos foi considerada baixa. Os valores encontrados para os agrupamentos baseados nos caracteres quantitativos e qualitativos de planta foram de 0,34, 0,32 para os de frutos e 0,33 para os caracteres gerais.

Na caracterização da qualidade de fruto, 76,44% da variabilidade encontrada foi composta pelos caracteres: b\* (44,43%), DCPF (16,78%), NL (8,02%), CF (8,02%) e L\* (7,21%).

A similaridade média obtida a partir dos fragmentos polimórficos amplificados através de 20 iniciadores SSR foi de 0,72. Indicando que a variabilidade molecular entre todos os genótipos é de apenas 28%.

A variedade comercial GA é morfológicamente e geneticamente semelhante ao genótipo UTFPR\_046.

O UTFPR\_016 e UTFPR\_029 apresentaram 90% de similaridade genética e ficaram alocados no mesmo agrupamento em todas as análises morfológicas, indicando alto grau de parentesco entre esses materiais.

Os genótipos de fruto amarelo-alaranjado, UTFPR\_008 e UTFPR\_015, são morfológicamente semelhantes, no entanto, geneticamente apresentam similaridade de 59%.

As análises de caracterização morfológica e molecular possibilitaram agrupar os genótipos de acordo com a variabilidade existente, facilitando a seleção de genitores pelos programas de melhoramento.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho contribuíram para a formação e caracterização do BAGT – UTFPR Câmpus Pato Branco e podem auxiliar no melhoramento genético de variedades de tomateiro de polinização aberta para o cultivo agroecológico na região sudoeste do Paraná.

A alta incidência do “vira-cabeça”, fez com que o genótipo UTFPR\_031 fosse descartado das análises morfológicas. Apesar, da perda de 35% das plantas pela virose, não foram observadas outras doenças de importância econômica, além da mancha bacteriana e a septoriose.

Recomenda-se que em futuros trabalhos, seja avaliado o desempenho agrônômico dos genótipos do BAGT. Haja vista, que devido à ocorrência de ataques severos de vaquinha (*Diabrotica* sp.), na fase de campo do experimento, essas avaliações não puderam ser concluídas.

Os genótipos de coloração diferenciada poderiam ser explorados em outros nichos de mercado. Para isso, sugere-se trabalhos de análise sensorial e de composição nutricional.

Em avaliações que tem por objetivo verificar a adaptação de genótipos de polinização aberta ao cultivo agroecológico, os experimentos devem ser conduzidos em locais onde já exista um certo equilíbrio ecológico. Portanto, futuros trabalhos podem ser realizados, em parcerias com agricultores da região que sejam adeptos a adoção de práticas agroecológicas.

## REFERÊNCIAS

ABCSEM (2010). Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. **Pesquisa de Mercado de Sementes de Hortaliças – Ano Calendário 2009**. Disponível em: <[http://www.abcsem.com.br/docs/pesquisa\\_mercado\\_2009.pdf](http://www.abcsem.com.br/docs/pesquisa_mercado_2009.pdf)>. Acesso: 10 de jan. 2018.

AGUASPARANÁ (2018). Instituto das Águas do Paraná. **Sistema de Informações Hidrológicas: Relatório de Alturas de Precipitação**. Disponível em: <<http://www.aguasparana.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=264>>. Acesso: 10 de mar. 2018.

AGUIRRE, N. C.; CABRERA, F. A. V. Evaluating the fruit production and quality of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v. 65, n. 2, p. 6593-6604, 2012.

AKKAYA, M. S.; BHAGWAT, A. A.; CREGAN, P. B. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. **Genetics**, v. 132, n. 4, p. 1131-1139, 1992.

ALVARENGA, Marco A. R., et al. Cultivares. In: Alvarenga, M.A.R. **Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2ª Ed. Lavras. Editora Universitária de Lavras, 2013. p. 49- 59.

ARAGÃO, F. A.; RIBEIRO, C. S. D. C.; CASALI, V. W. D.; GIORDANO, L. D. B. Tomato embryo culture for introgression of genes of *Lycopersicon peruvianum* in *L. esculentum*. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 605-610, 2002.

ARAUJO, J. C.; TELHADO, S.F.P.; SAKAI, R.H.; LEDO, C.A.S.; MELO, P.C.T. Univariate and multivariate procedures for agronomic evaluation of organically grown tomato cultivars. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 374-380, 2016.

ARIAS, R.; LEE, T. C.; LOGENDRA, L.; JANES, H. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L\*, a\*, b\* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 5, p. 1697-1702, 2000.

ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant molecular biology reporter**, v. 9, n. 3, p. 208-218, 1991.

BAI, Y.; LINDHOUT, P. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?. **Annals of botany**, v. 100, n. 5, p. 1085-1094, 2007.

BALDWIN, E. A.; GOODNER, K.; PLOTTO, A. Interaction of volatiles, sugars, and acids on perception of tomato aroma and flavor descriptors. **Journal of food science**, v. 73, n. 6, 2008.

BALLESTER, A. R.; MOLTHOFF, J.; VOS, R.; LINTEL HEKKERT, B.; ORZAEZ, D.; FERNÁNDEZ-MORENO, J. P.; YKEMA, M. Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SIMYB12 leads to pink tomato fruit color. **Plant physiology**, v. 152, n. 1, p. 71-84, 2010.

BHATTARAI, K.; LOUWS, F. J.; WILLIAMSON, J. D.; PANTHEE, D. R. Diversity analysis of tomato genotypes based on morphological traits with commercial breeding significance for fresh market production in eastern USA. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 8, p. 1098, 2016.

BISOGNIN, D. A.; CIPRANDI, O.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F. Potencial de variedades de polinização aberta de milho em diferentes condições adversas de ambiente. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.3, n.1, p.29-34, 1997.

BLUME, E.; JARA, A. S. A. Moléstias em tomateiro cultivado em estufas plásticas em quatro municípios da região central do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 661-666, 2004.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American journal of human genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.

BOYHAN, G. E.; TATE, S.; MCNEILL, R; MCCONNAUGHEY, J. Evaluation of Tomato Varieties under Organic Production Practices in Georgia. **HortTechnology**, v. 24, n. 2, p. 252-258, 2014.

BROUWER, B. O.; MURPHY, K. M.; JONES, S. S. Plant breeding for local food systems: A contextual review of end-use selection for small grains and dry beans in Western Washington. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 31, n. 2, p. 172-184, 2016.

BUEREN, E. L. V.; JONES, S. S.; TAMM, L.; MURPHY, K. M.; MYERS, J. R.; LEIFERT, C.; MESSMER, M. M. The need to breed crop varieties suitable for organic farming, using wheat, tomato and broccoli as examples: a review. **NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences**, v. 58, n. 3, p. 193-205, 2011.

CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B. de; BRITO, G. G. de; SAKUYAMA, N. S. Tipos de Marcadores Moleculares. *In*: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2ª Ed. Viçosa, 2009. p. 11-94.

CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D.; GALDINO, J.; BORROZINO, E.; PUGSLEY, L. **Cartas climáticas do Estado do Paraná**. Londrina: Iapar, v. 1, 2000.

CEBOLLA-CORNEJO, J.; ROSELLÓ, S.; NUEZ, F. Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. **Scientia horticulturae**, v. 162, p. 150-164, 2013.

CHAPAGAIN, T.; SUPER, L.; RISEMAN, A. Root architecture variation in wheat and barley cultivars. **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 4, n. 7, p. 849-856, 2014.

CHIME, A. O.; AIWANSOBA, R. O.; EZE, C. J.; OSAWARU, M. E.; OGWU, M. C. Phenotypic characterization of tomato *Solanum lycopersicum* L. cultivars from Southern Nigeria using morphology. **Malaya Journal of Biosciences**, v 4, n. 1, p. 30-38, 2017.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª Ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CORRADO, G.; PIFFANELLI, P.; CARAMANTE, M.; COPPOLA, M.; RAO, R. SNP genotyping reveals genetic diversity between cultivated landraces and contemporary varieties of tomato. **BMC genomics**, v. 14, n. 1, p. 1, 2013.

CORTÉS-OLMOS, C.; LEIVA-BRONDO, M.; ROSELLÓ, J.; RAIGÓN, M. D.; CEBOLLA-CORNEJO, J. The role of traditional varieties of tomato as sources of functional compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 14, p. 2888-2904, 2014.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – CQFS - RS/SC. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 11ª ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – Núcleo Regional Sul. 2016, 376 p.

COSTA, L. V.; BENTES, J. L.; LOPES, M. T.; ALVES, S. R.; VIANA JÚNIOR, J. M. Morphological characterization of Amazon pepper accessions. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 290-298, 2015.

CRUZ, C.D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013

DE OLIVEIRA, S. L.; FERREIRA, M. D.; DE GUTIERREZ, S.D. A. Valoração dos atributos de qualidade do tomate de mesa: um estudo com atacadistas da CEAGESP. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 214-219, 2012.

DICE, L. R. Measures of the amount of ecological association between species. **Ecology**, Washington, v.26, n.3, p.297-307, 1945.

DINSSA, F. F.; HANSON, P.; DUBOIS, T.; TENKOUANO, A.; STOILOVA, T.; HUGHES, J.; KEATING, J. D. H. AVRDC—The World Vegetable Center's women-oriented improvement and development strategy for traditional African vegetables in sub-Saharan África. **European Journal of Horticultural Science**, v. 81, n. 2, p. 91-105, 2016.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. **Isolation of plant DNA from fresh tissue**. Focus. vol. 12, no. 1, p. 13-15, 1990.

EDWARDS, A.; CIVITELLO, A.; HAMMOND, H. A.; CASKEY, C. T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. **American journal of human genetics**, v. 49, n. 4, p. 746, 1991.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro, 2006. 306p.

FAO (2016). **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>>. Acesso: 01 de fev. 2016.

FERREIRA M. E. E.; RANGEL P. H. N. Emprego de espécies silvestres no melhoramento genético vegetal: experiência em outras espécies com análise de retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL). In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 111-140.

FIGUEIREDO, A. S. T.; RESENDE, J. T. V. D.; SCHWARZ, K.; MARODIN, J. C.; GALVÃO, A. G.; RESENDE, N. C. V. Genetic divergence among processing tomato hybrids and formation of new segregating populations. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 3, p. 279-287, 2017.

FLINT-GARCIA, S. A. Genetics and consequences of crop domestication. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 35, p. 8267-8276, 2013.

GEORGE B; KAUR C; KHURDIYA DS; KAPOOR HC. Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. **Food chemistry**, v. 84, n. 1, p. 45-51, 2004.

GOFF, S. A.; KLEE, H. J. Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value?. **Science**, v. 311, n. 5762, p. 815-819, 2006.

GONZALEZ-CEBRINO, F.; LOZANO, M., AYUSO, M. C.; BERNALTE, M. J.; VIDAL-ARAGON, M. C.; GONZALEZ-GOMEZ, D. Characterization of traditional tomato

varieties grown in organic conditions. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 2, p. 444-452, 2011.

HE, C.; POYSA, V.; YU, K. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, n. 2, p. 363-373, 2003.

HEALY, G. K.; EMERSON, B. J.; DAWSON, J. C. Tomato variety trials for productivity and quality in organic hoop house versus open field management. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 32, n. 6, p. 562–572, 2017.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4<sup>a</sup> Edição, 1<sup>a</sup> Edição Digital, São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 1020.

IBGE (2016). **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa>>. Acesso: 01 de fev. 2016.

ІВЧЕНКО, Т. В.; КОПНІЄНКО, С. І.; ГОРОВА, Т. К.; МИРОШНІЧЕНКО, Т. М.; ГУРІН, М. В. Використання біотехнологічних методів у створенні вихідного матеріалу для селекції органічних сортів томата. **Фактори експериментальної еволюції організмів**, v. 17, p. 169-173, 2015.

ICHIHASHI, Y.; SINHA, N. R. From genome to phenome and back in tomato. **Current opinion in plant biology**, v. 18, p. 9-15, 2014.

INNAN, H.; KIM, Y. Pattern of polymorphism after strong artificial selection in a domestication event. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 29, p. 10667-10672, 2004

IQUEBAL, M. A.; ARORA, V.; VERMA, N.; RAI, A.; KUMAR, D. First whole genome based microsatellite DNA marker database of tomato for mapping and variety identification. **BMC plant biology**, v. 13, n. 1, p. 197, 2013.

IPGRI. **Descriptors for Tomato (*Lycopersicon spp.*)**. Rome: Italy. 1996. 44p.

ISAACSON, T.; RONEN, G.; ZAMIR, D.; HIRSCHBERG, J. Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of  $\beta$ -carotene and xanthophylls in plants. **The Plant Cell**, v. 14, n. 2, p. 333-342, 2002.

ISLAM, S.; HOSSAIN, M. K.; HASAN, R.; BASHAR, A.; HUQUE, A. K. M.; ALAM, N. Quantification of Genetic Diversity Analysis For the Improvement of Cultivated Tomato Genotypes. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 45, n. 3, p. 485-491, 2016.

KADER, A. A., MORRIS, L. L., STEVENS, M. A., ALBRIGHT-HOLTON, M. Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 113, n. 5, p. 742-745, 1978.

KARASAWA, M.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; SILVA, M. D.; RIVA, E. M.; AMARAL JUNIOR, A. D. Aplicação de métodos de agrupamento na quantificação da divergência genética entre acessos de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 1000-1005, 2005.

KAUR, S.; JINDAL, S. K.; DHAILWAL, M. S.; CHAWLA, N.; MEENA, O. P. Genetic Diversity Analysis in Elite Lines of Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) for Growth, Yield and Quality Parameters. **GENETIKA**, v. 49, n. 1, p. 329-344, 2017.

KAUR, C.; WALIA, S.; NAGAL, S.; WALIA, S.; SINGH, J.; BHUSHAN SINGH, B.; JAGGI, S. Functional quality and antioxidant composition of selected tomato (*Solanum lycopersicon* L) cultivars grown in Northern India. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 139-145, 2013.

KAVITHA, P.; SHIVASHANKARA, K. S.; RAO, V. K.; SADASHIVA, A. T.; RAVISHANKAR, K. V.; SATHISH, G. J Genotypic variability for antioxidant and quality parameters among tomato cultivars, hybrids, cherry tomatoes and wild species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 5, p. 993-999, 2014.

KHAPTE, P. S.; JANSIRANI, P. Genetic Diversity Studies in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Genotypes. **Trends in Biosciences**, v. 7, n. 15, p. 1958-1961, 2014.

KUMAR, D.; SHUKLA N., KUMAR, V.; SAHU, D. S.; CHANDEL, G. Assessment of genetic variation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes using SSR molecular markers. **Ecology, Environment and Conservation**, v. 22, p. 317-325, 2016.

LEAL, A. A.; MANGOLIN, C. A.; DO AMARAL JÚNIOR, A. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SCAPIM, C. A.; MOTT, A. S.; DA SILVA, M. F. P. Efficiency of RAPD versus SSR markers for determining genetic diversity among popcorn lines. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 01, p. 9-18, 2010.

LIMA, M. F.; MICHEREFF FILHO, M. **Vira-cabeça do tomateiro: sintomas, epidemiologia, transmissão e medidas de manejo**. Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2015. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1026816/1/COT110.pdf>>. Acesso: 27 de dez. 2017.

LIN, T.; ZHU, G.; ZHANG, J.; XU, X.; YU, Q.; ZHENG, Z.; ZHANG, Z.; LUN, Y.; LI, S.; Wang, X.; et al. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. **Nature genetics**, v. 46, n. 11, p. 1220-1226, 2014.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American journal of human genetics**, v. 44, n. 3, p. 397, 1989.

LOPES, N. F.; LIMA, M. G. S. **Fisiologia da produção**. Viçosa: Editora UFV, 2015, 492 p.

LONG, W.; LI, Y.; ZHOU, W.; LING, H. Q.; ZHENG, S. Sequence-Based SSR Marker Development and Their Application in Defining the Introgressions of LA0716 (*Solanum pennellii*) in the Background of cv. M82 (*Solanum lycopersicum*). **PLoS one**, v. 8, n. 12, p. e81091, 2013.

MANTEL, N.. The detection of disease clustering and generalized regression approach. **Cancer Research**, v.27, p.209-220, 1967.

MARIM, B. G.; DA SILVA, D. J. H.; CARNEIRO, P. C. S.; MIRANDA, G. V.; MATTEDI, A. P.; CALIMAN, F. R. B. Variabilidade genética e importância relativa de caracteres em acessos de germoplasma de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 10, p. 1283-1290, 2009.

MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, E. DE LOS A., HERNÁNDEZ-BAUTISTA, A.; LOBATO-ORTIZ, R.; GARCÍA-ZAVALA, J. J.; REYES-LÓPEZ, D. Exploring the breeding potential of Mexican tomato landraces. **Scientia Horticulturae**, v. 220, p. 317-325, 2017.

MATTEDI, A.P.; GUIMARÃES, M.A.; SILVA, D.J.H.; CALIMAN, F.R.B.; MARIM, B.G. Qualidade dos frutos de genótipos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. **Revista Ceres**, v. 58, n. 4, 2011.

MELO, P. C. T.; VILELA, N. J. Desafios e perspectivas para a cadeia brasileira do tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.1, p.154-157, 2005.

MELO, A. P. C.; FERNANDES, P. M.; MELO, C. Solanáceas em sistema orgânico no Brasil: tomate, batata e physalis. **Scientia Agropecuaria**, v. 8, n. 3, p. 279-290, 2017.

MERCATI, F.; LONGO, C.; POMA, D.; ARANITI, F.; LUPINI, A.; MAMMANO, M. M.,; SUNSERI, F. Genetic variation of an Italian long shelf-life tomato (*Solanum*

*lycopersicon* L.) collection by using SSR and morphological fruit traits. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 62, n. 5, p. 721-732, 2014.

MEYER, R. S.; DUVAL, A. E.; JENSEN, H. R. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. **New Phytologist**, v. 196, n. 1, p. 29-48, 2012.

MILLER, J. C.; TANKSLEY, S. D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and applied genetics**, v. 80, n. 4, p. 437-448, 1990.

MIZUBUTI, E.S.G.; MAFFIA, L.A. **Introdução a Fitopatologia**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009, 190 p.

NAIR, A. G.; VIDYA, P.; AMBU, V.; SREEKUMAR, J.; MOHAN, C. Genetic diversity studies in cultivated sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) revealed by simple sequence repeat markers. **International Journal of Advanced Biotechnology Research**, v 7, n. 1, p. 33-48, 2017.

NAKAMURA, T., NAKAMURA, Y., SASAKI, A.; FUJII, M.; SHIROTA, K.; MIMURA, Y.; OKAMOTO, S. Protection of Kyo-yasai (heirloom vegetables in Kyoto) from extinction: a case of Sabaka-daikon (Japan's heirloom white radish, *Raphanus sativus*) in Maizuru, Japan. **Journal of Ethnic Foods**, 2017.

NASCIMENTO, A. R.; SOARES, M.; CALIARI, M.; FERNANDES, P.; RODRIGUES, J.; CARVALHO, W. Qualidade de tomates de mesa cultivados em sistema orgânico e convencional no estado de Goiás. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 628-635, 2013.

NETO J. DOS S.; SCHWAN-ESTRADA K. R. F.; DE SENA J; O; A.; JARDINETTI V. DO A.; ALENCAR M. DOS S. R. Qualidade de frutos de tomateiro cultivado em sistema de produção orgânico e tratados com subprodutos de capim limão. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 4, p. 633, 2016.

NICK, C.; BORÉM, A. **Melhoramento de Hortaliças**. Viçosa, MG: UFV, 2016, 464 p.

NOGUEIRA, D. G.; MALUF, W. R.; NOGUEIRA, D. W.; MACIEL, G. M.; PAIVA, L. V.; DOS REIS FIGUEIRA, A. Marcador microssatélite associado ao alelo Ty-1 de resistência a Begomovirus em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 412-419, 2011.

PERALTA, I. E.; SPOONER, D. M.; KNAPP, S. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; *Solanaceae*). **Systematic Botany Monographs**, v. 84, p. 1-186, 2008.

PEREIRA-CARVALHO, R. D. C.; TOBAR, L.; DIANESE, E. D. C.; FONSECA, M.; BOITEUX, L. MELHORAMENTO GENÉTICO DO TOMATEIRO PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS DE ETIOLOGIA VIRAL: AVANÇOS E PERSPECTIVAS. **RAPP** – Volume 22, 2014.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S.; COSTA, F. Marcadores Moleculares no Pré-Melhoramento de Plantas. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2ª Ed. Viçosa, 2009. p. 103-128.

PRECZENHAK, A. P.; DE RESENDE, J. T. V.; CHAGAS, R. R.; DA SILVA, P. R.; SCHWARZ, K.; MORALES, R. G. F. Qualidade dos frutos e caracterização agrônômica de genótipos de mini-tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 3, 2014.

QUEZADO-DUVAL, A. M., REIS, A., INOUE-NAGATA, A. K., CHARCHAR, J., GIORDANO, L. D. B., & BOITEUX, L. **Cuidados especiais no manejo da cultura do tomate no verão**. Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2007. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/781649/1/cot43.pdf>>. Acesso: 23 de dez. 2017.

RANC, N.; MUÑOS, S.; SANTONI, S.; CAUSSE, M. A clarified position for *Solanum lycopersicum* var. cerasiforme in the evolutionary history of tomatoes (*solanaceae*). **BMC plant biology**, v. 8, n. 1, p. 1, 2008.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research**. John Wiley and Sons, 1952, 390 p.

REGO, E. R. do; REGO, M. M. do; CRUZ, C. D.; CECON, P. R.; AMARAL, D. S. S. L.; FINGER, F. L. Genetic diversity analysis of peppers: a comparison of discarding variable methods. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.3, p.19-26, 2003.

ROCHA, M. C.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; DA SILVA, P. R. A.; DO CARMO, M. G. F.; CARLOS, A. Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Acta Scientiarum Agronomy (Online)**, v. 32, n. 3, p. 423-431, 2010.

ROHLF, R. NTSYS pc version 2.21m. **Numerical taxonomy analysis system for windows**. New York, Exeter Softwares, 2007.

RONEN, G.; CARMEL-GOREN, L.; ZAMIR, D.; HIRSCHBERG, J. An alternative pathway to  $\beta$ -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 20, p. 11102-11107, 2000.

SACCARO Jr, N. L. A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. **Ambiente & Sociedade**, v. 14, n. 1, p. 229-244, 2011.

SANTOS, E.; BETTENCOURT, E. **Manual de apoio à formação e treino em Conservação ex situ de Recursos Fitogenéticos**. Instituto Nacional de Investigação Agrária (INIA), Lisboa, Portugal e Instituto Internacional para os Recursos Fitogenéticos (IPGRI-SSA), Nairobi, Quênia, 2001.

SARDARO, M. L. S.; MARMIROLI, M.; MAESTRI, E.; MARMIROLI, N. Genetic characterization of Italian tomato varieties and their traceability in tomato food products. **Food science & nutrition**, v. 1, n. 1, p. 54-62, 2013.

SILVA, R. F.; ARAÚJO, E.F.; VIGGIANO, J. Extração de sementes de frutos carnosos de hortaliças. *In*: NASCIMENTO, W. M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 432p.

SINGH, K. On the asymptotic accuracy of Efron's bootstrap. **The Annals of Statistics**, p. 1187-1195, 1981.

SINGH, A. K.; RAM, C. N.; YADAV, G. C.; SRIVASTAVA, R. K.; DEO, C.; GAUTAM, D. K.; KUMAR, P. Studies on Genetic Variability, Heritability and Genetic Advance in Tomato [*Solanum lycopersicon* (Mill.) Wettstd.]. **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, v. 5, n. 2, p. 908-912, 2017.

SOBREIRA, F. M.; SOBREIRA, F. M.; FIALHO, G. S.; SÁNCHEZ, C. F. B.; MATTA F. P. Análise de trilha em pós-colheita de tomate tipo salada. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v. 62, n. 1, p. 4983-4988, 2009.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Berlin, v.11, n.1, p.30-40, 1962.

SURESH, B. V.; ROY, R.; SAHU, K.; MISRA, G.; CHATTOPADHYAY, D. Tomato genomic resources database: an integrated repository of useful tomato genomic information for basic and applied research. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e86387, 2014.

SCHWARZ, D.; THOMPSON, A. J.; KLÄRING, H. P. Guidelines to use tomato in experiments with a controlled environment. **Frontiers in plant science**, v. 5,625, 2014.

TENAILLON, M. I; U'REN, J.; TENAILLON, O.; GAUT, B. S. Selection versus demography: a multilocus investigation of the domestication process in maize. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 7, p. 1214-1225, 2004.

THE TOMATO GENOME CONSORTIUM. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. **Nature**, v. 485, n. 7400, p. 635-641, 2012.

TIEMAN, D.; ZHU, G.; RESENDE, M.F.; LIN, T.; NGUYEN, C.; BIES, D.; RAMBLA, J.L.; BELTRAN, K.S.O.; TAYLOR, M.; ZHANG, B. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor. **Science**, v. 355, n. 6323, p. 391-394, 2017.

VALLS, J. F. M. **Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma. Anais do Encontro sobre Recursos Genéticos**. Jaboticabal: FCAV, p. 106-120, 1988.

VARGAS, T. O.; ALVES, E. P.; ABBOUD, A.; LEAL, M. A.; CARMO, M. G. Diversidade genética em acessos de tomateiro heirloom. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 174-180, 2015.

VELPULA, P. K.; PARIHAR, D. S.; PINNAMANENI, R. Genetic Diversity Analysis of Ripening Specific Genotypes Using Potential Public Domain Ssr Markers In Tomato (*Solanum Lycopersicum*). **Journal of Plant Breeding and Genetics**, v. 5, n. 2, p. 39-44, 2017.

VILLELA, J.; BARBIERI, R.; CASTRO, C.; NEITZKE, R.; VASCONCELOS, C.; CARBONARI, T.; PRIORI, D. Caracterização molecular de variedades crioulas de pimentas (*Capsicum baccatum*) com marcadores microssatélites. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 131-137, 2014.

VOGEL, J. T.; TAN, B. C.; MCCARTY, D. R.; KLEE, H. J. The carotenoid cleavage dioxygenase 1 enzyme has broad substrate specificity, cleaving multiple carotenoids at two different bond positions. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 17, p. 11364-11373, 2008.

YU, J.; DOSSA, K.; WANG, L.; ZHANG, Y.; WEI, X.; LIAO, B.; ZHANG, X. PMDBase: a database for studying microsatellite DNA and marker development in plants. **Nucleic acids research**, v. 45, n. D1, p. D1046-D1053, 2017.

ZHOU, R.; WU, Z.; CAO, X.; JIANG, F. L. Genetic diversity of cultivated and wild tomatoes revealed by morphological traits and SSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 13868-13879, 2015.