

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE-UNICENTRO

**CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO, HETEROSE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA
DE TOMATEIROS.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

RAFAEL DE MATOS

GUARAPUAVA

2018

RAFAEL DE MATOS

**CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO, HETEROSE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA
DE TOMATEIROS.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção de título de Mestre.

Prof. Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende
Orientador

GUARAPUAVA

2018

1. Catalogação na Fonte
Biblioteca da UNICENTRO

MATOS, Rafael de.
M433c Capacidade de combinação, heterose e divergência genética de tomateiros. /
Rafael de Matos. – Guarapuava, PR : [s.n.], 2018.
60f.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Área
de concentração em: Produção Vegetal. Universidade Estadual do Centro-
Oeste, PR.

1. Agronomia – produção vegetal. 2. Dissertação – Solanum. 3. Espécies
silvestre. 4. Híbridos. 5. Marcadores moleculares. I. Resende, Juliano Tadeu
Vilela de. II. UNICENTRO. III. Título

CDD 634.42

Rafael de Matos

CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO, HETEROSE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE
TOMATEIROS

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

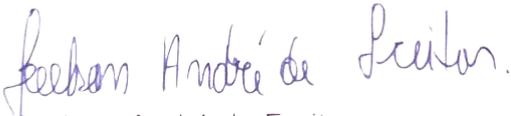
Aprovada em 16 de março de 2018.



Prof. Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende
(UNICENTRO)



Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva
(UNICENTRO)



Dr. Joelson André de Freitas
(BAYER)



Dr. André Ricardo Zeist
(UFLA)

“Há pessoas que desejam saber só por saber, e isso é curiosidade; outras, para alcançarem fama, e isso é vaidade; outras, para enriquecerem com a sua ciência, e isso é um negócio torpe; outras, para serem edificadas, e isso é prudência; outras, para edificarem os outros, e isso é caridade.”

Santo Agostinho

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo a Deus pelo dom da vida, a família como a base de tudo e inspiração para superar os desafios e alimentar a força de vontade, a paciência e a persistência na sustentação das virtudes.

A CAPES pelo fomento da pesquisa científica e a concessão da bolsa que proporcionou minha dedicação exclusiva para o desenvolvimento da pesquisa e o suporte científico para o conhecimento.

Ao núcleo de pesquisa em hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste (NUPH), que desde 2011 faz parte do meu dia a dia, uma segunda casa que me acolheu muito bem, desde sempre foi um verdadeiro laboratório de saber, de discussões e de inspiração para a vida acadêmica, científica e profissional. A todos os integrantes que me auxiliaram de maneira direta e indireta na realização da pesquisa.

Meu agradecimento em especial ao meu orientador Professor Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende que como verdadeiro mestre sempre soube ensinar, aconselhar, guiar e ouvir de maneira exemplar e profissional.

Ao laboratório de genética e biologia molecular vegetal da Universidade Estadual do Centro-Oeste, em especial o Professor Dr. Paulo Roberto da Silva que foi como segundo orientador e a Cláudia Gobatto por sua paciência e dedicação nos desenvolvimentos dos protocolos para a realização desse projeto.

Fabrizio Joaquim de Rocco que contribuiu de forma direta auxiliando no desenvolvimento do campo experimental. Alex Sandro Torre Figueiredo pelas trocas de experiências e conselhos para o desenvolvimento. As empresas em geral que proporcionaram o material genético para o desenvolvimento da pesquisa, esperando que a sociedade possa dispor das informações aqui geradas.

A Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela dedicação e o pronto atendimento da Lucilia da Rosa de Lima e a todos os professores, funcionários, colegas, que de forma direta e indireta contribuíram para o cumprimento de mais essa etapa importante na minha vida e ficarão, de fato, marcados pelas memórias e pelos bons momentos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3. REFERENCIAL TEÓRICO	4
3.1 Contexto geral da cultura do tomateiro	4
3.2 Aspectos do melhoramento genético do <i>Solanum lycopersicum</i>	5
3.3 Híbridos duplos.....	8
3.4 Cruzamentos dialélicos	9
3.5 Diversidade genética e recursos genéticos	11
3.6 Marcadores na cultura do tomateiro	13
3.7 Marcadores moleculares no melhoramento do tomateiro	14
3.8 Referências Bibliográficas	16
4. CAPÍTULO I - CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO E HETEROSE DE HÍBRIDOS F₁ E DIVERGÊNCIA GENÉTICA POR MARCADORES MOLECULARES ISSR EM TOMATEIROS.....	21
4.1 Resumo	21
4.2 Introdução	21
4.3 Material e métodos	23
4.3.1 Campo experimental	23
4.3.2 Tratos Culturais.....	25
4.3.3 Características avaliadas	26
4.3.4 Dados Morfo-agronômicos	26
4.3.5 Extração de DNA e Análises PCR.....	27
4.3.6 Análises estatísticas	28
4.4 Resultados e discussão.....	28
4.4.1 Atributos agronômicos gerais de produção	28
4.4.2 Capacidade geral e capacidade específica de combinação.....	32
4.4.3 Heterose	38
4.4.4 Marcadores ISSR.....	40
4.5 Conclusões	43
4.6 Referências bibliográficas.....	44

5. CAPÍTULO II - RELAÇÃO GENÉTICA ENTRE CULTIVARES CONTEMPORÂNEAS DE TOMATEIRO (<i>Solanum lycopersicum</i>) COM <i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>, <i>Solanum pimpinellifolium</i> e <i>Solanum peruvianum</i>.....	46
5.1 Resumo	46
5.2 Introdução	46
5.3 Material e métodos	48
5.3.1 Material vegetal e extração do DNA	48
5.3.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Eletroforese	49
5.3.3 Análises estatísticas	50
5.4 Resultado e Discussão.....	50
5.5 Conclusões	56
5.6 Referências Bibliográficas	57
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Híbridos F ₁ de tomateiro de mesa comercial utilizados no campo experimental com a qualificação da resistência, tolerância, o tipo de tomate comercial e o tipo de crescimento do tomateiro. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	23
Tabela 1.2. Cruzamentos entre os híbridos F ₁ de tomateiro de mesa com a relação entre receptor e doador de pólen e seus cruzamentos originados em casa de vegetação. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	24
Tabela 1.3. Análise de solo da área experimental do dialelo de tomateiro de mesa. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	25
Tabela 1.4. Análise de variância (ANAVA) com valores de quadrado médio (QM) para características morfo-agronômicas aferidas a campo de híbridos duplos de tomateiro de mesa avaliados em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	29
Tabela 1.4a. Médias dos genitores híbridos F ₁ e dos híbridos duplos relativos aos caracteres de fruto de tomateiro de mesa produzidos em Guarapuava, PR. UNICENTRO, 2018.	30
Tabela 1.5. Resumo da análise do dialelo para capacidade geral (\hat{g}_i) e específica de combinação (\hat{s}_{ij}) das características morfo-agronômicas de híbridos duplos de tomateiro em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	32
Tabela 1.6. Estimativas da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) para características morfo-agronômicas de híbridos F ₁ comerciais de tomateiro conduzidos em Guarapuava, PR. UNICENTRO, 2018.	33
Tabela 1.7. Estimativas de \hat{s}_{ii} e \hat{s}_{ij} para características agrônômicas de 15 híbridos duplos experimentais obtidos por dialelo entre 6 pais híbridos F ₁ comerciais de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	35
Tabela 1.8. Valores quantitativos e percentuais (%) de heterose, observada nas combinações de híbridos duplos, para as características de fruto cultivado em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	38
Tabela 1.9. Relação dos nove primers ISSR utilizados para estimar a variabilidade genética de 6 genótipos de híbridos F ₁ comercial de tomateiro. TA - temperatura de Anelamento, NTFA - número total de fragmentos amplificados, NFP - número de fragmentos polimórficos e PBP - porcentagem de bases polimórficas. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	40
Tabela 1.10. Similaridade genética, estimada por oito <i>primers</i> ISSR entre 6 híbridos F ₁ de tomateiro de mesa. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.	41
Tabela 2.1. Genótipos do banco de germoplasma do núcleo de pesquisas em hortaliças (NUPH) da Universidade Estadual do Centro Oeste e híbridos F ₁ comerciais de empresas privadas utilizados neste trabalho. Guarapuava-PR. UNICENTRO, 2018.	48
Tabela 2.2. Relação dos sete <i>primers</i> ISSR utilizados para estimar a variabilidade e estruturação genética de genótipos de <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> , <i>Solanum pimpinellifolium</i> e <i>Solanum peruvianum</i> - genótipos do tomateiro do núcleo de pesquisas em hortaliças da UNICENTRO. GUARAPUAVA-PR. UNICENTRO, 2018.	51

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1** Estimativas da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) para características morfo-agronômicas de produtividade total (PT) e produtividade comercial (PC) de 6 híbridos F_1 de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 33
- Figura 1.2** Estimativas de \hat{s}_{ii} e \hat{s}_{ij} para características agronômicas de produtividade total e comercial de 15 híbridos duplos e 6 híbridos F_1 de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 37
- Figura 1.3** Valores quantitativos e percentuais (%) de heterose para produtividade total e comercial, observada nas combinações de híbridos duplos em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 39
- Figura 1.4** Dendograma de similaridade entre os genitores híbridos F_1 de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 42
- Figura 2.1.** Dendograma das espécies de tomateiro do banco de germoplasma do núcleo de pesquisa em hortaliças da UNICENTRO utilizadas neste trabalho. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 52
- Figura 2.2.** Análise de Coordenadas Principais (PCoA) com base em dados obtidos com sete marcadores ISSR em 31 genótipos de *Solanum lycopersicum*, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, *Solanum pimpinellifolium* e *Solanum peruvianum* do Núcleo de pesquisas em hortaliças da UNICENTRO. A identificação de cada genótipo encontra-se na Tabela 2.1. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 52
- Figura 2.3.** Determinação do número ótimo de K (clusters-grupos genéticos) em espécies de tomateiro pelo método Bayesiano, com dados obtidos com sete marcadores ISSR. O ponto de intersecção entre o maior valor no eixo Y com o eixo X indica o número ótimo de K (grupos genéticos). Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 53
- Figura 2.4.** Distribuição dos três grupos genéticos (K) obtidos pela análise Bayesiana nos 31 genótipos das espécies de tomateiro *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (1) *Solanum lycopersicum* (2), *Solanum pimpinellifolium* (3) e *Solanum peruvianum* (4) do Núcleo de pesquisas em hortaliças da UNICENTRO. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018. 53

RESUMO

MATOS, R. **Capacidade de combinação, heterose e divergência genética de tomateiros**. Guarapuava: UNICENTRO, 2018. 60p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal).

Os objetivos do trabalho foram (a) determinar a capacidade de combinação, a heterose de híbridos F₁ relacionando os resultados com a diversidade genética dos genitores por meio de marcadores moleculares e (b) determinar a relação genética entre o tomateiro cultivado no Brasil e seus parentais silvestres. O experimento foi conduzido em blocos casualizados, com vinte três genótipos (seis híbridos F₁, quinze híbridos duplos provenientes de dialelo parcial e duas testemunhas) com três repetições. Foram avaliados a produção total e comercial (PC e PT), massa média (MM), diâmetro equatorial (DE), comprimento longitudinal (CL) e inserção do pedúnculo (IP). A estimativa da divergência genética entre os genitores ocorreu pelo coeficiente de similaridade de *Jaccard* com nove *primers* ISSR. A capacidade geral de combinação (CGC) foi significativa para todas as características avaliadas indicando predominância de efeitos gênicos aditivos. A capacidade específica de combinação (CEC) foi significativa apenas para PT, PC e IP. Os efeitos gênicos não aditivos foram expressivos apenas para essas características. A melhor combinação híbrida foi (Dominador x Compack) por apresentar valores positivos nas estimativas de CGC e CEC. Os resultados médios de heterose no geral indicaram uma expressão da heterose muito menor para essas características em híbridos duplos. O dendrograma revelou a formação de três divisões distintas; os híbridos: Dominador, Aguamiel, Plutão e Pietra agrupados. Isoladamente, o híbrido Compack e mais distante geneticamente o híbrido Forty. A relação entre marcadores moleculares e a heterose se relacionaram de maneira sólida, indicando a utilização dos marcadores moleculares como ferramenta de seleção e diferenciação de genótipos. O híbrido Forty foi o que mais se diferenciou geneticamente em ambas as avaliações. Para a divergência das espécies silvestres, trinta e um genótipos do banco de germoplasma do núcleo de pesquisas em hortaliças (NUPH) da UNICENTRO foram utilizados: Nove genótipos de *Solanum lycopersicum*; dez de *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*; seis de *Solanum pimpinellifolium*; seis de *Solanum peruvianum*. Caracterizados utilizando sete *primers*. O dendrograma evidenciou que *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* são mais próximos geneticamente. Já, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* foi o mais distante de todos os outros grupos genéticos. As análises de Coordenadas principais (PCoA) demonstraram alta divergência entre os grupos de genótipos (espécies) com destaque para a variabilidade genética dos híbridos comerciais. A análise Bayesiana evidenciou que a presença de três grupos genéticos é o que melhor explica a variabilidade genética das espécies. A formação de um único grupo envolvendo *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* é solidamente sustentada pela literatura e as cultivares contemporâneas de tomateiro foram mais próximas de *S. pimpinellifolium* devido a eventos de introgressão gênica. *S. peruvianum* pelas características envolvendo a espécie, agrupou-se de maneira isolada, entretanto, devido a genes de interesse, as hibridações introgressivas de genes começam a configurar parte constitutiva do tomateiro. A maior distância genética entre *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* de *S. lycopersicum* pode ser devido a espécie não ter sido intensivamente utilizada como fonte de introgressão de genes no tomateiro contemporâneo, como também não ter introgressão de genes de *S. pimpinellifolium* e de *S. peruvianum*.

Palavras-Chave: *Solanum*, espécies silvestre, híbridos, marcadores moleculares.

ABSTRACT

MATOS, R. **Combining ability, heterosis and genetic divergence in tomato.**

Guarapuava: UNICENTRO, 2018. 60p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal).

Two experiments were conducted, the objectives of this study were (a) to estimate general the combining ability (GCA), specific combining ability (SCA), heterosis in tomato commercial hybrids of single cross and assessing the genetic variation of tomato by ISSR markers; (b) determining the genomic variation from wild ancestors to contemporary tomato variety. This experiment was conducted a total of twenty three genotypes (six commercial hybrids single crosses, fifteen double crosses derived from a partial diallel and two commercial hybrids) in a randomized block design with three replications. It evaluated traits were total production (TP) and commercial production (YC), fruit average mass (MM), fruit width (FW), fruit length (FL), and fruit stalk diameter (FSD). To identify and estimate the genetic diversity of plants was used nine ISSR primers and were based on the on Jaccard's coefficient. There were significant differences between for all traits of estimates for GCA. The SCA were significant differences between treatments for the TP, YC and FSD demonstrating non-additive genes are importante on genetic control of these traits. The best double cross hybrid according to SCA was (Dominador x Compack) for presenting an increase of this ratio in hybrid for TP, YC, MM and FW in GCA. The average heterosis have indicated a much lower expression of heterosis in the double crosses hybrids. The dendrogram revealed difference and separate in three: A-Dominador, Aguamiel, Plutão and Pietra; B-The Compack and more distant the Forty-C. The results suggested significanting between molecular data and GCA, SCA and heterosis, indicating that marker ISSR can be exploited in breeding plant programs targeting superior tomato hybrids and high genetic divergence between the commercial hybrids was observed for the hybrid 'Forty'. The plant material to estimate genomic variation in tomato consisted at thirty one accessions in the germplasm bank of 'núcleo de pesquisas em hortaliças (NUPH) – UNICENTRO'. Ten accessions of *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, nine of *Solanum lycopersicum*, six of *Solanum pimpinellifolium* and six of *Solanum peruvianum*. The dendrogram evidenced that *S. lycopersicum* and *S. pimpinellifolium* was closer genetically. Already, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* was the more distant from all other genetic groups. Principal Coordinate Analysis (PCoA) also showed high genetic variability in genotypes collection with emphasis for the commercial hybrids. The Bayesian analysis evidenced that this genetic variability can be explained by the formation of three genetic groups. The group comprising *S. lycopersicum* and *S. pimpinellifolium* is that strongly supported by literature where the contemporary tomato cultivars were nearest to *S. pimpinellifolium* due to events of gene introgression. *S. peruvianum* formed a separate group due the characteristics involving specifically the specie, but the introgressive hybridizations of genes begin to configure an constitutive part in tomato contemporary. The genetic distance between *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* to *S. lycopersicum* may be due that it isn't used intensively as source to introgression of genes, as well as, *S. pimpinellifolium* and *S. peruvianum* don't have participated the introgression of genes this specie.

Palavras-Chave: *Solanum*, wild ancestors, breeding, double crosses.

2. INTRODUÇÃO GERAL

O *Solanum lycopersicum*, é amplamente cultivado pelo Mundo e de grande importância na cadeia agroindustrial como hortaliça-fruto, além de ser espécie modelo para pesquisas biotecnológicas (NICK & SILVA, 2016). Em 2016, a produção mundial foi 177.042.359 de toneladas com a China (31,87%), Índia (10,39%), EUA (7,36%) e Turquia (7,11%) como maiores produtores. O Brasil produziu 4,16 milhões de toneladas no ano e a projeção da safra em 2017 foi de 3.787.324 de toneladas em uma área de 58.785 hectares (FAOSTAT, 2016; IBGE, 2017).

As ações humanas foram fundamentais para a formação do fruto do tomateiro cultivado. Sua domesticação iniciou na América com os povos que habitavam a região Andina e Central e, posteriormente, propagado pelo Mundo. Atualmente, existe uma enormidade morfológica de plantas e frutos, tornando o tomateiro, assim como o entendimento de sua evolução na linha do tempo, a segregação para formato de fruto e os cruzamentos entre os diferentes tipos comerciais existentes, informações fundamentais para os programas de melhoramento genético.

Um programa de melhoramento genético é iniciado pela escolha dos genitores. Durante toda a história do melhoramento da espécie, aspectos fundamentais como cruzamentos específicos ou em dialelos, segundo CRUZ *et al.*, (2012), fornecem informações e estimativas dos genótipos utilizados dentro de um banco de germoplasma, mas rara ou quase nenhuma informação de hibridação artificial entre híbridos F₁ de tomateiros, ou seja, de híbridos duplos estão disponíveis na literatura. Entender cada ciclo da cultura como um evento único a ser elucidado determinam o rumo de um programa de melhoramento genético e o ganho que se espera em selecionar genótipos com potencial.

A identificação e exploração da diversidade das espécies silvestres de tomateiro foram intensamente utilizadas nos programas de melhoramento desde a década de 40. Desde então, a utilização de híbridos, que detêm maior produtividade e um pacote tecnológico inserido, tem sua aceitação pelos agricultores e torna esse cultivo cada vez mais consolidado (GRANDILLO *et al.*, 2011).

O destaque é a introgressão de genes de importância. Isso trouxe vários benefícios para a sociedade como os traços de resistência e tolerância às pragas e doenças, facilidade de colheita, vida útil de pós-colheita, diminuição da aplicação de agroquímicos, entre diversos outros; por outro lado, as introgressões promoveram um arresto gênico que confinante as variações ambientais, cruzamentos interespecíes e estresses bióticos e

abióticos, tornam essa diversidade de genótipos dentro de uma mesma espécie cada vez mais ampla e distante.

As alterações ambientais ocorridas no planeta nas últimas décadas são cada vez mais recursivas e periódicas, e que, devido a essas condições de estresse ambiental, as variações proteômicas nas plantas foram mais representativas que de uma transgenia. Isso reforça o desafio de procurar instrumentos para auxiliar o entendimento da cultura no seu ciclo e consolida a importância de prever tais fatores em busca de qualidade e produtividade (BATISTA *et al.*, 2017).

Com o mapeamento genético criou-se oportunidades para prever, entender e desvendar diversas dúvidas que antes eram observadas somente no campo. Estudos sobre a ancestralidade do tomateiro são difíceis, pois os cruzamentos e introgressão de genes do último século com espécies silvestres tornaram o tomateiro contemporâneo uma incógnita (STRICLER *et al.*, 2015).

Os marcadores moleculares são ferramentas que possibilitam a seleção e a identificação de divergência genética entre genótipos, tornando a eficiência de estimar o grau de divergência genética dos genitores uma potente ferramenta de seleção para direcionar recursos apenas para a obtenção de genótipos mais promissores. Essas ferramentas quando utilizadas de maneira conjunta, marcadores moleculares, dialelo e avaliações morfo-agronômicas permitem aos melhoristas focar apenas em genótipos com potencial e eliminar etapas nos programas de melhoramento genético do tomateiro.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Determinar a capacidade de combinação e a heterose de híbridos F₁ comerciais relacionando os resultados com a diversidade genética entre os genitores e para seus parentais silvestres por meio de marcadores moleculares.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar a capacidade geral e a capacidade específica dos híbridos F₁ de tomateiro;
- Estimar a heterose dos híbridos duplos;
- Correlacionar os marcadores moleculares com a divergência genética entre os genitores;
- Confirmar que os melhores híbridos provêm das combinações de genótipos divergentes;
- Apresentar viabilidade técnica do cultivo do tomateiro utilizando híbridos duplos;
- Obter informações da relação entre o tomateiro comercial cultivado no Brasil e seus parentais silvestres.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Contexto geral da cultura do tomateiro

O tomateiro, utilizado na América pelos nativos há mais de dois mil anos como cultura, começou a ser consumido somente no século XIX na Europa, mas estava presente desde o século XVI, trazido pelos espanhóis. Pertencente a família Solanaceae, o que se conhece por tomateiro atualmente é um constitutivo de várias outras espécies, entre elas o *Solanum lycopersicum*, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, *Solanum pimpinellifolium* e *Solanum peruvianum*. Essas espécies, entre outras, tem sido objetos de grande interesse nos programas de melhoramento do tomateiro como fonte de resistência às pragas e doenças para o desenvolvimento de variedades de importância comercial (TEUBNER, 2001; NICK & SILVA, 2016).

A planta é uma solanácea herbácea, com caule flexível, podendo ser de crescimento determinado, semi-determinado ou indeterminado, incapaz de suportar o peso dos frutos, não mantendo assim sua posição vertical. Perene, porém seu cultivo é anual e com ciclo variando de quatro a sete meses. Sua floração e frutificação ocorrem juntamente com o crescimento vegetativo, possui folhas pecioladas com número ímpar de folíolos. O fruto é do tipo baga e com diferentes formatos, composto por casca, polpa e as sementes revestidas por uma mucilagem placentária (FILGUEIRA, 2008).

Sua inflorescência é em cimeira, na forma simples, bifurcada ou ramificada de coloração amarela, sendo que as anteras se soldam formando um cone que envolve o estigma. A liberação de pólen ocorre pela lateral, por meio de fendas das anteras no interior do cone, que depositam o pólen por gravidade na entrada do tubo, garantindo a autofecundação. O número de flores é variável e influenciado por oscilações de temperatura que podem variar entre os limites determinados como ótimo para o desenvolvimento da cultura (NICK & SILVA, 2016).

O fruto é uma característica das angiospermas as quais protegem as sementes durante o desenvolvimento embrionário, garantindo a dispersão da semente após a maturação. Nesse caso, é importante salientar a nível botânico, que frutos possuem desenvolvimento a partir dos ovários, essa ampla diversidade de tamanhos de frutos, para forma e composição, é derivada de resultados de forte pressão seletiva do ambiente e humana (AZZI *et al.*, 2015).

A família Solanaceae, que engloba mais de 10.000 espécies, possui grande

variabilidade e os mais diversos tipos de frutos, com cápsulas, drupas, bagas entre outros. Para o tomate, o importante é a parte carnuda, comestível, componente principal para determinação de fruto, com características como: bom equilíbrio entre açúcares e ácidos orgânicos, acúmulo de água, minerais, pigmentos, compostos aromáticos que conferem a ele sua suculência e atratividade (AZZI *et al.*, 2015).

Durante o processo de domesticação do tomateiro, o aumento no tamanho dos frutos quando comparados aos seus parentais silvestres foi substancial. Existe uma variação de forma entre redondos, alongados, oblongos e piriformes que dificultam principalmente na hora de sua classificação para comercialização e aumentam ainda mais o desafio do melhorista na tomada de decisão. Segundo MILLER & TANKSLEY (1990) a variação genética para seus congêneres silvestres é menor que 5%, ou seja, existe muito a ser explorado na espécie do tomateiro cultivado.

O tomate é uma baga multicarpelar e que possui algumas vantagens em pesquisas de pré-melhoramento e agronômicas devido ao seu ciclo de vida curto, alta taxa de multiplicação, autopolinização e o cruzamento mecânico relativamente fácil. O fruto tem como característica ser formado pelo ovário, que se desenvolve, fazendo de sua parede o pericarpo. O pericarpo grosso engloba assim muitas sementes e outras partes da inflorescência, que por sua vez constituem esse envoltório embrionário (GRANDILLO *et al.*, 1999; AZZI *et al.*, 2015).

Em estudos específicos de ordem morfo-agronômicas, HOUGHTALING (1935) identificava a importância do tamanho do ovário para a preleção do tamanho do fruto e que é possível ver essas diferenças em um estágio ainda anterior quando se está iniciando o seu desenvolvimento. Enfim, as características de meristema floral e carpelo são determinados pelo número de células da camada interna no meristema apical, caracterizando por ser um grande importador de nutrientes e exigindo grande quantidade para o desenvolvimento do fruto (SZYMKOWIAK & SUSSEX, 1999).

4.2 Aspectos do melhoramento genético do *Solanum lycopersicum*

Ações antrópicas de seleção artificial tiveram grande influência nessas relações entre o que se observa das características da planta atual do tomateiro e fruto dessas sequências de fatos decorrentes tanto da coleta voluntária como da involuntária realizadas no passado. As sementes propagadas pelo Mundo foram arquitetando os atributos do fruto de acordo com a alimentação de cada cultura e influenciaram o miscigenado que define o

constitutivo gênico do tomateiro contemporâneo (TANKSLEY, 2004).

No Brasil, essa história não foi diferente, afinal no século XX as variedades Rei Humberto, Pera e Perungo, com características de frutos carnosos, de vermelho intenso e tamanho reduzido, predominavam no País. Em 1940 várias outras variedades surgiram e foram divididas na primeira tentativa de padronização para fins de comercialização, surgindo na época, uma hibridação natural entre as cultivares rei Humberto e Redondo Japonês ou Chacareiro chamado de Santa Cruz, justamente por serem cultivados pelos colonos de Santa Cruz no Rio de Janeiro. Rapidamente se difundiram por todo o território nacional e entre as diversas seleções que ocorreram entre os produtores trouxeram novas cultivares, como por exemplo, a cultivar Kada (NICK & SILVA, 2016).

RICK (1979) observou que as espécies da seção *Lycopersicon* foram se desenvolvendo via permuta genética. Esses fatos são baseados nos estudos da biosistemática do *Lycopersicon* e intimamente relacionados com as espécies *Solanum*. As espécies da América Latina, que possuíam o estigma exposto, tinham maior facilidade pela polinização cruzada, porém, com o passar do tempo, as plantas com alta porcentagem de frutificação e estigma curto foram sendo selecionadas, resultando na grande quantidade de cultivares de elevado grau de autopolinização.

De acordo com STEVENS & RICK (1986), foi no século passado que se deu início ao programa de melhoramento genético do tomateiro, na Europa e também nos Estados Unidos. A seleção simples de ocorrência natural, derivada dos cruzamentos entre as variedades, foi praticada no melhoramento antes de 1925. O que ocorreu depois dessa data foi o controle da hibridação com a seleção, desenvolvendo novas variedades, elevando o rendimento, a qualidade e os traços de resistência e tolerância à pragas e doenças.

O tomateiro possui atributos e características desejáveis para um programa de melhoramento de plantas visando obtenção de híbridos como: fácil cultivo, ciclo de vida relativamente curto, grande quantidade de diversidade genética, atributos morfológicos distintos e facilmente identificáveis, elevada autofertilidade e homozigose, grande potencial reprodutivo, facilidade no manejo das polinizações controladas e hibridações, com a disponibilidade de um grande número de variabilidade e mutações, grande conhecimento de sua citogenética e, por fim, uma planta em condições normais de cultivo pode obter de 5.000 a 25.000 sementes.

Os anos 90 foram relativamente um marco para a tomaticultura no Brasil, decorrente dos vários avanços que impactaram no tomateiro de mesa. O principal deles foi com a entrada de cultivares híbridas que produziram frutos com maior conservação pós-

colheita, os tomates longa vida, desenvolvidos pela Agloflora no ano de 1988 com o híbrido Débora VFN. Em consequência disso, o tomateiro de mesa obteve um ganho de 41% na sua produtividade e hoje o mercado de sementes de tomate longa vida representa aproximadamente 55% de híbridos (NICK & SILVA, 2016).

As características observadas no pacote tecnológico, que se define pelas quantidades de qualificações que detêm o híbrido comercial como suas resistências e tolerâncias à pragas e doenças, tolerância a seca, entre outras; exigiu anos de pesquisas e hibridação introgressiva. Os resultados desses avanços contribuíram para um “efeito de gargalo” genético imposto pela autopolinização, seleção artificial e natural, endogamia de genótipos e de uma grande mistura entre e dentro dos genótipos, observadas em alguns estudos pelo mundo (RICK, 1991).

Contudo, as espécies silvestres abasteceram nos últimos anos os bancos de germoplasmas com genes importantes para o avanço do melhoramento do tomateiro para resistência a pragas e doenças, seu hábito de crescimento, formato, entre vários outros, e que agora, identificados e conhecidos por meio de marcadores moleculares e mapas genéticos, contribuem para um avanço mais direcionado, controlado e específico do tomateiro cultivado (LIN *et al.*, 2014).

Atualmente, o gênero *Solanum* seção *Lycopersicon* possui doze espécies catalogadas e identificadas com características de planta herbácea, perene, de vida relativamente curta e, dando ênfase, as espécies selecionadas, em particular as seguintes: *Solanum lycopersicum*, *Solanum pimpinellifolium*, *Solanum peruvianum* e *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*.

O tomateiro cultivado *S. lycopersicum*, por meio da pesquisa científica e do melhoramento, sofreram inúmeros processos de seleção para as mais diversas características, como por exemplo, o formato de fruto com frutos redondos, alongados, periformes e cores para vermelho, amarelo, laranja, chocolate, entre outras características como arquitetura da planta selecionando assim o tipo de crescimento indeterminado e determinado e atualmente com mais uma opção que são plantas com crescimento semi-determinado.

Sobretudo, o que mais se intensificou com a hibridação artificial foram as resistências à pragas e doenças, híbridos com maior tolerância a salinidade, pós-colheita, e mais uma infinidade de trabalhos que destacam a importância da base genética existente e os resultados satisfatório que todas essas pesquisas trouxeram para o agricultor.

4.3 Híbridos duplos

Os híbridos são progênies da hibridização entre duas ou mais variedades de linhas puras ou cultivares de polinização aberta, constituindo-se como simples, duplos ou triplos. A produção de sementes a partir de dois híbridos F_1 potencialmente produtivos é uma estratégia comum em culturas de grãos, que busca ganho genético explorando a sua heterose. Não é tarefa fácil identificar genótipos com desempenhos superiores, pois possuem diferentes níveis de homogeneidade em decorrência da segregação, mas essa segregação pode ser quantificada e previsível (BROWN *et al.*, 2014).

Há anos esses estudos fazem parte de uma série de modelos estatísticos para definir o melhor método para selecionar genótipos superiores e a cultura do milho sempre foi a recordista nos estudos desse tipo de cruzamento. Ao elaborar um campo experimental para testar o comportamento desses híbridos duplos supondo quatro linhagens (AxB) x (CxD), avaliadas de modo que as informações geradas devem conter os dados de genitores. Do início até suas progênies, o processo é gigantesco e trabalhoso, pois para um dialelo dessas quatro linhagens, existe a possibilidade de gerar e avaliar seis materiais sem reciprocidade (SPRAGUE, 1939; ECKHARDT & BRYAN, 1940; COCKERHAM, 1961; EBERHARDT, 1964).

A heterose ou vigor híbrido é o fenômeno em que o desempenho da geração F_1 é superior quando comparado aos seus genitores. Criado por Shull no século XX, serve como base para toda a produção de sementes comerciais. A máxima heterose é identificada na geração F_1 , após é reduzida em razão da endogamia. Dentre algumas hipóteses para a explicação da ocorrência da heterose estão a dominância e a sobredominância.

Os indivíduos se desenvolvem com interação alélica de dominância ou pelo menos de dominância incompleta. Os alelos inferiores ou deletérios são recessivos; caracteres quantitativos são controlados por muitos genes, de tal modo, que a ideia principal pelo cruzamento entre os indivíduos que apresentam diferença nos locos, devido ao grande número de locos em heterozigose, a dominância promove o desempenho da geração F_1 superior aos parentais, gerando assim vigor híbrido – heterose (RAMALHO *et al.*, 2012).

Locos em heterozigose possuem comportamento superior quando relacionados a locos homozigotos, a própria heterozigose seria responsável pela heterose. Os híbridos F_1 possuem em teoria o máximo de heterozigose. Contudo, a possibilidade de total contraste entre dois indivíduos são coincidências que com os avanços da biologia molecular a possibilidade dessa ocorrência não é tão convincente.

Merrell em 1975, com uma observação específica da cultura do tomateiro para tamanho de fruto, onde o cruzamento de duas linhagens, uma com poucos frutos de grande calibre e outra com muitos frutos de calibre pequeno na geração F₁, originou frutos intermediários, alegando uma interação alélica aditiva, em que heterose é dada pela interação dos genes dos dois caracteres decorrente da epistasia (RAMALHO *et al.*, 2012).

Desse modo, poucos estudos envolvendo a utilização de híbridos duplos, seu desempenho e segregação para características de interesse para o tomateiro são encontrados na literatura. Isso ocorre, possivelmente, devido a fatores que envolvem o rendimento inferior de progênies para atributos principais como o de produtividade e de pós-colheita, que impactam no destino final da pesquisa, ou seja, gerar informação com o fim de um interesse comercial.

Junto a isso, ocorre a segregação dos genes de interesse como de quebra da resistência à pragas e doenças, uniformidade para o tamanho e para o formato de fruto. A falta de conhecimento específico do comportamento em nível molecular das qualidades organolépticas e morfológicas do fruto podem a ser mais bem elucidados com o auxílio e a implantação da biotecnologia nos processos de seleção.

Tendo em vista alguns estudos sobre híbridos simples, duplos e triplos em tomateiro os resultados para heterose são elevados em suas progênies, e para algumas características o potencial em selecionar híbridos duplos e triplos são viáveis. Porém, no geral, os híbridos de cruzamento duplos são inferiores quando comparados aos híbridos simples abrangendo o conjunto de parâmetros relacionados com rendimento, envolvendo genitores superiores (AHMAD *et al.*, 2011; FAROOQ *et al.*, 2012; ASHAKINA *et al.*, 2015;).

4.4 Cruzamentos dialélicos

Os cruzamentos dialélicos são todos os possíveis cruzamentos dentro de um determinado grupo de genótipos. Permite a detecção de progenitores, cruzamentos superiores e possibilita ao melhorista eleger qual o método de melhoramento genético mais eficiente, além da possibilidade de estimar os diversos parâmetros genéticos.

Iniciado por Yates em 1947, a metodologia para as análises de variância de tabelas dialélicas foi sendo modificada e novas formas e modelos propostos surgiram, como de Griffing em 1956 e Gardner e Eberhart em 1966 (OLIVEIRA *et al.*, 1987)

A metodologia mais utilizada nos programas de melhoramento genético consiste na

análise de cruzamentos em pares entre genótipos, possibilitando aquisição de estimativas de capacidade combinatória, estimativas da heterose e do controle genético das características (MALUF, 2001; RAMALHO *et al.*, 2012). Essa análise permite a opção de testar um modelo fixo ou aleatório e assim propôr quatro métodos de herança dialélica:

- Primeiro modelo: inclui os genitores, híbridos F_1 e seus recíprocos totalizando $2n$;
- Segundo modelo: inclui genitores e híbridos F_1 , totalizando $n + (\frac{1}{2} * n * (n-1))$;
- Terceiro modelo: considera híbridos F_1 e seus recíprocos $= n*(n-1)$;
- Quarto modelo: considera apenas híbridos $F_1 = (\frac{1}{2} * n * (n-1))$.

A análise dialélica por meio do procedimento de GRIFFING (1956) cria a possibilidade de se estimar a capacidade geral de combinação (CGC) e a capacidade específica de combinação (CEC) que foram definidas por SPRAGUE & TATUM em 1942. Refere-se ao desempenho médio de uma linhagem em uma série de cruzamentos associando os efeitos aditivos dos alelos, enquanto a outra, o desvio de um cruzamento específico em relação aos cruzamentos em geral, incluído aos efeitos dos desvios de dominância (CRUZ *et al.*, 2012).

Quando a estimativa de CEC é superior a CGC, os efeitos não aditivos atuam na expressão gênica da característica, de tal modo que se tornam mais pronunciados que os efeitos aditivos. Todavia, quando as estimativas de CGC e CEC apresentam valores próximos, os efeitos aditivos e não aditivos são de mesma importância na expressão gênica da característica estudada (SPRAGUE & TATUM, 1942; CRUZ *et al.*, 2012).

Para tais efeitos se refletirem no campo, diversos estudos ocorreram desde o surgimento dos cruzamentos dialélicos e que comprovam a eficiência desse tipo de análise para a identificação de genótipos em potencial.

Alguns deles, em análise combinatória na seleção de linhagens de tomateiro em híbridos do tipo italiano, de processamento e de mesa, identificaram as predominâncias dos efeitos gênicos nas características de produção de fruto, massa média, diâmetro, conservação pós-colheita, formação de frutos, teor de sólidos solúveis e diversos outros atributos. Os resultados favoreceram a obtenção de linhagens superiores por meio de seleção de genótipos em populações com segregação provenientes de combinações híbridas (ANDRADE-JÚNIOR *et al.*, 2001; ANDRADE *et al.*, 2014; FIGUEIREDO *et al.*, 2017).

Quando a seleção é feita nas gerações de elevada frequência heterozigótica acrescida da ação gênica, existe ainda a manifestação fenotípica do efeito de ambiente que atua de forma direta ou indireta sobre o caráter de rendimento e demais caracteres

agronômicos importantes nessa seleção. Estes fatores, juntamente com solo heterogêneo e a dificuldade de seleção de ambientes variados acabam em erro experimental, para isso, é desejável em gerações com elevada frequência heterozigótica, procedimentos experimentais e estatísticos que possibilitem a partição da variância fenotípica em componentes genéticos (BENIN *et al.*, 2005).

Na atualidade, o avanço da era digital permitiu a utilização de infinitas possibilidades de análises estatísticas, comprovação da fidelidade dos dados, confirmando a maior confiabilidade dos resultados obtidos. Isso aumenta as chances de sucesso dos programas de melhoramento genético e realiza experiências confiáveis. Diante dessas ferramentas digitais, parâmetros genéticos podem ser estimados e os fenômenos biológicos interpretados, porque a criação intensiva de diferentes espécies e a complexidade dos traços mais importantes exige o uso de critérios de seleção cada vez mais precisos (CRUZ, 2013).

4.5 Diversidade genética e recursos genéticos

Por décadas, o estudo envolvendo a escolha de progenitores de sucesso no programa de melhoramento genético está relativamente associado na ampla variabilidade genética decorrente da diversidade existente entre os genitores envolvidos. A quantificação da heterose nos cruzamentos é a demonstração dessa diversidade genética. Ela também pode ser observada mediante processos preditivos, tomando por base as diferenças agrônomicas, fisiológicas e morfológicas entre genótipos dispensando a obtenção prévia de combinações híbridas (FALCONER, 1996).

Para auxiliar na classificação desses genótipos em grupos selecionando progenitores com características desejáveis de hibridação existe a possibilidade de um agrupamento. A avaliação desse material genético disponível, que por meio dessa diversidade genética existente e baseada em evidências científicas, são informações importantes para elucidar fatores que levaram a evolução da espécie, sua localização e para a realização do intercâmbio de recursos genéticos existentes (SHIMOYA, 2002).

A espécie, em geral, é diplóide ($2n=2x=24$). Seu centro de domesticação envolve certas discussões sobre o tema com duas hipóteses sendo a primeira do Peru com a domesticação do *Solanum lycopersicum* e a segunda no México (NICK & SILVA, 2016).

Estudos sobre a realidade de como essa domesticação se sucedeu e como essa introgressão foi realizada durante todos esses anos ficaram ainda mais elucidadas com o

advento de técnicas de caracterização morfológica aliada com genotipagem por meio de SNP's. Tais técnicas promoveram uma classificação que decorreram a partir do *S. pimpinellifolium* para *S. lycopersicum* var. *ceraciforme* regionalizados entre Equador e Peru e sucedido por *S. lycopersicum* var. *ceraciforme* para *Solanum lycopersicum* var. *lycopersicum* na América Central (MONFORTE *et al.*, 2014; BLANCA *et al.*, 2015; NICK & SILVA, 2016).

Para tal, essa diversidade genética existente, foi mediada por genes de aumento de massa média e segundo LIN *et al.* (2014) essa transição se desenvolveu como um fluxo gênico evolucionário de *S. pimpinellifolium* para *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* e para *S. lycopersicum*. Grande parte dos estudos envolvendo essa análise populacional se complementa e cada vez mais se elucida no âmbito de como essas três espécies se relacionam intensamente quando o assunto é a introgressão de genes em suas formações genéticas.

Como todo programa de melhoramento envolvendo interesses econômicos, o objetivo principal é a introgressão de alelos que codifiquem caracteres de interesse agrônomicos. A variabilidade, apesar das hibridações introgressivas ocorridas durante todo esse tempo, mostra não ser realmente visível, e uma das causas principais é o “efeito de gargalo” que ocorre durante a domesticação de uma espécie, nesse caso o tomateiro. A consequência disso tudo é o estreitamento da base genética, tornando essas espécies mais vulneráveis a estresses bióticos e abióticos (FOOLAD, 2007; NICK & SILVA, 2016).

Essas introgressões na estrutura genética da planta foram determinantes no rumo seguido pelos programas de melhoramento. Iniciado pela identificação e seleção de genes nas espécies de interesse e sua importância para determinar a constituição desses bancos de germoplasmas de acordo com os elementos formadores desses recursos.

Juntamente a isso, desencadeou-se um arraste no tocante aos genes oriundos dessa introgressão e decorrente permuta. Alguma delas, como a resistência a pinta preta, doença comum no tomateiro controlado por meio da interação de genes de efeitos menores e influenciados pelo ambiente, identificados nas espécies *Solanum habrochaites*, *S. pimpinellifolium* e *S. peruvianum*.

Doenças bacterianas, mesmo não sendo de resultados muito satisfatórios com efetividade a campo, foram mapeadas nas espécies *S. habrochaites*, *S. lycopersicon*, *S. peruvianum*, *S. pennelli* e no *S. pimpinellifolium*. Para nematoides tem sido usado extensivamente para o desenvolvimento de cultivares de tomateiro resistente o *S. peruvianum*, acesso PI 128657 (NICK & SILVA, 2016).

4.6 Marcadores na cultura do tomateiro

Os marcadores são ferramentas importantes quando se busca caracterizar um determinado genótipo, caracterizados como morfológicos, bioquímicos, de DNA e de RNA. A era da genômica oferece para uma seleção com maior precisão e direta nas culturas contemporâneas a possibilidade da leitura do seu genoma determinadas na criação de novidades tecnológicas de sequenciamento genético e nas abordagens dessas ferramentas com grande aplicação no melhoramento genético e sua importância como ferramenta de seleção (LIN *et al.*, 2014).

Não obstante, na cultura do tomateiro, organismo modelo, a primeira cultivar sequenciada a Heinz 1706, abriu um leque de possibilidades quando envolve a combinação de métodos tradicionais com as inúmeras ferramentas biotecnológicas nos programas de melhoramento para obtenção de novas cultivares, diminuindo um dos principais gargalos do setor que é o tempo (THE TOMATO GENOME CONSORTION, 2012; NICK & SILVA, 2016).

A influência do ambiente no melhoramento genético é o fator onde permeia todas as decisões para se determinar a viabilidade ou não de um determinado genótipo produtivo, seu local para desenvolvimento, seu lançamento como novo material de mercado e como age em suas características morfo-agronômicas.

Com o avanço da genética molecular, as reações que envolvem o melhoramento em laboratório passaram a fazer parte das tomadas de decisões antes mesmo do material ser testado no campo, e principalmente, os marcadores de DNA se tornaram uma fundamental ferramenta do melhoramento genético na criação de novos híbridos.

Para que se tenha qualidade de extração do DNA para desenvolver as análises necessárias, a técnica eficiente para isolar o material genético que não contenha contaminantes e em quantidade é elemento principal. Aliado a isto, as técnicas de leituras e identificação do polimorfismo presente ou ausente no produto da amplificação cada vez mais se consolidam e demonstram sua importância para identificar a variabilidade existente dentro de uma população de plantas cultivadas ou silvestres, como a das Solanáceas (MULLIS & FALOONA 1987; ZIETKIEWICZ *et al.*, 1994; PREVOST & WILKINSON, 1999; SHARMA *et al.*, 2008)

Na cultura do tomateiro, o avanço obtido pela utilização da genômica, se refletiu de modo muito positivo para o melhoramento da espécie. Houve um resgate de toda a herança

genética que ainda detêm os materiais silvestres, como sendo uma ferramenta para inserção de genes de interesse desses genótipos.

De outro lado, a possibilidade de estudos relacionados com a identificação de uma parte da história de alguns genomas coletados pelo Mundo, sendo eles, *S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* e *S. lycopersicum*, dez resistentes a doenças e alguns híbridos comerciais, elaborando um minucioso sequenciamento de 360 genótipos que geraram um conjunto de dados SNP's (Single nucleotide polymorphisms) disponibilizaram para o melhoramento e reprodução do tomateiro uma série de informações importantes (LIN *et al.*, 2004).

Estudos como esse reforçam uma teoria, obviamente, que de longo prazo, da reestruturação ou redefinição do que atualmente é o tomateiro contemporâneo, afinal, esse sequenciamento e a criação dos mapas facilitam a separação de genes de características favoráveis por meio de seleção assistida.

Desde quando SOLLER & BECKMANN (1983) utilizaram os marcadores moleculares no melhoramento de plantas o avanço que se observa é rápido e preciso, pois esses segmentos de DNA fisicamente ligados que determinam características de interesse, podem ser evidenciado por métodos que combinam enzimas de restrição com hibridização entre sequências complementares de DNA como a técnica PCR (polymerase chain reaction). Esse recurso, de certo modo, ilimitado em número, de fácil detecção e com herança simples e previsível e não afetado pelo meio, pode ser utilizado para diversos fins (ALZATE-MARIN, *et al.*, 2005).

4.7 Marcadores moleculares no melhoramento do tomateiro

A vantagem é sua reprodutibilidade, pois seguem como característica principal a herança mendeliana de marcadores dominantes. A técnica de ISSR é um método que é baseado em PCR, envolve a amplificação do segmento de DNA presente a uma distância amplificável entre duas regiões repetidas de microssatélites idênticas orientadas em direção oposta. As repetições de microssatélites usadas como iniciadores podem ser di-nucleótidos, tri-nucleotídeos, tetranucleotídeos ou penta-nucleotídeos, geralmente com 16 a 25 pb de comprimento.

A Seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) já faz parte do vocabulário do melhoramento genético de muitas culturas de interesse econômico, devido a sua correlação existente entre a seleção de uma determinada característica com a base no

genótipo do marcador (NICK & SILVA, 2016).

Mas segundo FOOLAD & PANTHEE (2012) os resultados dessas seleções e como a utilização dessas novas tecnologias tem proporcionado resultados nos programas de melhoramento genético do tomateiro estão de posse das empresas do setor privado, dificilmente essas informações chegam até a literatura, criando um vazio de informação da eficiência dessas hibridações por introgressão no âmbito do conhecimento científico, seus benefícios, suas conquistas e seus fracassos.

Com o aumento da aplicação da biotecnologia, os custos dessa aplicação em comparação aos anos anteriores são bem menores e diminuem cada vez mais com o passar do tempo. No entanto, longe de ser ainda uma implantação que envolva custos relativamente baixos quando aplicados diretamente pelo empregador.

A utilização da SAM, para fins de aumento da precisão e da eficiência na seleção, promove uma visão dos marcadores pelo controle da variação fenotípica envolve somente a variação genética dos indivíduos, não havendo fator ambiente, porém, sua eficiência é observada em programas em que as características de interesse são de controle monogênico (FOOLAD, 2007).

No tomateiro é comumente utilizada para avaliação de pureza de híbridos por meio de *screening* nos germoplasmas, identificando resistência a doenças, a pragas, na qualidade de frutos e retrocruzamentos assistidos, e principalmente, observando o controle genético da característica de interesse, como exemplo prático para critério de seleção para resistência a nematoides, o marcador isoenzimático APS⁻¹. O tomateiro possui 27 mapas genéticos determinantes para a aplicação constante desses marcadores dentro dos programas de melhoramento da cultura. As plataformas atuais que disponibilizam os recursos genômicos do *Solanum lycopersicum* estão a Sol Genomics Network, que armazena e disponibiliza informações de recursos genômicos, genéticos, transcritos fenotípicos das Solanáceas (BOMBARELY *et al.*, 2011).

Estudos como de WOLFE *et al.* (1998) e REDDY *et al.* (2002) reforçam a qualidade e precisão de se testar variabilidade genética em plantas cultivadas por meio de marcadores ISSR, devido a vários fatores, entre eles: pequenas quantidades de DNA podem ser usadas; pequenos volumes de reação e quantidades de enzimas são necessárias para PCR; variabilidade dos padrões de bandas; facilidade de *score* dos padrões de bandas sem necessidade de aparelhos sofisticados para leituras e apresentam níveis mais altos de polimorfismo quando comparados a outros tipos de marcadores .

Diversas são as aplicações dos marcadores ISSR's na cultura do tomateiro. Uma

delas para identificar divergência genética entre genótipos TIKUNOV *et al.* (2003) utilizaram nove de quatorze *primers* para distinguir todas as espécies de tomateiro analisados em seu estudo, originando uma árvore filogenética das cinco espécies de tomateiro.

Identificar marcadores moleculares para qualidade de frutos e como alterações ambientais como altas temperaturas podem ser previstas e identificadas através da alteração genética na planta, fazem parte de alguns estudos proporcionados pela aplicação de marcadores no melhoramento genético (LIN *et al.*, 2010).

4.8 Referências Bibliográficas

AHMAD, S.; QUAMRUZZAMAN, A. K. M.; ISLAM, M. R. Estimate of heterosis in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Bangladesh journal of agricultural research**, v.36, n.3, p. 521-527, 2011.

ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.04, p. 333-342, 2005.

ANDRADE, M.C.; SILVA, A.A.; CONRADO, T.V.; MALUF, W.R.; ANDRADE, T.M.; OLIVEIRA, C.M. Capacidade combinatória de linhagens de tomateiro em híbridos do tipo italiano. **Bragantia**, v.73, n.3, p.237-245, 2014.

ANDRADE-JÚNIOR, V.C.; MALUF, W.R.; AZEVEDO, S.M.; GOMES, L.A.A.; FARIA, M.V. Avaliação do potencial agrônômico e da firmeza pós-colheita de frutos em híbridos de tomateiro. **Ciência e agrotecnologia**, v.25, n.03, p. 489-502, 2001.

ASHAKINA, A.; HASANUZZAMAN, M.; ARIFUZZAMAN, M.; RAHMAN, M. W.; KABIR, M. Performance of single, double and three-way cross hybrids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Journal of food agriculture & environment**, v.14, n.01, p. 71-77, 2016.

AZZI, L.; DELUCHE, C.; GÉVAUDANT, F.; FRANGNE, N.; DELMAS, F.; HERNOULD, M.; CHEVALIER, C. Fruit growth-related genes in tomato. **Journal of experimental botany**, v.66, n.04, p.1075-1086, 2015.

BATISTA, R.; FONSECA, C.; PLANCHON, S.; NEGRÃO, S.; RENAUT, J.; OLIVEIRA, M. O. Stress is the major cause of transcriptomic and proteomic changes in GM and non-GM plants. **Nature**, v.7, n.01, p.1-12, 2017.

BENIN, G; CARVALHO, F. I. F; OLIVEIRA, A. C; HARTWIG, I; SCHMIDT, D; VIEIRA, E. A; VALERIO, I.P; SILVA, J.G. Estimativas de correlações genotípicas e de ambiente em gerações com elevada frequência de heterozigotos. **Ciência rural**, v.35, n.03, p.523-529, 2005.

BLANCA, J.; MONTERO-PAU, J.; SAUVAGE, C.; BAUCHET, G.; ILLA, E.; DÍEZ, M. J.; FRANCIS, D.; CAUSSE, M.; VAN DER KNAAP, E.; CAÑIZARES, J. Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. **BMC genomics**, v.16, n.257, p. 1-19, 2015.

BOMBARELY, A.; MENDA, N.; TECLE, I.Y.; BUELS, R.M.; STRICKLER, S.; FISCHER-YORK, T.; PUJAR, A.; LETO, J.; GOSSELIN, J.; MUELLER, L. A. The Sol Genomics Network (solgenomics.net): growing tomatoes using Perl. **Nucleid acids research**, v.39, n.01, p. D1149–D1155, 2011.

BRASIL. IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, 2013. 84p.

BROWN, J.; CALIGARI, P. D. S.; CAMPOS, H. A. **Plant Breeding**. 2. Ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2014. 278p.

COCKERHAM, C. C. Prediction of double crosses from Single Crosses. **Zuechter**, v.37, n.01, p. 160-169, 1991.

CRUZ, C. D. Genes a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta scientiarum agronomy**, v.35, n.03, p. 271-276, 2013.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. **Modelos biométricos aplicados ao Melhoramento genético**, 4. Ed. Viçosa: UFV, 2012, 514p.

EBERHART, S. A. Theoretical relations among single, three-way, and double cross hybrids. **Biometrics**, v.20, n.3, p.522-539, 1964.

ECKHARDT, R. C.; BRYAN, A. A. Effect of the method of combining the four inbred lines of a double cross of maize upon the yield and variability of the resulting hybrid. **Journal american society agronomy**, v.32, n.01, p. 34-53, 1940.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. 4. Ed. London: Pearson, 1996. 480 p.

FAO. 2016. Faostat – Statistics Database. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em 06 de fevereiro de 2018.

FAROOQ, A. M.; NASIR, I. A.; TABASSUM, B.; TARIQ, M.; QAMAR, Z.; KHAN, M. A.; AHMAD, N.; HAIDER, M. S.; ANWAR, W.; JAVED, M. A.; HUSNAIN, T. Development and comparative studies of double cross tomato hybrids. **African journal of agricultural research**, v.7, n.37, p. 5259-5264, 2012.

FIGUEIREDO, A.S.T.; RESENDE, JTV, 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.03, p. 279-287, 2017.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na**

produção e comercialização de hortaliças 3. Ed. Viçosa: UFV, 2008, 421p.

FOOLAD, M. R. Review: genome mapping and molecular breeding of tomato. **International journal in plant genomics**, v.01, 52 p, 2007.

FOOLAD, M. R.; PANTHEE, D. R. Marker-assisted selection in tomato breeding. **Critical reviews in plant sciences**, v.31, n.02, p. 93-124, 2012.

GRANDILLO, S.; CHETELAT, R.; KNAPP, S.; SPOONER, D.; PERALTA, I.; CAMMARERI, M.; PEREZ, P.; TERMOLINO, P.; CHIUSANO, M. L.; ERCOLANO, M.R.; FRUSCIANTE, L.; MONTI, L.; PIGNONE, D. From *Solanum* sect. *Lycopersicon*. In: KOLE, C. **Wild crop relatives: genomic and breeding resources**. Vegetables. 1 Ed. New York: Springer, 2011, p.129-215.

GRANDILLO S.; KU H. M.; TANKSLEY S. D. Identifying loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato. **Theoretical and applied genetics**, v.99, n.06, p. 978–987, 1999.

GRIFFING, B. A. generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. **Heredity**, v.10, n.01, p.31-50, 1956.

HOUGHTALING, H. B. A developmental analysis of size and shape in tomato fruits. **Bull torrey bot club**, v.62, n.05, p. 243-252, 1935.

LIN, T.; ZHU, G.; ZHANG, J.; XU, X.; YU, Q.; ZHENG, Z.; ZHANG, Z.; LUN, Y.; LI, S.; WANG, X.; HUANG, Z.; LI, J.; ZHANG, C.; WANG, T.; ZHANG, Y.; WANG, A.; ZHANG, Y.; LIN, K.; LI, C.; XIONG, G.; XUE, Y.; MAZZUCATO, A.; CAUSSE, M.; FEI, Z.; GIOVANNONI, J. J.; CHETELAT, R. T.; ZAMIR, D.; STÄDLER, T.; LI, J.; YE, Z.; DU, Y.; HUANG, S. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. **Nature genetics**, v.46, n.11, p. 1220-1228, 2014.

MALUF, W.R. Heterose e emprego de híbridos F₁ em hortaliças. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO I. S.; VALADARES, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001, cap.13, p. 327-350.

MILLER, J. C.; TANKSLEY, S. D. analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and applied genetics**, v.80, n.01, p.437-448, 1990.

MONFORTE, A. J.; DIAZ, A.; CAÑO-DELGADO, A.; VAN DER KNAAP, E. The genetic basis of fruit morphology in horticultural crops: lessons from tomato and melon. **Journal of experimental botanic**, v.65, n.16, p. 4625-4637, 2014.

MULLIS, K.B.; FALOONA, F.A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods in enzymology**, v.155, n.21, p. 335-350, 1987.

NICK, C.; SILVA, D. J. H. Melhoramento de tomate. In: NICK, C.; BOREM, A. **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. cap.13, p.396-431.

OLIVEIRA, A. C.; MORAIS, A. R.; SOUZA JÚNIOR, C. L.; GAMA, E. E. G.; Análise

de cruzamentos dialélicos parciais repetidos em vários ambientes. **Revista Brasileira de Genética**, v.10, n.03, p. 517-533, 1987.

PREVOST, A.; WILKINSON, M.J. A new system of comparing PCR partidores applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. **theoretical and applied genetics**, v.98, n.01, p.107-112, 1999.

RAMALHO, M. P. R.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P.; SOUZA, E. A. GONÇALVES, F. M. A; SOUZA, J. C. **Genética na agropecuária**. 5. Ed. Lavras: UFLA, 2012. 565p.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E.A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v.128, n.01, p. 9-17, 2002.

RICK, C. M. Biosystematic studies in Lycopersicon and closely related species of Solanum. In: HAWKES, J. G.; LESTER, R. N.; SKELDING, A. D. **The biology and taxonomy of Solanaceae**, Londres: Linnean Society of London by Academic Press, 1979, p. 667–677.

RICK, C. M. Tomato resources of South America reveal many genetic treasures. **Diversity**, v.7, n.01, p.54–56, 1991.

SHARMA, K.; AJAY K.M.; RAJ S.M. A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. **African journal of biotechnology**, v.7, n.08, p.1018-1022, 2008.

SHIMOYA, A.; CRUZ, C.D.; FERREIRA, R.P.; PEREIRA, A.V.; CARNEIRO, P.C.S. Divergência genética entre acessos de um banco de germoplasma de capim-elefante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, N.07, p.971-980, 2002.

SOLLER, M. & BECKMANN, J.S. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. **Theoretical applied genetics**. v.67, n.01, p.25-33, 1983.

SPRAGUE, G. F. An estimation of the number of top crossed plants required for adequate representation of a corn variety. **Journal american society agronomy**, v.31, n.01, p. 11-16, 1939.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the american society of agronomy**, v.34, n.10, p. 923-932, 1942.

STEVENS, M. A.; RICK, C. M. Genetics and breeding. In: ATHERTON, J. G.; RUDICH, J. **The Tomato Crop: A Scientific Basis for Improvement**. New York: Springer Science & Business Media, 1986, p. 35-109.

STRICKLER, S. R.; BOMBARELY, A.; MUNKVOLD, J. D.; YORK, T.; MENDA, N.; MARTIN, G. B.; MUELLER, L. A. Comparative genomics and phylogenetic discordance of cultivated tomato and close wild relatives. **PeerJ**, v.3, n.01, p.1-19, 2015.

SZYMKOWIAK, E. J.; SUSSEX, I. M. The internal meristem layer L3 determines floral meristem size and carpal number in tomato periclinal chimeras. **Plant cell**, v.4, n.09, p.

1889-1100, 1992.

TANKSLEY, S. D. The Genetic, Developmental, and Molecular Bases of Fruit Size and Shape Variation in Tomato. **The plant cell**, v.16, n.06, p. S181-S189, 2004.

TEUBNER, C. **Food the world of food**. 2. Ed. Munique: Teubner, 2001, 335p.

TIKUNOV, Y. M.; KHRUSTALEVA, L. I.; KARLOV, G.I. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. **Euphytica**, v.131, n.01, p. 71-80, 2003.

TOMATO GENOME. 2012. Disponível em:
<https://solgenomics.net/organism/Solanum_lycopersicum/genome> acessado em dezembro de 2017.

WOLFE, A. D.; XIANG, Q. Y.; KEPHART, S. R.; Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. **Molecular ecology**, v.07, n.01, p. 1107-1125. 1998.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v.20, n.02, p. 176-183, 1994.

5. CAPÍTULO I

CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO E HETEROSE DE HÍBRIDOS F₁ E DIVERGÊNCIA GENÉTICA POR MARCADORES MOLECULARES ISSR EM TOMATEIROS.

5.1 Resumo

O objetivo foi determinar a capacidade de combinação e a heterose de híbridos F₁ comerciais relacionando com a diversidade genética dos genitores por meio de marcadores moleculares. O experimento foi conduzido em blocos casualizados, contendo 23 genótipos (6 Híbridos F₁ comerciais, 15 Híbridos duplos (HD) e 2 testemunhas) com três repetições, totalizando 69 tratamentos. Foram avaliadas características relacionadas a produção total (PT) e comercial (PC), massa média (MM), diâmetro equatorial (DE), comprimento longitudinal (CL). Foram utilizados *primers* ISSR para estimar a divergência genética entre os genitores por meio do coeficiente de similaridade de Jaccard. O método de agrupamento utilizado foi UPGMA. A capacidade geral de combinação (CGC) foi significativa para todas as características avaliadas indicando predominância de efeitos gênicos aditivos. Com relação a capacidade específica de combinação (CEC), esta foi significativa apenas para PT, PC e IC o que evidencia que os efeitos gênicos não aditivos foram expressivos apenas para essas características. Os resultados médios de heterose no geral indicaram uma expressão muito menor para essas características em HD. O melhor cruzamento que indica a melhor combinação híbrida é (Dominador x Compack) por apresentar valores positivos nas estimativas de CGC e CEC. Individualmente, Dominador e Compack obtiveram valores positivos para PT e PC, MM e DE para estimativas \hat{g}_i . A similaridade entre os genótipos gerou o dendrograma separando os genótipos em três partes. O primeiro um grupo formado por 4 híbridos, Dominador e Aguamiel mais similares, com proximidade ao híbrido simples Plutão e mais distante no grupo o híbrido Pietra. O segundo isolado Compack e o terceiro e mais distante o Forty. A relação entre marcadores moleculares e os resultados obtidos com a CGC, CEC e a heterose no campo experimental se relacionaram de maneira sólida, indicando que a utilização dos marcadores como ferramenta para a seleção e diferenciação de genótipos no pré-melhoramento é bastante importante.

Palavra-chave: *Solanum lycopersicum*, dialelo, melhoramento, híbridos duplos.

5.2 Introdução

Identificar e explorar a diversidade presente nos genótipos de tomateiro comercial, além de fornecer base de informação para os programas de melhoramento genético, auxilia na diminuição de gargalos provocados pela intensa introgressão de genes de importância agrônômica ocorrida no último século. A agricultura moderna avança na área da genômica para o melhoramento das espécies enfatizando a produtividade, resistência a estresses bióticos e abióticos e trazem questionamentos sobre a eficiência do melhoramento em longo prazo e perguntas relativas à hibridação introgressiva de genes agindo diretamente

na alteração do tomateiro (FOOLAD, 2007).

Desde início de sua domesticação até meados do século passado, caracterizava a exploração da variabilidade dos materiais silvestres utilizados na sua base genética, uma fração muito pequena quando comparada a variabilidade inicial disponível e inserida nas características das plantas comerciais. Essa história acaba mudando de figura com a hibridação artificial que impulsionou a agricultura com a possibilidade de transferir esses traços úteis do banco de genótipos existente e que foram perdidos em alguma fase dessa linha de tempo (MILLER & TANKSLEY, 1990).

A produção mundial de tomate foi alavancada por essas modificações, a adoção de cultivares híbridas, além de serem mais produtivas, quando comparadas às cultivares de polinização aberta, possuem um pacote tecnológico. O pacote tecnológico, no contexto geral, inclui diversos atributos como uniformidade, qualidade organolépticas do fruto, resistências, pós-colheita, precocidade, entre vários outros (NICK & SILVA, 2016).

O conhecimento dessas características de produção, a capacidade combinatória e a heterose proporcionam escolher de acordo os parentais divergentes envolvidos nesse esquema de cruzamentos dialélicos e gera informações para o futuro identificando híbridos superiores.

Pesquisas com melhoramento genético podem influenciar diretamente na tomada de decisão em diferentes partes componentes da cadeia econômica do tomateiro de mesa, trazendo benefícios diretos na diminuição dos custos de produção, na conservação e disponibilização de novos genótipos.

A distinção por meio de marcadores moleculares fornece a diferença genética existente entre os genótipos estudados e a caracterização morfo-agronômica quantitativa e qualitativa demonstra o desempenho e padrões fenotípicos do campo experimental. Marcadores moleculares são ferramentas poderosas que auxiliam na tomada de decisão antes mesmo dos genótipos irem a campo para serem testados. Para tal, o marcador demonstra sua eficiência quando é capaz de diferenciar indivíduos dois a dois (GRATIVOL *et al.*, 2011).

Aliado a resultados expressivos no campo experimental, as tomadas de decisões se tornam concretas e decisivas. Com esse propósito desenvolveu-se o trabalho com o objetivo de determinar a capacidade de combinação e a heterose de híbridos F₁ comerciais relacionando os cruzamentos obtidos com a diversidade genética entre os genitores por meio de marcadores moleculares.

5.3 Material e métodos

5.3.1 Campo experimental

O experimento foi conduzido durante os meses de fevereiro de 2016 a maio de 2017 na área experimental do Núcleo de Pesquisas em Hortaliças – NUPH e no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) localizada no município de Guarapuava – PR (25°22'59"S e 51°29'43"W) e altitude 1.100 m o clima da região é classificado como Cfb, segundo Köppen, solo do tipo Latossolo Vermelho Distroférico.

Os genótipos utilizados no campo experimental foram desenvolvidos a partir de híbridos simples de tomateiro de mesa estão descritos na Tabela 1.1

Tabela 1.1 Híbridos F₁ de tomateiro de mesa comercial utilizados no campo experimental com a qualificação da resistência, tolerância, o tipo de tomate comercial e o tipo de crescimento do tomateiro. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

Nome Comercial	Empresa	Resistência/Tolerância	Tipo
Pietra™	Sakata Seeds Sudamérica®	Vd1, Fol:1/2, ToMV estirpe 1, Mi: 1/2/3/4, Mj TSWV	Caqui Indeterminado
Compack™	Monsoy®	ToMV:0-2,TSWV, Fol:1,2, For, Va:1, Vd:1, Ma, Mi, Mj	Caqui Indeterminado
Forty™	Syngenta®	Va1, Fol: 1/2, For Cf: a/b/c/d/e, Es, Pst, Cb, ToMV, TSWV, Mi, Mj, Ma	Caqui Indeterminado
Dominador	Agristar®	Fol: 0,1, For, Ma, Mi, Mj, ToMV, TYLCV, Va e Vd	Caqui Indeterminado
Aguamiel™	Vilmorin Brasil®	ToMV, Va: 0, Vd: 0, Fol 0,1,2, Sl, TSWV: 0; IR: Ma, Mi, Mj, TYLCV	Santa Cruz Indeterminado
Plutão™	Blueseeds®	Va, Vd, Fol 1/2, ToMV, Mi, Mj, Ma	Italiano Indeterminado
*Alambra™	Clause®	Va:1, Vd:1, Fol ½, ToMV, Cf: a/b/c/d/e, Ma, Mi, Mj	Caqui Indeterminado
*Pizzadoro™	Nunhems®	ToMV; Vd: 1; Fol 0/1; Mi, Mj, Ma; Pst	Italiano Indeterminado

Vd: *Verticillium dahliae*; Va: *Verticillium albo-atrum*; Fol: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; For: *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*; ToMV: Tomato mosaic vírus; Mi: *Meloidogyne incognita*; Mj: *Meloidogyne javanica*; TSWV: Tomato spotted wilt vírus; Cf: *Cladosporium fulvum*; Es: *Stemphylium solani*; Pst: *Pseudomonas syringae* pv tomato; Cb: *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*; TYLCV: Tomato yellow leaf curl vírus. *Testemunhas 1 e 2 do experimento.

Foram desenvolvidos os cruzamentos por hibridização artificial em casa de vegetação entre os Híbridos F₁ comerciais. Posteriormente, foi realizada seleção para o

campo experimental dos genitores e organizados conforme os cruzamentos obtidos (tabela 1.2).

Na primeira etapa foi realizada a hibridação artificial, dispostas em linha, as plantas denominadas maternas eram marcadas com fio de lã de cores diferentes para cada flor que recebia pólen de ordem paterna, acompanhados até o momento da retirada e tratamento das sementes, que após tratadas, foram acondicionadas em saco de papel e ambiente controlado, marcados de forma que, o primeiro número correspondia a planta que fora receptora de pólen: genótipo materno; o segundo número doador do pólen: genótipo paterno conforme (Tabela 1.2). Essa primeira etapa foi de março de 2016 até julho de 2016 para a obtenção dos genótipos do dialelo a campo.

Tabela 1.2 Cruzamentos entre os híbridos F₁ de tomateiro de mesa com a relação entre receptor e doador de pólen e seus cruzamentos originados em casa de vegetação, Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

NHD*	Progenitor materno		Progenitor paterno		Cruzamento
1.	P2	Compack™	P1	Pietra™	2x1
2.	P3	Forty™	P1	Pietra™	3x1
3.	P3	Forty™	P2	Compack™	3x2
4.	P4	Dominador™	P1	Pietra™	4x1
5.	P4	Dominador™	P2	Compack™	4x2
6.	P4	Dominador™	P3	Forty™	4x3
7.	P5	Aguamiel™	P1	Pietra™	5x1
8.	P5	Aguamiel™	P2	Compack™	5x2
9.	P5	Aguamiel™	P3	Forty™	5x3
10.	P5	Aguamiel™	P4	Dominador™	5x4
11.	P6	Plutão™	P1	Pietra™	6x1
12.	P6	Plutão™	P2	Compack™	6x2
13.	P6	Plutão™	P3	Forty™	6x3
14.	P6	Plutão™	P4	Dominador™	6x4
15.	P6	Plutão™	P5	Aguamiel™	6x5

*NHD: Número de híbridos duplos de tomateiro de mesa.

No campo experimental foi utilizado delineamento de bloco com os tratamentos ao acaso, com 23 genótipos em três repetições, totalizando 69 parcelas. A semeadura foi realizada no dia 10 de dezembro de 2016 em bandejas de poliestireno com 128 células e substrato comercial, conduzidas em casa de vegetação durante o período de 30 dias.

Durante esse período foram irrigadas com microaspersão automática duas vezes ao dia por aproximadamente 5 (cinco) minutos. Os canteiros foram levantados com encanteirador elevando o camalhão a aproximadamente 35 cm de altura por 1,20 m de largura e 35 m de comprimento.

Foi colocado o *mulching* e as linhas duplas de gotejo para irrigação e fertirrigação e utilizado cano pvc para o corte das covas no *mulching* e o transplante das mudas no campo experimental realizado dia 10 de janeiro de 2017.

5.3.2 *Tratos Culturais*

Conforme análise de solo realizou-se a calagem buscando a correção pelo método de V% de acordo com a análise contida na (Tabela 1.3.) com V% = 80, portanto, na área experimental foi utilizado calcário calcítico para correção da relação entre Ca:Mg.

O aporte inicial foi realizado de acordo com o Manual de Adubação do Rio Grande do Sul, com adição no sulco da linha de gotejo 100 kg N ha⁻¹, 460 kg de P₂O₅ ha⁻¹ e 400 kg ha⁻¹ de K₂O, com 2/3 antes do transplântio e o restante aplicado na cova ao redor da planta, próximo ao colo, 35 dias após o transplântio. Para o aporte inicial foram utilizados as fontes sulfato de amônio (21% N), super fosfato simples (18% P₂O₅ + 12% Ca) e cloreto de potássio (61% K₂O). Durante todo o ciclo foi utilizado na fertirrigação o produto PG mixTM 14-16-18 da Yara®.

Tabela 1.3 Análise de solo da área experimental do dialelo de tomateiro de mesa. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

Área do CEDETEG		Data: 05/09/2016											
230255	Tomate	pH	Mo	P	Complexo (cmmol/dm ³)							CTC pH 7	
		CaCl ₂	g/dm ³	Mehlich mg/dm ³	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB			
		4,7	37,3	3,7	0,29	2,2	1,6	0,3	5,02	4,11	9,13		
Saturações (%)				mg/dm ³							Relação entre cátions		
V%	M%	Ca	Mg	K	S	B	Fe	Cu	Mn	Zn	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
45	7,0	24,3	17,5	3,2	7,4	0,27	38,1	0,8	16,5	1,8	1,4/1	7,7/1	5,5/1

Fonte: Laudo técnico elaborado pela Tecsolo®.

A irrigação foi realizada com duas linhas de gotejo por canteiro, espaçados 0,2 cm com vazão de 450 litros/hora conectados a uma caixa d'água com capacidade para 5.000 L e divididos em duas partes para homogeneidade de distribuição por gravidade.

Para a tutora dos tomateiros foram colocados palanque em cada linha de plantio na altura de 1,80 m com arame liso de bitola 17 mm com suporte de bambu a cada 5 plantas. Para a tutora dos genótipos foi disposto dois fitilhos por planta para a condução de dupla haste por planta.

Foram feitas duas capinas manuais no ciclo todo nos corredores e foi utilizado o controle com agroquímicos para o controle de insetos-praga e doenças seguindo as recomendações para a cultura. Foi realizada a adubação foliar com Cálcio e Boro e a fertirrigação utilizando o produto da YARA PG mixTM 14-16-18.

5.3.3 Características avaliadas

Ao total foram realizadas seis colheitas durante o experimento. O ponto de colheita foi quando no mínimo 80% do fruto apresentava coloração vermelha. Na primeira e segunda colheita, os frutos foram pesados com auxílio de balança digital e medidos individualmente, com auxílio de paquímetro digital: o diâmetro equatorial, comprimento longitudinal e diâmetro da inserção de pedúnculo.

Nas demais colheitas os frutos foram classificados conforme determinação comercial moderna nas classes assim designadas com a relação entre o diâmetro longitudinal e o diâmetro equatorial, divididos em formato tipo I menor que 0,90 (Caqui), II entre 0,90 e 1,00 (Saladete), III entre 1,00 e 1,15 (Santa Cruz) e IV maior que 1,15 (Italiano) e, por fim, pesados e quantificados também os frutos com defeitos, deformados e amarelos.

As características produtivas foram quantificadas da seguinte forma: produtividade total (PT) calculado pelo somatório total do peso dos frutos colhidos em cada parcela (kg ha^{-1}); produtividade comercial (PC) pelo peso total dos frutos comerciáveis descartando os frutos com defeitos e amarelos distribuídos na parcela quantificados em (kg ha^{-1}); massa média (MM) totalizado entre a relação do peso total dos frutos colhidos divididos pela quantidade de frutos produzidos (g fruto^{-1}); diâmetro equatorial (DE) aferido pelo diâmetro da região equatorial de cada fruto (mm); comprimento longitudinal (CL) aferido pelo diâmetro entre o pedúnculo e a terminação do fruto (mm); altura de primeira penca (APP) altura entre a primeira penca com frutos e o colo da planta (cm) e diâmetro peduncular (DP) obtido pelo diâmetro da cicatriz peduncular do fruto (mm).

5.3.4 Dados Morfo-agronômicos

Para as análises estatísticas foram utilizados os programas: Statística® para standardize dos dados, Cluster e componentes principais e, bem como as análises de normalidade por Shapiro Wilk ($p < 0,05$). SISVAR® para o teste de Análise de Scott-Knott, Genes® para as análises de Variância (ANAVA), para as definições de capacidade geral de combinação (CGC), capacidade específica de combinação (CEC) e heterose. Estimaram-se os erros associados aos tratamentos para PT, PC, PM, DE, CL, APP e DP. Posteriormente, submeteram os erros ao teste da análise de variância, visando testar a normalidade por Shapiro Wilk ($p < 0,05$). Constatado a aptidão do erro submeteram-se os valores a análise de

variância. O modelo estatístico segue descrito abaixo:

$$Y_{ij} = mg + t_i + b_j + e_{ij} \text{ em que:}$$

Y_{ij} : é o valor observado para a variável em estudo referente ao tratamento i no bloco j ;

mg : média geral; t_i : é o efeito do tratamento i ;

b_j : é o efeito do bloco j ;

e_{ij} : é o erro associado a observação Y_{ij}

5.3.5 Extração de DNA e Análises PCR

Foram conduzidos no laboratório de Genética e Biologia Molecular Vegetal da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) durante os meses de maio de 2017 a janeiro de 2018. Inicialmente coletaram-se folíolos de tomateiro, que foram levados até o laboratório, onde se procederam a extração e quantificação do DNA, PCR e análise dos géis. Os genótipos utilizados para a extração do DNA foram os pais do campo experimental no desenvolvimento do dialelo sendo eles: (Pietra™) da empresa Sakata Seeds Sudamérica®; (Compact™) da empresa Monsoy®; (Forty™) da empresa Syngenta®; (Dominador™) da empresa Agristar®; (Aguamiel™) da empresa Vilmorin Brasil®; (Plutão™) da empresa Bluseeds®.

Para a extração do DNA foram utilizadas folhas jovens das plantas coletadas e armazenadas em nitrogênio líquido até o momento da extração do DNA. Na extração do DNA foi utilizado o método proposto por Sharma *et al.* (2008). O tecido vegetal foi esmagado com o auxílio de nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino. Em microtubos contendo 100 mg de tecido macerado foi adicionado 1mL de tampão de extração composto por: 20mM EDTA (Ácido etilenodiamino tetra-acético), 100mM Tris-HCl pH 8,0 (Tris, hidroximetil, aminometano), 2M NaCl (Cloreto de sódio), 2% CTAB (Brometo de cetil trimetilamônio), 2% PVP (Polivinolpirrolidona) e 2% de β -mercaptoethanol. Foram adicionados às amostras 5 μ L de proteinase K (10 mg/mL) e as mesmas foram incubadas a 37 °C por 30 min. Em seguida os microtubos foram levados ao banho-maria a 65 °C por 30 min. O DNA foi separado da solução por precipitação com fenol:clorofórmio:alcoólisoamílico (25:24:1) e centrifugação. Posteriormente, foram adicionados 200 μ L de NaCl (Cloreto de Sódio) 2M contendo 4% de PEG (Polyethylene Glycol) e as amostras foram incubadas a 4 °C por 15 min. As amostras foram submetidas a centrifugação e o sobrenadante foi isolado. O DNA foi precipitado pela adição de 400 μ L de isopropanol gelado e as amostras foram incubadas a -20 °C por 20 min. Duas lavagens

com 200µL de etanol 75% e 0,1 volumes de acetato de sódio 3M foram realizadas para obtenção de um material genético com alto grau de pureza. Após a extração, o DNA foi ressuspenso em 50µL de TE (10mM Tris-HCl; pH 8,0; 1mM EDTA), tratado com RNase a 10 mg/mL⁻¹, incubado a 37 °C por 30 min e armazenado a -20 °C até o uso. A quantificação do DNA e confirmação da sua integridade foi realizada por eletroforese em gel de agarose 0,9% corado com brometo de etídio (0,5 µg mL⁻¹). Como padrão foram utilizadas concentrações conhecidas do DNA Fago λ (50 e 100 ng).

Para as análises foram testados 9 *primers* ISSR. As reações de amplificação do DNA de cada genótipo via PCR foram conduzidas em um volume final de 12,5 µL contendo: 20 ng de DNA; 0,2µM de primer; 200 µM de cada dNTP; 1,5 mM de MgCl₂ e 1 U de Taq DNA Polimerase e 1X de tampão para PCR. Termociclador foi programado para uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 45s, temperatura de anelamento dos primers por 45s e 72°C por 90s, e por fim 72°C por 5 minutos para extensão final dos fragmentos. Os produtos de amplificação foram resolvidos por eletroforese em gel de agarose 1,8% corado com brometo de etídio (0,5 µg mL⁻¹). Para determinação do tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado o marcador de peso molecular DNA Ladder 100 bp. O resultado da eletroforese foi visualizado em luz UV e fotodocumentador digital.

5.3.6 Análises estatísticas

A partir da leitura dos géis foi gerada uma matriz binária em que os indivíduos foram genotipados quanto à presença (1) e ausência (0) de bandas, dando origem a matriz para cálculo da divergência genética, estimada pelo coeficiente de *Jaccard*, utilizando o Software NTSYSpc 2.1. A formação do dendograma teve como princípio o método de agrupamento de médias aritméticas não ponderadas (UPGMA).

5.4 Resultados e discussão

5.4.1 Atributos agronômicos gerais de produção

Houve diferença estatística em todas as características avaliadas de acordo com o teste F ($p < 0,01$) (Tabela 1.4.) e significativo em todos os atributos avaliados. E pelo teste de Scott-Knott (Tabela 1.4a.) com F ($p < 0,05$) no mínimo dois híbridos são diferentes

estatisticamente em todos os atributos avaliados.

Tabela 1.4 Análise de variância (ANOVA) com valores de quadrado médio (QM) para características morfo-agronômicas aferidas a campo de híbridos duplos de tomateiro de mesa avaliados em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

FV	GL	QM			
		PT	PC	MM	
Tratamentos	22	668,12 **	650,72**	2.620,17**	
Blocos	2	47,43	64,38	7,23	
Resíduo	44	57,27	69,81	411,25	
Total	68	-	-	-	
CV (%)	-	12,15	14,29	12,75	

FV	GL	QM			
		DE	CL	APP	IP
Tratamentos	22	195,68 **	76,70**	105,84**	27,72**
Blocos	2	3,54	0,82	16,72	5,53
Resíduo	44	15,65	25,11	12,18	1,21
Total	68	-	-	-	-
CV (%)	-	5,87	8,03	7,54	8,60

** significativo pelo teste de F ($P < 0,01$). PT: Produtividade total; PC: Produtividade Comercial; MM: Massa média; DE: Diâmetro equatorial; CL: Comprimento longitudinal; APP: Altura de primeira penca e IP: Inserção de pedúnculo. FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação.

Para os atributos de produtividade total o destaque é para os cruzamentos entre pais (Aguamiel x Compack) com 86,92 t ha⁻¹ e (Dominador x Compack) 85,19 t ha⁻¹ que obtiveram maior média, com observação também para a produtividade total dos genitores, Aguamiel e Compack que obtiveram a segunda maior média de produtividade total, diferindo estatisticamente das duas testemunhas o Pizzadoro e o Alambra (Tabela 1.4a.).

Na produtividade comercial, oito cruzamentos obtiveram médias superiores às testemunhas: (Forty x Pietra); (Dominador x Pietra); (Dominador x Compack); (Dominador x Forty); (Aguamiel x Pietra); (Aguamiel x Compack); (Aguamiel x Forty); (Aguamiel x Dominador). Forty e Plutão obtiveram médias de produtividade total e comercial inferiores aos cruzamentos e as testemunhas, diferindo estatisticamente de todos os genótipos avaliados (Tabela 1.4a.).

Para o atributo massa média, o destaque é para os cruzamentos (Compack x Pietra), (Forty x Pietra), (Forty x Compack) e (Dominador x Compack) que obtiveram maior massa média dos cruzamentos avaliados com 191,55 g fruto⁻¹, 205,02 g fruto⁻¹, 187,05 g fruto⁻¹ e 205,96 g fruto⁻¹, respectivamente, bem como os genitores, Dominador e Compack, que obtiveram médias superiores às testemunhas, diferindo estatisticamente, nesse atributo, do restante do campo experimental com 188,20 g fruto⁻¹ e 192,00 g fruto⁻¹.

O cruzamento (Plutão x Aguamiel), Plutão e a testemunha Pizzadoro foram os genótipos com menor média no atributo massa média com 100,31 g fruto⁻¹, 105,64 g fruto⁻¹

e 110,49 g fruto⁻¹ (Tabela 1.4a.).

Tabela 1.4a Médias dos genitores híbridos F₁ e dos híbridos duplos relativos aos caracteres de fruto de tomateiro de mesa produzidos em Guarapuava, PR. UNICENTRO, 2018.

HÍBRIDOS	PT t ha ⁻¹	PC t ha ⁻¹	MM (g fruto ⁻¹)	DE (mm)	CL (mm)	APP (cm)	IP (mm)
Compack x Pietra	56,14 c	43,73 b	191,55 a	76,72 a	57,38 b	45,93 b	14,24 c
Forty x Pietra	73,90 b	71,11 a	205,02 a	77,09 a	61,16 b	48,91 a	16,03 b
Forty x Compack	54,58 c	53,84 b	187,05 a	76,51 a	65,72 a	49,11 a	14,45 c
Dominador x Pietra	67,83 b	66,27 a	167,19 b	71,48 b	56,41 b	46,54 b	14,83 b
Dominador x Compack	85,19 a	83,03 a	205,96 a	78,41 a	60,14 b	48,25 a	15,95 b
Dominador x Forty	66,78 b	65,88 a	165,29 b	69,31 b	59,00 b	51,43 a	14,93 b
Aguamiel x Pietra	76,38 b	71,82 a	162,02 b	65,09 c	59,82 b	44,27 b	13,61 c
Aguamiel x Compack	86,92 a	76,78 a	159,75 b	69,06 b	64,35 a	47,61 a	11,18 d
Aguamiel x Forty	67,67 b	60,89 a	138,81 c	64,34 c	61,66 b	50,23 a	13,08 c
Aguamiel x Dominador	70,23 b	65,86 a	139,33 c	63,83 c	63,68 a	45,40 b	9,45 e
Plutão x Pietra	58,65 c	48,14 b	153,28 c	65,91 c	63,53 a	43,11 b	14,22 c
Plutão x Compack	51,20 c	47,11 b	144,65 c	62,89 c	66,57 a	44,88 b	12,25 c
Plutão x Forty	61,88 c	53,79 b	149,16 c	63,80 c	68,53 a	42,27 b	11,27 d
Plutão x Dominador	52,00 c	47,84 b	146,18 c	61,95 c	63,23 a	41,84 b	8,59 e
Plutão x Aguamiel	56,00 c	49,96 b	100,31 d	50,68 d	71,83 a	42,50 b	7,75 e
Pietra	58,36 c	56,21 b	165,29 b	71,44 b	55,07 b	50,60 a	15,13 b
Compack	68,93 b	65,45 a	188,20 a	75,62 a	57,96 b	45,00 b	13,92 c
Forty	29,44 d	27,20 c	178,47 b	74,01 a	59,08 b	49,19 a	13,75 c
Dominador	74,07 b	72,46 a	192,00 a	73,92 a	59,24 b	50,50 a	19,55 a
Aguamiel	84,61 a	80,83 a	135,01 c	61,70 c	69,65 a	50,41 a	7,36 e
Plutão	30,21 d	29,87 c	105,64 d	50,67 d	69,26 a	43,63 b	10,11 d
Alambra	61,57 c	57,49 b	166,36 b	71,10 b	53,37 b	57,67 a	13,83 c
Pizzadoro	51,61 c	48,93 b	110,49 d	54,82 d	68,55 a	25,16 c	8,80 e
Média	62,78	58,46	159	67,40	62,40	46,27	12,79

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, pertencem ao mesmo grupo de acordo com o teste estatístico de Scott Knott ($p < 0,05$). Produtividade total (PT), produtividade comercial (PC), massa média (MM), diâmetro equatorial (DE), comprimento longitudinal (CL), altura de primeira penca (APP) e inserção de pedúnculo (IP).

Diâmetro equatorial é importante para a classificação do tomateiro de mesa do tipo caqui, pois define seu calibre ou sua classificação comercial, quanto maior esse diâmetro, maior valor agregado no fruto, naturalmente, os cruzamentos entre os genitores com essa característica (Tabela 1.4a.) obtiveram maiores médias (Compack x Pietra), (Forty x Pietra), (Forty x Compack) e (Dominador x Compack) 76,72 mm, 77,09 mm, 76,51 mm e 78,41 mm respectivamente. Entre os genitores Compack, Forty e Dominador com 75,62 mm, 74,01 mm, 73,92 mm obtiveram maiores médias para esse atributo. Somente o cruzamento entre (Plutão x Aguamiel) com 50,68 mm ficou com a média mais baixa entre os cruzamentos, seguido dos genitores Plutão e a testemunha Pizzadoro.

O comprimento longitudinal é importante, pois determina o formato para a seleção na classificação moderna do fruto para comercialização, de modo que sua relação com o diâmetro equatorial define seu tipo, podendo ser caqui, santa cruz e italiano se essa relação for menor que 0,90 (caqui), entre 1,00 e 1,15 (santa cruz) e maior que 1,15 (italiano) (CQH-CEAGESP, 2003). Para essa característica, praticamente todos os cruzamentos

envolvendo os genitores para formato de fruto do tipo santa cruz (Aguamiel) e italiano (Plutão) obtiveram médias superiores para esse atributo, juntamente com a testemunha Pizzadoro do tipo italiano.

O atributo de altura de primeira penca não determinou uma influência direta na produtividade dos genótipos e a menor distância da primeira inserção floral foi da testemunha Pizzadoro. Porém, sua produtividade não refletiu em quantidade de frutos ou de pencas por planta, visto que, sua produtividade foi menor que muitos genótipos do campo experimental.

A inserção de pedúnculo reflete no aspecto visual do fruto e indiretamente no pós-colheita aumentando em tese sua durabilidade. Os cruzamentos (Aguamiel x Dominador), (Plutão x Dominador) e (Plutão x Aguamiel) 9,45 mm, 8,59 mm e 7,75 mm, respectivamente, e o genitor Aguamiel com 7,36 mm, não diferiram da testemunha Pizzadoro com o diâmetro 8,80 mm com os menores diâmetros de inserção de pedúnculo no fruto. A maior média de inserção de pedúnculo nos frutos foi 19,55 mm do genitor Dominador.

Quando comparados a média nacional do tomate levantada pelo IBGE (2017) que na expectativa de safra foi de 64,18 t ha⁻¹, alguns dos materiais híbridos duplos, em particular os genótipos seguidos de letra a e b para PT descritos na tabela 1.4a, obtiveram um desempenho acima da média. Porém ao analisar a produtividade com os padrões de adensamento utilizados nos cultivos atuais realizados por muitos produtores, com o número maior de plantas por hectare conseguiu-se produtividades superando as 150 t ha⁻¹.

Para tal, a necessidade de se estabelecer uma viabilidade econômica, diminuindo custos para a produção, principalmente no que se refere à mão de obra, devem ser levado em conta, antes mesmo de se estabelecer a realidade sobre a produtividade dos materiais avaliados. Os cruzamentos entre os híbridos F₁ de classificação diferentes como caqui e italiano, proporcionaram uma segregação que demonstrou três tipos aceitáveis de tomate no mercado atual, entretanto, exige uma classificação manual diferenciada do que ocorre no processo normal e mecanizado.

O detalhe da baixa produtividade, dos híbridos Forty e Plutão observado na pesquisa, podem estar relacionados com fatores ambientais que comprometeram seu desempenho em campo como progenitor. Porém, seu desempenho nos cruzamentos em que estavam envolvidos no campo experimental foram superiores a algumas combinações e também testemunhas (Tabela 1.2a.) ressaltando ainda mais essa pressuposição.

Com relação ao genitor Plutão, essa produtividade está relacionada diretamente

com as características observadas e acompanhadas no campo experimental, de modo específico, elevada incidência de fundo preto, frutos alongados e deformados, baixa adaptabilidade nas condições de ambiente, o que refletiu em todos os resultados de rendimento inclusive oriundos dos seus cruzamentos. Diante disso, a avaliação sobre a produtividade de híbridos duplos de tomateiro, determinada tão somente pelo atributo principal produtividade, não deve ser fator primordial para tomada de decisão.

Aspectos como a segregação de genes do pacote tecnológico envolvendo esses genótipos, devem ser observados e estudados de modo específico para desenvolver informações constitutivas desses bancos de genótipos criados com o intuito de gerar variabilidade, como é o caso das resistências e tolerância a doenças e genes envolvendo aspectos relacionados diretamente no aspecto visual do fruto como os de longa vida.

5.4.2 Capacidade geral e capacidade específica de combinação

A soma dos quadrados foi desdobrada para a capacidade de combinação geral (CGC) e específica (CEC) conforme GRIFFING (1956) pelo Modelo I - Método II contida na tabela 1.5.

Tabela 1.5 Resumo da análise do dialelo para capacidade geral CGC (\hat{g}_i) e específica de combinação CEC (\hat{s}_{ij}) das características morfo-agronômicas de híbridos duplos de tomateiro Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

FV	GL	PT (t ha ⁻¹)	PC (t ha ⁻¹)	MM (g planta ⁻¹)	DE (mm)	CL (mm)	APP (cm)	IP (mm)
Bloco	2	88,10	93,53	27,92	8,70	0,56	12,26	5,34
Tratamentos	20	714,91**	701,27**	2.509,05**	188,83**	66,38**	29,37*	27,88**
CGC	5	1.811,66**	1.785,99**	8408,30**	692,99**	219,32**	66,75**	80,98**
CEC	15	349,33**	339,65**	542,63 ^{ns}	20,76 ^{ns}	15,39 ^{ns}	16,93 ^{ns}	10,17**
Erro	40	53,48	68,39	419,93	15,16	25,33	12,44	1,30
CQ do CGC (\hat{g}_i)		73,25	71,56	332,84	28,24	8,08	2,26	3,32
CQ do CEC (\hat{s}_{ij})		98,61	90,42	40,98	1,86	-3,31	1,49	2,95
Média	-	63,37	58,96	160,96	67,82	62,53	46,74	12,93
CV (%)	-	11,53	14,02	12,73	5,74	8,04	7,55	8,82

^{ns}; ** e * não significativo, significativo pelo teste de F (P<0,01) e (P<0,05) respectivamente. PT: Produtividade total; PC: Produtividade Comercial; PM: Massa média de fruto; DE: Diâmetro equatorial; CL: Comprimento longitudinal; APP: Altura de primeira penca e IP: Inserção de pedúnculo. CQ: Componente quadrático.

Para a CGC há divergência genética entre os genitores para as características avaliadas e os efeitos aditivos atuam fortemente na expressão dos caracteres envolvidos. Enquanto para CEC os efeitos gênicos não-aditivos foram importantes (p<0,01) para PT, PC e IP e não significativas para PM, DE, CL e APP (Tabela 1.5).

A atenção principal dada aos dados de produtividade total e produtividade comercial é em razão a ambos serem atributos principais de seleção, ou seja,

produtividade. As estimativas de CGC para os genitores, tanto para PT e PC, com amplitude de 23,27 e 22,54 t ha⁻¹ respectivamente, foram elevadas entre os híbridos Aguamiel e Plutão (Tabela 1.6 e Figura 1.1) quando comparados a média geral que foi de 63,37 t ha⁻¹ para produção total e 58,96 t ha⁻¹ para produção comercial, indicando a divergência existente para essas características e que os efeitos gênicos aditivos são importantes em suas expressões.

Enquanto entre os híbridos do tipo caqui essa diferença ficou por conta do híbrido Forty que obteve valores negativos comparados aos híbridos comerciais Pietra, Compack, Dominador e Aguamiel (Tabela 1.6).

Tabela 1.6 Estimativas da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) para características morfo-agronômicas de híbridos F₁ comerciais de tomateiro conduzidos em Guarapuava, PR. UNICENTRO, 2018.

GENITOR	\hat{g}_i				
	PT t ha ⁻¹	PC t ha ⁻¹	MM g fruto ⁻¹	DE mm	CL mm
Pietra™	0,74	0,10	10,36	3,04	-3,66
Compack™	3,52	2,83	17,33	5,00	-0,95
Forty™	-7,49	-6,59	9,44	3,03	-0,44
Dominador™	5,81	7,64	10,15	2,25	-2,10
Aguamiel™	10,34	9,28	-19,56	-4,80	2,86
Plutão™	-12,93	-13,26	-27,73	-8,53	4,30

PT: produtividade total; PC: produtividade comercial; MM: massa média; DE: diâmetro equatorial; CL: comprimento longitudinal.

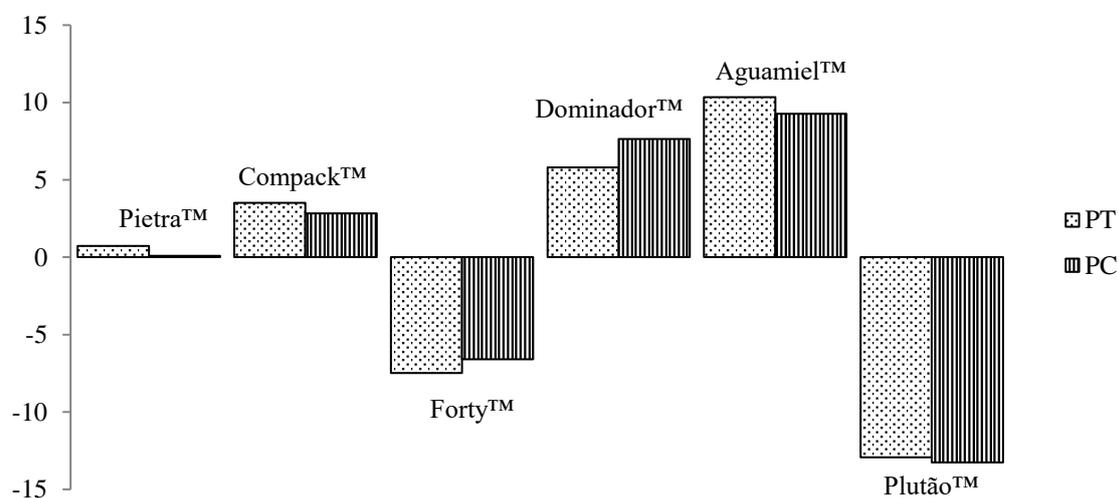


Figura 1.1 Estimativas da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) para características morfo-agronômicas de produtividade total (PT) e produtividade comercial (PC) de 6 híbridos F₁ de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

Para massa média de frutos os valores foram significativos, indicando diferença clara para a massa média dos frutos do tipo caqui para o santa cruz e italiano, com uma amplitude de 45,06 g fruto⁻¹ (-27,73 g fruto⁻¹ do Plutão “italiano” para o Compack 17,33 g

fruto⁻¹ “Caqui”) Tabela 1.6. Essa característica que pode estar associada diretamente ao rendimento, de modo que todos os tomates do tipo caqui obtiveram valores positivos (Pietra, Compack, Forty e Dominador), enquanto que Aguamiel do tipo santa cruz, como intermediário obteve valor de -19,56 g fruto⁻¹ e Plutão do tipo italiano com -27,73 g fruto⁻¹ (Tabela 1.6).

Para a característica de Diâmetro equatorial que determina um atributo importante na hora de uma seleção por calibre, os híbridos do tipo caqui foram mais promissores na obtenção de frutos com maior diâmetro equatorial (calibre) com amplitude de 13,53 mm comparando o híbrido Plutão -8,53 mm em relação ao Compack 5 mm, destacando ainda Pietra e Forty com valores de 3,04 e 3,03 mm respectivamente (Tabela 1.6).

Por fim, para o atributo de comprimento longitudinal, naturalmente o inverso, onde os tomates do tipo caqui foram menos promissores para esta característica, todos com valores negativos, em especial o híbrido Pietra que quando comparado ao híbrido Plutão com 4,30 mm essa amplitude é de 7,96 mm. Forty e Compack com valores próximos a zero não demonstram significativa importância nas relações quanto a esse atributo (Tabela 1.6).

Andrade *et al.*, (2014) avaliando a capacidade combinatória de linhagens de tomateiro divididos em dois grupos, o primeiro com tomateiros do tipo saladette determinado e santa cruz determinado e indeterminado e o segundo grupo por tomateiros do tipo italiano crescimento indeterminado, identificou divergências entre os grupos para CGC e CEC na produção total e massa média por fruto. Segundo o autor, a CEC apresentou efeitos gênicos não aditivos para essas duas características, enquanto que a relação entre comprimento e diâmetro para a qualificação do tomate italiano mais alongado, os efeitos foram significativos nos dois grupos para CGC e CEC para formato de fruto, determinando assim que efeitos gênicos aditivos e não-aditivos atuam diretamente na expressão, mas com predominância de efeitos aditivos.

Outros estudos que verificaram os efeitos aditivos predominantes para a produção total são de PÁDUA *et al.* (2010), em avaliações de tomateiro de crescimento determinado onde os efeitos aditivos foram muito mais importantes na expressão da produção total e massa média dos frutos, do mesmo modo para formato de fruto os resultados obtidos foram condizentes com o citado acima por Andrade *et al.* (2010). Figueiredo *et al.* (2017) em análise dialélica de linhagens de tomateiro industrial verificou a predominância de efeitos aditivos para as características massa média de fruto, formato do fruto e relação comprimento largura do fruto. Os efeitos não aditivos foram superiores para a

produtividade total e comercial, diâmetro da cicatriz peduncular.

Do mesmo modo que MACIEL *et al.* (2010) e AMARAL JUNIOR (1999) que observaram também a predominância dos efeitos não aditivos na expressão da produção por hectare com linhagens de tomateiro. Enquanto que, para massa média, a maior importância foi dos efeitos aditivos na expressão do caráter massa média de frutos que ao contrário de SOUZA *et al.* (2012) que afirmam que os efeitos não aditivos são os mais pronunciados na expressão gênica da massa média de frutos de tomateiro.

Os resultados citados nos parágrafos anteriores apoiam a eficácia da análise combinatória aplicada na seleção de genótipos com potencial para obtenção de um híbrido duplo de tomateiro utilizando híbridos simples comerciais, de modo que, ao relacionar os resultados obtidos em um dialelo envolvendo os híbridos duplos, os resultados se relacionam diretamente com dados encontrados na maioria das literaturas estudadas com linhagens superiores.

Tabela 1.7 Estimativas de \hat{s}_{ii} e \hat{s}_{ij} para características agrônomicas de 15 híbridos duplos experimentais obtidos por dialelo entre 6 pais híbridos F₁ comerciais de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

GENÓTIPOS	\hat{s}_{ij} e \hat{s}_{ii}				
	PT	PC	MM	DE	CL
	t ha ⁻¹	t ha ⁻¹	g fruto ⁻¹	mm	mm
1. Pietra x Pietra	-6,51	-2,95	-16,4	-2,48	-13,75
2. Compact x Pietra	-11,51	-18,15	2,89	0,84	-0,53
3. Forty x Pietra	17,27	18,65	24,25	3,18	2,72
4. Dominador x Pietra	-2,10	-0,43	-14,28	-1,64	-0,36
5. Aguamiel x Pietra	1,90	3,47	10,25	-0,98	-1,91
6. Plutão x Pietra	7,46	2,35	9,68	3,56	0,35
7. Compact x Compact	-1,50	0,81	-7,42	-2,21	-2,65
8. Forty x Compact	-4,83	-1,35	-0,68	0,64	4,58
9. Dominador x Compact	12,46	13,60	17,51	3,32	0,66
10. Aguamiel x Compact	9,66	5,69	1,02	1,02	-0,08
11. Plutão x Compact	-2,77	-1,42	-5,90	-1,41	0,68
12. Forty x Forty	-18,94	-18,56	-1,37	0,11	-2,57
13. Dominador x Forty	5,08	5,88	-15,26	-3,80	-0,99
14. Aguamiel x Forty	1,44	-0,75	-12,03	-1,72	-3,29
15. Plutão x Forty	18,93	14,69	6,48	1,46	2,12
16. Dominador x Dominador	-0,93	-1,78	10,73	1,58	0,90
17. Aguamiel x Dominador	-9,30	-10,01	-12,22	-1,45	0,38
18. Plutão x Dominador	4,25	-5,48	2,79	0,39	-1,51
19. Aguamiel x Aguamiel	0,53	3,30	13,17	3,47	1,39
20. Plutão x Aguamiel	-4,78	-5,01	-13,35	-3,81	2,12
21. Plutão x Plutão	-7,29	-2,56	0,14	-0,1	-1,89

PT: produtividade total; PC: produtividade comercial; MM: massa média; DE: diâmetro equatorial; CL: comprimento longitudinal.

As estimativas de \hat{s}_{ii} são um indicativo da divergência genética do genitor i, em relação aos demais genitores utilizados no dialelo, esse valor quanto maior (\hat{s}_{ii}) maior será a divergência genética do parental em relação aos demais parentais. Valores negativos de

$\hat{\sigma}_{ii}$ para o genitor 'i' contribuem para maior heterose, enquanto que valores positivos contribuem para menor heterose. Se o valor for zero ou muito próximo de zero, a divergência genética do parental i em relação aos outros é nula, no entanto, para a seleção de um bom híbrido devem-se levar em consideração as estimativas conjuntas de \hat{g}_i , $\hat{\sigma}_{ij}$ e $\hat{\sigma}_{ii}$ (CRUZ et al., 2004).

Dos materiais utilizados como genitores, Pietra apresentou estimativas negativas $\hat{\sigma}_{ii}$ para todas as características. Pietra, Forty, Dominador e Aguamiel apresentaram estimativas negativas $\hat{\sigma}_{ii}$ indicando divergência genética entre os genitores para o fenótipo, produtividade total e comercial (Tabela 1.7.), e indicado no gráfico pelos números 1, 12, 16 e 21 (Figura 1.2a). O híbrido simples Forty foi o mais negativo para $\hat{\sigma}_{ii}$ (-18,94 t ha⁻¹) na produtividade total, sendo o genótipo mais divergente dentre todos os estudados, e que contribuiu positivamente para altos valores de heterose nos cruzamentos onde o mesmo participou (Tabela 1.8.).

Para as estimativas $\hat{\sigma}_{ij}$ os cruzamentos que obtiveram valores positivos em todos os atributos avaliados foram (Plutão x Forty), (Forty x Pietra) e (Dominador x Compack) (Tabela 1.7.) e demonstrado na Figura 1.2a. e 1.2b pelos números 3, 9 e 15. Para as estimativas negativas vale destacar os cruzamentos entre (Compack x Pietra) e em especial o cruzamento (Aguamiel x Dominador) que apresentou valores negativos em praticamente todas as características avaliadas, menos para a característica de comprimento longitudinal (tabela 1.7.) e demonstrada no gráfico pelo número 17 (Figura 1.2. e 1.3.). A estimativa do cruzamento entre os híbridos (Forty x Pietra) apresentaram os valores mais altos para produtividade total com 17,27 t ha⁻¹ e para produtividade comercial com 18,65 (Tabela 1.7.) identificando a divergência existente entre esses dois híbridos F₁.

Cinco dos seis híbridos F₁ utilizados como genitoras apresentaram estimativas negativas $\hat{\sigma}_{ii}$ indicando uma elevada divergência genética entre os genitores para o fenótipo produtividade total (Tabela 1.7.). O valor mais negativo de $\hat{\sigma}_{ii}$ foi observado no híbrido Forty (-18,94 t ha⁻¹) e para a produtividade comercial (-18,56 t ha⁻¹) sendo o genótipo mais divergente dentre todos os estudados, e que contribuiu positivamente para altos valores de heterose nos cruzamentos onde o mesmo participou (Tabela 1.7.).

Nas estimativas relacionadas ao estudo da heterose SOUZA *et al.* (2012) Os resultados do ($\hat{\sigma}_{ii}$ e $\hat{\sigma}_{ij}$) mostraram que os híbridos F₁ oriundos dos cruzamentos se destacaram, por exemplo, com valores próximos para as características de massa média, comprimento e largura do fruto, grande parte, devido a utilização de materiais do mesmo padrão de fruto, do tipo santa cruz.

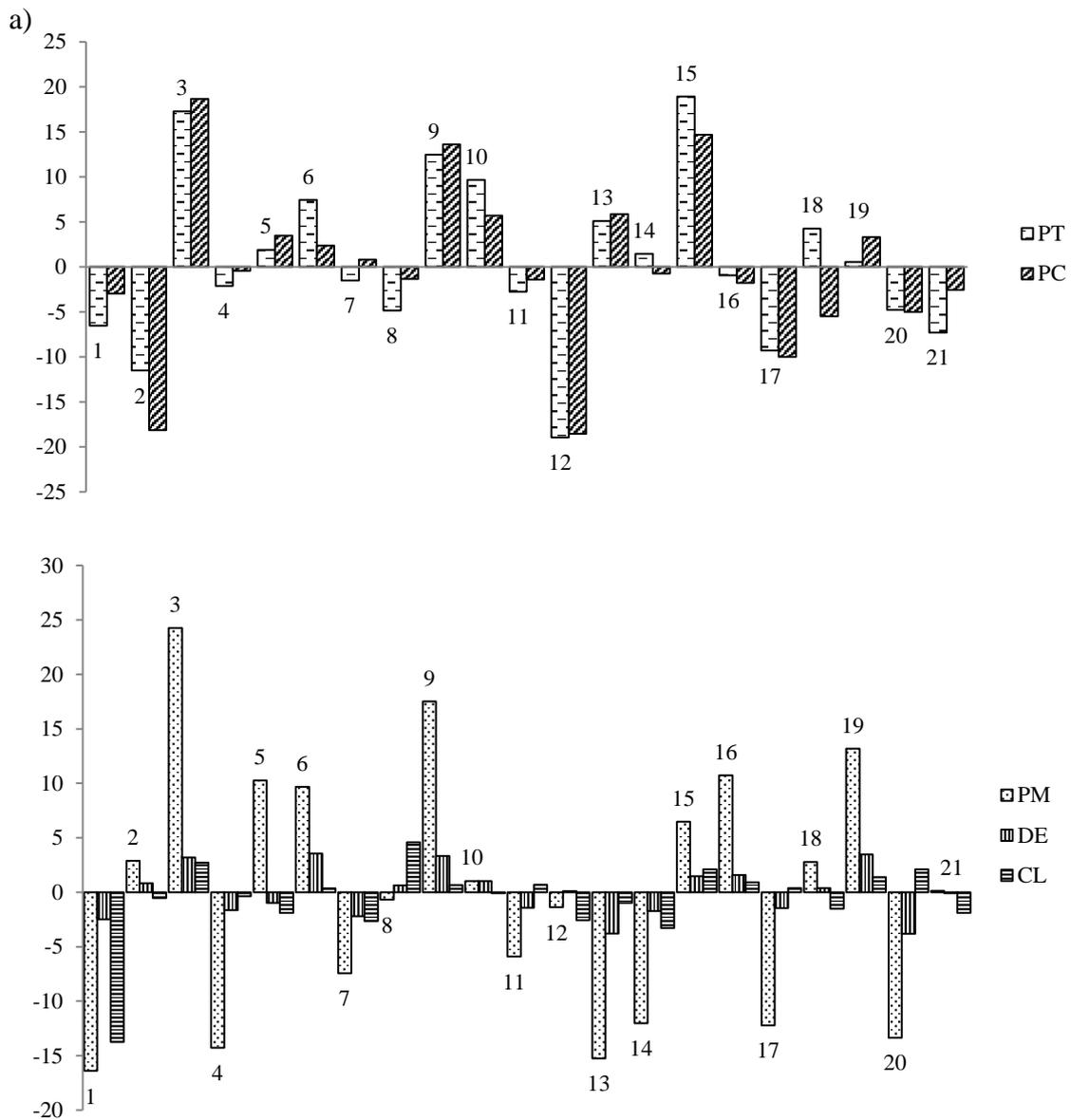


Figura 1.2 Estimativas de $\hat{\sigma}_{ii}$ e $\hat{\sigma}_{ij}$ para características agrônômicas de produtividade total e comercial de 15 híbridos duplos e 6 híbridos F_1 de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

* Descrição dos números da figura: 1-Pietra x Pietra; 2-Compact x Pietra; 3-Forty x Pietra; 4-Dominador x Pietra; 5-Aguamiel x Pietra; 6-Plutão x Pietra; 7-Compact x Compact; 8-Forty x Compact; 9-Dominador x Compact; 10-Aguamiel x Compact; 11-Plutão x Compact; 12-Forty x Forty; 13-Dominador x Forty; 14-Aguamiel x Forty; 15-Plutão x Forty; 16-Dominador x Dominador; 17-Aguamiel x Dominador; 18-Plutão x Dominador; 19-Aguamiel x Aguamiel; 20-Plutão x Aguamiel; 21-Plutão x Plutão.

A avaliação de um dialelo envolvendo materiais de alto rendimento, mesmo eles sendo de origem de híbridos F_1 e não de linhagens, requer uma atenção em especial para as características de herdabilidade. Foi possível obter um parâmetro para avaliações dessas características nos híbridos duplos obtidos nesses cruzamentos e identificar que a variação que ocorre não é muito diferente dos estudos elaborados nesse sistema dialelo parcial, demonstrando ser viável a avaliação nesse método para tais características. Diante disso, quando avaliado o componente quadrático para massa média, por exemplo, grande parte

dos estudos envolvendo dialelos na cultura do tomateiro destaca-se o efeito aditivo para tal característica o que confirma os resultados obtidos com esse estudo (MACIEL *et al.*, 2010; PADUA *et al.*, 2010; ANDRADE *et al.*, 2014; FIGUEIREDO, 2017).

5.4.3 Heterose

A heterose média observada nos híbridos duplos para produção total e produção comercial foi de 19,5% (8,08 t ha⁻¹) e 13,72% (5,07 t ha⁻¹) respectivamente, ou seja, em partes em análise a média geral não obteve heterose em híbridos duplos para essas características. Porém, representando um ganho gerado por essa variabilidade existente dentro do dialelo de híbridos duplos de tomateiro de mesa em relação a média dos materiais híbridos F₁, a variação foi de -11,79 (7,5 t ha⁻¹) no cruzamento (Compact x Pietra), 107% (32,05 t ha⁻¹) no cruzamento (Plutão x Forty) (Figura 1.3 e Tabela 1.8).

Tabela 1.8 Valores quantitativos e percentuais (%) de heterose, observada nas combinações de híbridos duplos, para as características de fruto cultivado em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

GENITOR	PT		PC		MM		DE		CL	
	t ha ⁻¹	%	t ha ⁻¹	%	g fruto ⁻¹	%	mm	%	mm	%
1. Compact x Pietra	-7,50	-11,79	-17,09	-28,09	14,80	8,37	3,19	4,34	0,87	1,53
2. Forty x Pietra	30	68,33	29,41	70,53	33,14	19,28	4,37	6,00	4,09	7,16
3. Dominador x Pietra	1,61	2,43	1,93	3,01	-11,45	-6,41	-1,20	-1,65	-0,75	-1,30
4. Aguamiel x Pietra	4,89	6,84	3,3	4,81	11,87	7,90	-1,48	-2,22	-2,54	-4,07
5. Plutão x Pietra	14,36	32,43	5,11	11,87	17,81	13,15	4,86	7,95	1,37	2,20
6. Forty x Compact	5,39	10,96	7,52	16,24	3,71	2,02	1,70	2,27	7,20	12,30
7. Dominador x Compact	13,69	19,14	14,08	20,42	15,86	8,34	3,64	4,87	1,54	2,63
8. Aguamiel x Compact	10,15	13,22	3,64	4,97	-1,85	-1,14	0,40	0,58	0,55	0,85
9. Plutão x Compact	1,63	3,28	-0,55	-1,15	-2,27	-1,54	-0,26	-0,40	2,96	4,65
10. Dominador x Forty	15,02	29,03	16,06	32,22	-19,94	-10,76	-4,66	-6,29	-0,16	-0,27
11. Aguamiel x Forty	10,64	18,66	6,87	12,72	-17,93	-11,43	-3,52	-5,18	-2,71	-4,20
12. Plutão x Forty	32,05	107,47	25,25	88,50	7,10	5,00	1,46	2,34	4,36	6,79
13. Aguamiel x Dominador	-9,11	-11,48	-10,77	-14,05	-24,17	-14,78	-3,98	-5,87	-0,77	-1,19
14. Plutão x Dominador	-0,14	-0,26	-3,31	-6,47	-2,64	-1,77	-0,35	-0,55	-1,02	-1,59
15. Plutão x Aguamiel	-1,41	-2,45	-5,39	-9,73	-20,01	-16,63	-5,51	-9,80	2,38	3,42
Média	8,08	19,05	5,07	13,72	-0,26	-0,02	-0,09	-0,24	1,16	1,93

Produtividade total (PT), produtividade comercial (PC) Massa Média (MM) Diâmetro equatorial (DE) e comprimento longitudinal (CL)

Para os demais atributos MM, DE e CL os valores médios foram negativos para MM e DE com -0,02 % (-0,26 g fruto⁻¹) para MM e -0,24% (-0,09 mm) e para DE 1,93% (1,16mm) reforçando ainda mais a afirmação citada acima onde praticamente não obteve heterose em híbridos duplos para tais características avaliadas e algumas delas ela foi negativa conforme demonstrada na tabela 1.8. MACIEL *et al.* (2010) constataram uma heterose média de 27,32%, heterose específica para PT não significativa, com magnitude baixa em relação a média total, o que contrasta com os resultados aqui obtidos, indicando

efeitos aditivos na expressão do caráter, citando ainda a literatura contrastante com os seus resultados. De tal modo, os resultados aqui obtidos da heterose confirmam a expressão dos efeitos não-aditivos na expressão da PT e PC em tomateiro e a grande magnitude entre os híbridos duplos (Figura 1.3).

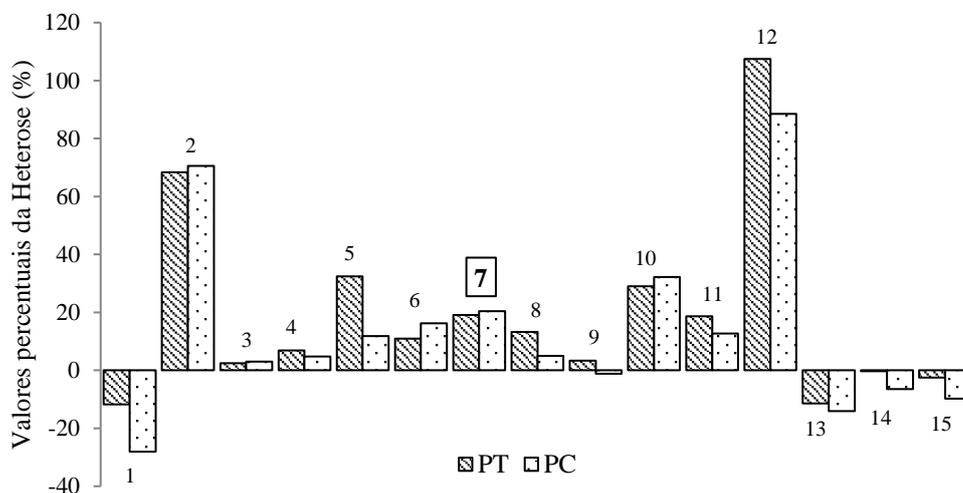


Figura 1.3 Valores quantitativos e percentuais (%) de heterose para produtividade total e comercial, observada nas combinações de híbridos duplos em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

Com relação a essa a combinação (Forty x Plutão), cuja heterose foi de 107% para produtividade total de frutos, no capítulo anterior relativo as capacidade de combinações envolvendo os parentais, com a exceção do cruzamento com o Compack, todas as combinações envolvendo o parental Forty os valores foram positivos (Tabela 1.7), indicando que este possui maior capacidade geral de combinação e refletido nos valores de heterose da tabela 1.8 e pautado no próximo capítulo pela distância genética entre os híbridos Forty e Compack. Já o híbrido Plutão demonstrou ter uma maior capacidade específica de combinação (Tabela 1.8), visto que a heterose foi pronunciada em apenas duas das cinco combinações que ele fez parte.

Para a melhor combinação híbrida os valores obtidos em $\hat{\sigma}_{ij}$, \hat{g}_i e os valores relativos a heterose devem ser positivos e representativos, ou seja, é aquela com maior CEC dos genitores, cujo os parentais apresentam alta CGC (Griffing, 1956). Nesse contexto, Dominador e Compack foram os híbridos simples que obtiveram valores positivos para os atributos avaliados, ressalvo o atributo comprimento longitudinal, que naturalmente pelas características do formato do fruto seria negativo, obtiveram desempenho superior aos demais híbridos nos valores \hat{g}_i .

FAROOQ *et al.* (2012) avaliaram 6 híbridos F₁ e 10 híbridos duplos de tomateiro com o objetivo de combinar genes superiores, bem como obter maior segregação entre

esses genótipos, dentre esses, selecionaram um acesso entre os cruzamentos como promissor, mas destacaram que os cruzamentos foram inferiores aos híbridos F₁ no contexto geral que envolve a estabilidade genética e características relacionadas a rendimento.

O cruzamento entre (Dominador x Compact), ambos com fruto do tipo caqui, apresentou valores de heterose para produtividade total de 19,14%, (13,69 t ha⁻¹) e para produtividade comercial de 20,42% (14,08 t ha⁻¹), e para as características de massa média 8,34% (15,86 g fruto⁻¹), diâmetro equatorial e comprimento longitudinal os valores também foram positivos (Tabela 1.8 e figura 1.3). Desse modo, esses valores positivos foram destacados também para com seus progenitores individualmente, Dominador e Compact obtiveram valores positivos para produtividade total e comercial, massa média e diâmetro equatorial para estimativas \hat{g}_i . Por fim, para valores das estimativas \hat{s}_{ij} já relacionados, foram todos positivos (Tabela 1.7.).

4.4.4 Marcadores ISSR

Para a realização do cálculo da similaridade genética e considerando apenas os marcadores polimórficos, foram analisados dez *primers* e desses nove *primers* apresentaram polimorfismo e foram utilizadas para o cálculo da similaridade genética entre os híbridos F₁ comerciais consideradas no estudo (Tabela 1.9.). O *primer* 811 foi descartado por amplificar apenas duas bandas sendo elas monomórficas. As descrições dos *primers* e a relação de cada componente estão descritos na Tabela 1.9.

Tabela 1.9 Relação dos nove primers ISSR utilizados para estimar a variabilidade genética de 6 genótipos de híbridos F₁ comercial de tomateiro. TA - Temperatura de Anelamento, NTFA - Número Total de Fragmentos amplificados, NFP - Número de Fragmentos Polimórficos e PBP - Porcentagem de bases Polimórficas e TB - tamanho de banda. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

Primer	Sequência 5' – 3'	TA °C	NTFA	NFP	PBP (%)	TB (bp)
807	(AG)8T	52	13	7	53,84	220-1450
808	(AG)8C	50	22	17	77,27	270-1380
809	(AG)8G	55	12	7	58,33	270-1100
815	(CT)8G	52	8	6	75	280-800
835	(AG)8YC	52	13	7	53,84	180-1100
836	(AG)8YA	53	7	5	71,42	200-640
864	(ATG) 6	55	8	6	75	320-890
873	(GGAT)4	54	17	10	58,82	280-1300
878	-	-	10	5	50	370-1200
TOTAL	-	-	110	70	-	-
MÉDIA	-	-	12,22	7,78	63,63	-

Cada primer polimórfico amplificou em média 12,22 bandas, sendo destas 7,78

polimórficas (Tabela 1.9.). O polimorfismo médio dos *primers* foi de 63,6%, e o tamanho das bandas amplificadas variou de 180 pb até 1450 pb (Tabela 1.9). O *primer* 808 foi o que obteve maior número de bandas polimórficas e também o que apresentou maior porcentagem de polimorfismo, identificando 17 bandas polimórficas, apresentando polimorfismo de 77,27% (Tabela 1.9).

O número exato de *primers* necessário para estimar, identificar e analisar as similaridades existentes em uma espécie pode variar, dependendo da finalidade pela qual o estudo está relacionado, quantidade de genótipos e principalmente o conhecimento que se tem do material a ser avaliado. ISSHIKI *et al.* (2008) em estudos com *primers* nas cultivares de *Solanum melongena* concluíram que com 2 *primers* poderiam ter identificado os genótipos, apesar da utilização de 100 *primers* no estudo. Outro estudo envolvendo marcadores ISSR testou 20 *primers* ISSR em 6 variedades de tomateiro verificando similaridade genética, 16 foram polimórficos com 118 bandas e 56% de polimorfismo médio (RAY, 2010).

No estudo que objetivava estimar divergência genética de acessos de tomateiro, foram avaliados 10 *primers* ISSR em 96 acessos, AGUILERA *et al.* (2011) quantificaram que os *primers* utilizados amplificaram 144 bandas, dessas 53 foram polimórficas, com média de polimorfismo de 36,80%. TIKUNOV *et al.* 2003 diferenciaram espécies de tomateiro com *primers* e dos quatorze utilizados nove foram polimórficos. Os resultados obtidos foram significativos quando analisado a eficiência dos marcadores utilizados onde a média de polimorfismo ficou acima da identificada nos estudos relacionados.

Tabela 1.10 Distância genética estimada por oito *primers* ISSR entre 6 híbridos F₁ de tomateiro de mesa. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

	Pietra	Compack	Forty	Dominador	Aguamiel
Compack	0,43	-	-	-	-
Forty	0,49	0,41	-	-	-
Dominador	0,34	0,34	0,39	-	-
Aguamiel	0,34	0,43	0,43	0,27	-
Plutão	0,44	0,38	0,48	0,28	0,28

Na distância entre os genótipos destacados na tabela 1.10 os progenitores mais próximos foram Dominador e Aguamiel com média de (0,27). Enquanto que os mais distantes foram Forty e Pietra (0,49) seguidos de Forty e Plutão (0,48). Esses resultados reforçam os valores obtidos no tópico anterior que trata da heterose, ressaltando ainda mais a diferença genética contida no híbrido Forty, os resultados obtidos no campo e a relação de discrepância com os demais genótipos em estudo.

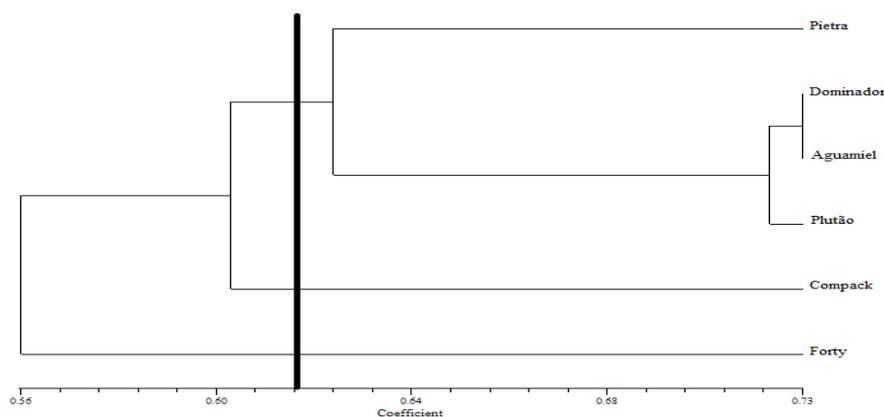


Figura 1.4 Dendrograma de similaridade entre os genitores híbridos F₁ de tomateiro de mesa em Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

A similaridade entre os acesso gerou o dendrograma revelando três divisões com a formação de um grupo de genótipos na primeira formado por 4 híbridos: Dominador, Aguamiel, Plutão e Pietra. O híbrido Compack, e mais distante o híbrido simples Forty (Figura 1.4).

A relação entre o campo experimental com os aspectos morfo-agronômicos avaliados demonstraram através dos valores de \hat{s}_{ii} que o híbrido Forty era o que mais se distanciava dos demais (Tabela 1.7.), fortalecendo essa relação entre os marcadores moleculares e a capacidade de combinação em determinar a divergência genética nos genótipos avaliados.

Avaliando os cruzamentos com maiores valores para s_{ij} observa que os cruzamentos entre (Forty x Pietra) e (Plutão x Forty) também apresentaram valores elevados de 17,27 t ha⁻¹ e 18,93 t ha⁻¹, respectivamente e relacionados com a produtividade total. O cruzamento (Forty x Pietra) analisando sua produtividade comercial com média da produtividade elevada, não diferiu estatisticamente com 71,11 t ha⁻¹ e se distinguiu inclusive, ficando acima dos dois genitores e da testemunha avaliada.

Ainda sobre esses dois cruzamentos, (Forty x Pietra) e (Plutão x Forty), os valores da heterose foram elevados para ambos, ficando acima de 68% para as características de produtividade total e comercial (Tabela 1.8). Esse valores ficam bem representados nos gráficos envolvendo as estimativas de s_{ii} e s_{ij} com os números 3 e 15 (Figura 1.2a) e no gráfico representando a porcentagem da heterose pelos números 2 e 12 (figura 1.3).

Os cruzamentos que obtiveram valores de heterose negativos em todas as características avaliadas foram os cruzamentos entre (Aguamiel x Dominador) e (Plutão x Dominador) com os menores valores sendo relacionados ao primeiro cruzamento (Tabela

1.8). Justamente, os mais aparentados (Figura 1.4) relacionando o híbrido simples Dominador com o híbrido simples Aguamiel.

O híbrido que obteve os melhores resultados, para o valor elevado CEC dos genitores acompanhado pelos parentais que apresentaram alta CGC (Dominador x Compact) apresentaram diferença também na constituição da similaridade (Figura 1.4).

4.5 Conclusões

- Houve diferença na CEC entre os genitores apenas para as características de PT, PC e IP, indicando que os efeitos gênicos não aditivos foram importantes para a expressão apenas dessas características;
- A média geral da heterose não representou valores expressivos, de modo que pela média geral não se obteve heterose em híbridos duplos para as características avaliadas, resguardando a análise da capacidade específica de combinação para determinar uma heterose para híbridos duplos de tomateiro.
- O melhor híbrido duplo foi o cruzamento entre os híbridos simples (Dominador x Compact) que obteve elevada estimativa de CEC dos genitores acompanhado pelos parentais que apresentaram alta CGC;
- Existe a viabilidade técnica para a adoção de híbridos duplos de tomateiro, contudo, definir a viabilidade econômica é parâmetro fundamental para sua adoção e comercialização. Alguns cruzamentos proporcionaram três tipos de tomates comerciais e o cruzamento que obteve melhores resultados (Dominador x Compact) apresentam fruto com formato tipo caqui e desenvolveram padrão e calibre que são fatores importantes de valor agregado na comercialização do fruto;
- Os marcadores moleculares definiram com exatidão o agrupamento dos genitores de acordo com a estimativa de divergência genética por meio dos marcadores moleculares e relacionados diretamente com a heterose obtida, onde o híbrido Forty foi aquele que obteve maior diferença genética entre os híbridos avaliados, confirmando, de modo geral, que os melhores cruzamentos são oriundos de materiais divergentes geneticamente.
- Com os resultados obtidos com os marcadores moleculares é possível definir que os materiais utilizados provenientes de empresas distintas apresentaram diferenças genéticas e os híbridos comerciais cultivados e comercializados no Brasil são oriundos de programas de melhoramento externos e variegados, onde a troca de informação e permuta de material genético ainda é restrita.

4.6 Referências bibliográficas

AGUILERA, J. G.; PESSONI, L. A.; RODRIGUES, G. B.; ELSAYED, A. Y.; SILVA, D. J. H.; BARROS, E. G. Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicon* Mill.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.06, n.02, p.243-252, 2011.

AMARAL JUNIOR, A.T.; CASALI, V.W.D.; CRUZ, C.D.; FINGER, F.L. Inferências genéticas na produção e qualidade de tomateiro sob cruzamento dialélico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.08, p.1407-1416, 1999.

ANDRADE, M. C.; SILVA, A. A.; CONRADO, T. V.; MALUF, W. R.; ANDRADE, T. M.; OLIVEIRA, C. M. Capacidade combinatória de linhagens de tomateiro em híbridos do tipo italiano. **Bragantia**, v.73, n.03, p. 237-245, 2014.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. 375p.

FAROOQ, A. M.; NASIR, I. A.; TABASSUM, B.; TARIQ, M.; QAMAR, Z.; KHAN, M. A.; AHMAD, N.; HAIDER, M. S.; ANWAR, W.; JAVED, M. A.; HUSNAIN, T. Development and comparative studies of double cross tomato hybrids. **African journal of agricultural research**, v.7, n.37, p. 5259-5264, 2012.

FIGUEIREDO, A.S.T.; RESENDE, JTV, 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.03, p.279-287, 2017.

FOOLAD, M. R. Review: genome mapping and molecular breeding of tomato. **International journal in plant genomics**, v.01, 52 p, 2007.

GRATIVOL, C.; LIRA-MEDEIROS, C.F.; HEMERLY, A.S.; FERREIRA, P.C.G. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. **Molecular biology reports**, v.38, n.7, p. 4245-4256, 2011.

ISSHIKI, S.; IWATA, N.; KHAN, M. M. R. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. **Scientia Horticulturae**, v. 117, n. 3, p. 186-190, 2008.

MACIEL, G. M.; MALUF, W. R.; SILVA, V. F.; GONÇALVES NETO, A. C.; NOGUEIRA, D.W.; GOMES, L.A.A. heterose e capacidade combinatória de linhagens de tomateiro ricas em açúcares. **Ciência e agrotecnologia**, v.34, n.05, p.1161-1167, 2010.

MILLER, J. C.; TANKSLEY, S. D. analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and applied genetics**, v.80, n.01, p.437-448, 1990.

NICK, C.; SILVA, D. J. H. Melhoramento de tomate. In: NICK, C.; BOREM, A. **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. cap.13, p.396-431.

RAY, D. P. Molecular characterization of six released tomato varieties using inter simple sequence repeat markers. **Indian journal of horticulture**, v.67, n.03, p.328-332, 2010.

PÁDUA, T. R. P.; GOMES., L. A. A.; MALUF, W. R.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; GONÇALVES NETO, A. C.; ANDRADE, M. C. Capacidade combinatória de híbridos de tomateiro de crescimento determinado, resistentes a Begomovirus e Tospovirus. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.45, n.8, p.818-825, 2010.

SOUZA, L. M.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; MELO, P. C. T.; MELO, A. M. T. Diallel cross among fresh market tomato inbreeding lines. **Horticultura brasileira**, v.30, n.02, p.246-251, 2012.

TIKUNOV, Y. M.; KHRUSTALEVA, L. I.; KARLOV, G.I. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. **Euphytica**, v.131, n.01, p. 71-80, 2003.

5. CAPÍTULO II

RELAÇÃO GENÉTICA ENTRE CULTIVARES CONTEMPORÂNEAS DE TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum*) COM *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, *Solanum pimpinellifolium* e *Solanum peruvianum*.

5.1 Resumo

O objetivo foi determinar a relação genética entre o tomateiro contemporâneo cultivado no Brasil e seus parentais silvestres por meio de marcadores moleculares ISSR (inter-simple sequence repeat). Trinta e um genótipos do banco de germoplasma do Núcleo de pesquisas em hortaliças da UNICENTRO foram caracterizados utilizando sete *primers*. Dentre os genótipos, nove são de *Solanum lycopersicum*, dez de *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, seis de *Solanum pimpinellifolium* e seis de *Solanum peruvianum*. O dendrograma desenhado com base na distância genética de Nei evidenciou que *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* são mais próximos geneticamente. Por sua vez, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* foi o mais distante de todos os outros grupos genéticos. As análises de Coordenadas principais (PCoA) demonstraram alta divergência entre os grupos de genótipos (espécies) com destaque para a alta variabilidade genética contida nos híbridos comerciais quando comparada aos demais grupos. A análise Bayesiana evidenciou que a presença de três grupos genéticos é o que melhor explica a variabilidade genética das espécies em estudo. A formação de um único grupo envolvendo *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* é solidamente sustentada pela literatura que destaca *S. pimpinellifolium* como espécie silvestre mais próxima de *S. lycopersicum* e que as cultivares contemporâneas de tomateiro tende a serem ainda mais próximas de *S. pimpinellifolium* pelos diversos eventos de introgressão gênica durante o processo de domesticação. *S. peruvianum* pelas características envolvendo a espécie, como sendo de subgênero *Eriopersicon*, dimorfismos, agrupou-se de maneira isolada, entretanto, devido a genes de interesse como de resistências a patógenos e afídeos as hibridações introgressivas de genes de importância começa a configurar parte constitutiva do tomateiro. Por fim, a maior distância genética entre *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* de *S. lycopersicum* pode ser por esta espécie não ter sido intensivamente utilizada como fonte de genes para o tomateiro contemporâneo, como também não ter recebido tanta introgressão de *S. pimpinellifolium* e *S. peruvianum*.

Palavra chave: marcador molecular, domesticação, espécies silvestres, melhoramento.

5.2 Introdução

O tomateiro cultivado (*Solanum lycopersicum*) constituído por estreitamentos genéticos e pela introgressão das espécies silvestres que contribuíram para sua formação na sua linha histórica é um excelente modelo para a investigação dos efeitos da seleção na variação genética existente no seu genoma (ROBBINS *et al.*, 2011).

Estudos de ancestralidade nas cultivares de tomateiro são difíceis pela quantidade de parentes e espécies silvestres no clado que divergiram muito recentemente, o resultado é

que essa filogenia em relação aos parentais mais próximos permanece incerta (STRICKLER *et al.*, 2015).

O melhoramento genético da espécie *S. lycopersicum* no último século trouxe vários traços importantes para o tomateiro cultivado como a facilidade de colheita, vida útil pós-colheita, resistência a patógenos e tolerância a estresses abióticos. Grande parte desses atributos foram oriundos de hibridação introgressiva de espécies silvestres, entre algumas delas, o *Solanum peruvianum*. Explorar e identificar a diversidade presente no tomateiro cultivado é um fator ponderável para visar uma agricultura cada vez mais sustentável (GRANDILLO *et al.*, 2011).

O efeito da domesticação, o resgate da ancestralidade e a representação dos genomas podem ser avaliados usando uma série de abordagens como avaliação de características morfológicas, fisiológicas e uso de marcadores moleculares. Estas abordagens, cada vez mais acessíveis, permitem a aplicação e os avanços científicos possibilitando detectar efeitos da seleção artificial em genes e nos grupos genéticos envolvidos nas culturas domesticadas (WHITT *et al.*, 2002; NESBITT & TANKSLEY, 2002; KOCHIEVA *et al.*, 2002).

Um dos fatores importantes, não somente pela sua aplicação no melhoramento, mas principalmente pela conservação dos recursos genéticos é a estimativa da variabilidade genética existente em um banco de germoplasma. As correlações moleculares entre os genótipos tem grande importância para discriminar e fornecer conhecimento amplo sobre os genótipos de tomateiro comerciais e silvestres. Tendo em vista a grande relevância para o seu uso no melhoramento, possibilitando a utilização desses recursos genéticos com potenciais futuros (GONÇALVES *et al.*, 2008).

O agrupamento e as avaliações permitem a escolha de progenitores com características desejáveis de hibridação e acima de tudo evidencia base científica importante para elucidar fatores importantes da evolução da espécie no Mundo. Essa evolução segue uma teoria iniciada por estudos de JENKINS (1948) e RICK (1976) que foi mediada por genes de aumento de massa média (LIN *et al.*, 2014).

De acordo ainda com os autores, a transição se desenvolveu como um fluxo gênico evolucionário de *Solanum pimpinellifolium* para *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* e para *S. lycopersium*. Grande parte dos estudos envolvendo essa análise populacional se complementa em direção da estreita relação entre essas três espécies diante da introgressão de genes em suas formações genéticas. Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo determinar a relação genética entre o tomateiro contemporâneo cultivado no

5.3 Material e métodos

5.3.1 Material vegetal e extração do DNA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética e Biologia Molecular Vegetal da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO). Os genótipos utilizados fazem parte do banco de germoplasma do Núcleo de Pesquisas em Hortaliças (NUPH) da Universidade Estadual do Centro Oeste e Híbridos F₁ comerciais de empresas privadas. (Tabela 2.1.).

Tabela 2.1. Genótipos do banco de germoplasma do Núcleo de pesquisas em hortaliças (NUPH) da Universidade Estadual do Centro Oeste e Híbridos F₁ comerciais de empresas privadas utilizados neste trabalho. Guarapuava-PR. UNICENTRO, 2018.

ESPÉCIE	ACESSO
<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>	RVTC-02
	RVTC-03
	RVTC-04
	RVTC-05
	RVTC-06
	RVTC-07
	RVTC-08
	RVTC-09
	RVTC-10
	RVTC-11
	<i>Solanum lycopersicum</i>
Compack™	
Forty™	
Dominador™	
Aguamiel™	
Plutão™	
Valerin™	
Alambra™	
Pizzadoro™	
<i>Solanum pimpinellifolium</i>	AF26970
	LO3708
	LA1614
	PI126931
	LA1792
	PI126436
<i>Solanum peruvianum</i>	LA 2067
	WVR 2020
	LA 372
	LA 0153
	AF 19684
610	

Foram trinta e um genótipos, sendo dez *S. lycopersicum* var. *ceraciforme*, nove comerciais de *S. lycopersicum*, seis de *S. pimpinellifolium* e seis de *S. peruvianum*. Para a extração do DNA foram utilizadas folhas jovens e sementes de *S. peruvianum*. As folhas foram coletadas armazenadas em nitrogênio líquido até o momento da extração do DNA. Inicialmente o tecido vegetal foi esmagado com o auxílio de nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino. Para extração do DNA foi utilizado o método proposto por SHARMA *et al.* (2008). O método envolve a inativação de proteínas usando o tampão de extração CTAB com a adição de Proteinase K, e a precipitação dos polissacarídeos na presença de altas concentrações de sal e PEG.

Após a extração, o DNA foi ressuspendido em 50µL de TE (10 mM Tris-HCl; pH 8,0; 1 mM EDTA), tratado com RNase a 10 mg/mL⁻¹, incubado a 37 °C por 30 min e armazenado a -20 °C até o uso. A quantificação do DNA e confirmação da sua integridade foi realizada por eletroforese em gel de agarose 0,9% corado com brometo de etídio (0,5 µg mL⁻¹). Como padrão foram utilizadas concentrações conhecidas do DNA Fago λ (50 e 100 ng).

5.3.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Eletroforese

Para as análises foram avaliados nove *primers* ISSR. As sequências dos primers utilizados e suas respectivas temperaturas de anelamento estão detalhadas na Tabela 2.2. As reações de amplificação do DNA de cada genótipo via PCR (reação em cadeia da polimerase) foram conduzidas em um volume final de 12,5 µL contendo: 20 ng de DNA; 0,2µM de primer; 200 µM de cada dNTP; 1,5 mM de MgCl₂ e 1 U de Taq DNA Polimerase e 1X de tampão para PCR.

O Termociclador foi programado para uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 45s, temperatura de anelamento dos *primers* por 45s e 72 °C por 90s, e por fim 72 °C por 5 minutos para extensão final dos fragmentos.

Os produtos de amplificação foram resolvidos por eletroforese em gel de agarose 1,8% corado com brometo de etídio (0,5 µg mL⁻¹). Para determinação do tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado o marcador de peso molecular DNA Ladder 100 bp. O resultado da eletroforese foi visualizado em luz UV e fotodocumentador digital.

5.3.3 Análises estatísticas

O loco amplificado foi analisado e identificado conforme a presença (1) ou ausência (0) de banda. As Informações acerca do polimorfismo seguiram critério de OTT (1992) e a porcentagem de polimorfismo foi calculada para cada *primer*, dividindo o número de fragmentos polimórficos pelo número total de fragmentos amplificados.

Por meio do programa PopGene (versão 1.32) (YEH; YANG; BOYLE, 1999), a partir da matriz de distância genética de Nei foi construído um dendrograma dos grupos de genótipos pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean). A análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi realizada nos software NTSYS 2.2 (ROHLF, 2008) e GenAlex (PEAKALL & SMOUSE, 2012). A análise Bayesiana, para obtenção de cluster (grupos genéticos) foi feita com o auxílio do software STRUCTURE (PRITCHARDA et al., 2010). Para determinação do número ideal de clusters (K) foram feitas simulações partindo do pressuposto que é possível a obtenção de qualquer número de clusters de 1 a 10, onde cada simulação foi repetida 10 vezes. Para esta análise foi usado o modelo de ascendência sem mistura e as frequências alélicas foram correlacionadas por 1000 burn-in e 10000 MCMC (Markov Chain Monte Carlo) repetições após o burn-in.

Para determinação do K (número de grupos genéticos-clusters) mais provável em relação aos indicados pela análise, foram utilizados os critérios sugeridos por EVANNO et al. (2005), com o auxílio do programa Structure Harvester (EARL, 2012).

5.4 Resultado e Discussão

Foram utilizados nove *primers* e selecionados sete *primers* de ISSR para caracterizar a divergência genética dos trinta e um genótipos do gênero *Solanum* seção *Lycopersicon*. Um total de 93 bandas foram amplificadas e 88 delas apresentaram polimorfismo, representando 94,37% dos loci amplificados. As bandas variaram de 80 a 1.500 pb. A média das bandas totais por *primer* estudado foi de 13,85 variando de 10 a 17 bandas (Tabela 2.2.).

Os *primers* 807, 809, 836 e 864 (Tabela 2.2.) apresentaram 100% de polimorfismo. Quando se trabalha com marcadores dominantes, como o ISSR, a porcentagem de polimorfismo observada pode ser utilizada como indicativo de variabilidade genética (FEDRIGO et al., 2016). Neste sentido podemos afirmar que, na análise conjunta, as espécies aqui avaliadas apresentam alta variabilidade genética. Este resultado era esperado

uma vez que estão sendo utilizadas espécies diferentes, o que potencializa o polimorfismo dos *primers*.

Tabela 2.2. Relação dos sete *primers* ISSR utilizados para estimar a variabilidade e estruturação genética de genótipos de *Solanum lycopersicum*, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, *Solanum pimpinellifolium* e *Solanum peruvianum* - Genótipos do tomateiro do Núcleo de pesquisas em hortaliças da UNICENTRO. GUARAPUAVA-PR. UNICENTRO-2018.

Primer	Sequência 5' – 3'	TA °C	NTFA	NFP	PBP (%)	TB (bp)
807	(AG)8T	52	16	16	100	210-1100
808	(AG)8C	50	13	11	84,62	250-1300
809	(AG)8G	55	14	14	100	80-1100
815	(CT)8G	52	17	16	94,12	250-1300
835	(AG)8YC	52	11	9	81,82	210-1100
836	(AG)8YA	53	12	12	100	230-900
864	(ATG) 6	55	10	10	100	310-1500
TOTAL	-	-	93	88		-
MÉDIA	-	-	13,85	12,57	94,37	-

TA: temperatura de Anelamento; NTFA: número total de fragmentos amplificados; NFP: número de fragmentos polimórficos; PBP: porcentagem de bases polimórficas; TB: tamanho de banda.

Em estudos utilizando marcadores moleculares na avaliação de 93 variedades de tomateiro da região da Turquia e Irã, HENAREH *et al.* (2016) testaram 20 *primers* ISSR, e destes, 14 amplificaram todas as bandas foram polimórficas. Esses autores utilizaram dois *primers* 808 e 815 utilizados no presente estudo, porém, deixa claro que a elevada porcentagem de polimorfismo pode ter sido devido ao alto número de variedades, uso de poliacrilamida em vez de gel de agarose e variedades de diferentes regiões geográficas.

Também, KOCHIEVA *et al.* (2002) avaliaram 51 acessos de tomateiro do Institute of Agricultural Plant Industry da Rússia, (entre esses o *S. peruvianum*, *S. pimpinellifolium* e o *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) utilizando 14 *primers* ISSR e obteve 318 bandas sendo 95,6% destas polimórficas. Por sua vez, TERZOPOULOS & BEBELI (2008) avaliaram a diversidade de 41 genótipos (33 variedades de tomateiro landraces da Grécia, três cultivares de *S. lycopersicum*, três *S. lycopersicum* var. *ceraciforme* e duas de *S. pimpinellifolium*) dos 27 *primers* ISSR testados, 12 produziram produtos de amplificação polimórficos. Estes 12 *primers* amplificaram 102 bandas, sendo 57,8% polimórficas.

Os resultados obtidos neste estudo e os da literatura apresentados acima evidenciam que, quando é utilizado cultivares mais recentes de tomateiro combinadas com espécies silvestres, o polimorfismo dos produtos de amplificação aumenta. Isso é esperado, pois, espécies diferentes tendem a apresentar maior diferenciação genética.

O dendrograma (Figura 2.1.) gerado por meio da distância genética de Nei entre os grupos de genótipos evidenciou que as cultivares contemporâneas de tomateiro (*S. lycopersicum*) plantadas no Brasil e utilizadas neste trabalho são mais próximas

geneticamente de *S. pimpinellifolium*. Todavia, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* foi a que se posicionou mais distantes dos demais grupos.

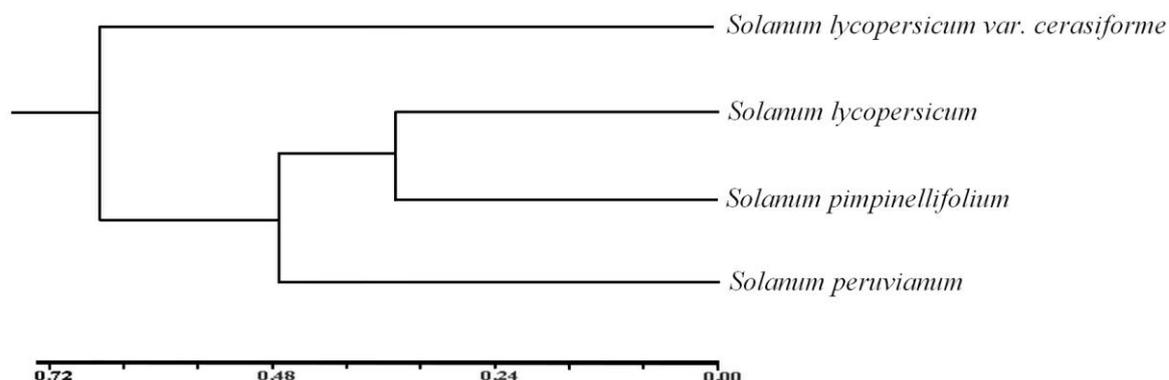


Figura 2.1 Dendrograma das espécies de tomateiro do banco de germoplasma do Núcleo de pesquisa em hortaliças da UNICENTRO utilizadas neste trabalho. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

A análise de PCoA (Figura 2.2.) corroborou com os resultados obtidos no dendrograma na relação de cada espécie. Ainda, a dispersão dos genótipos, evidenciou que há maior variabilidade em *S. lycopersicum* e menor em *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Figura 2.2.).

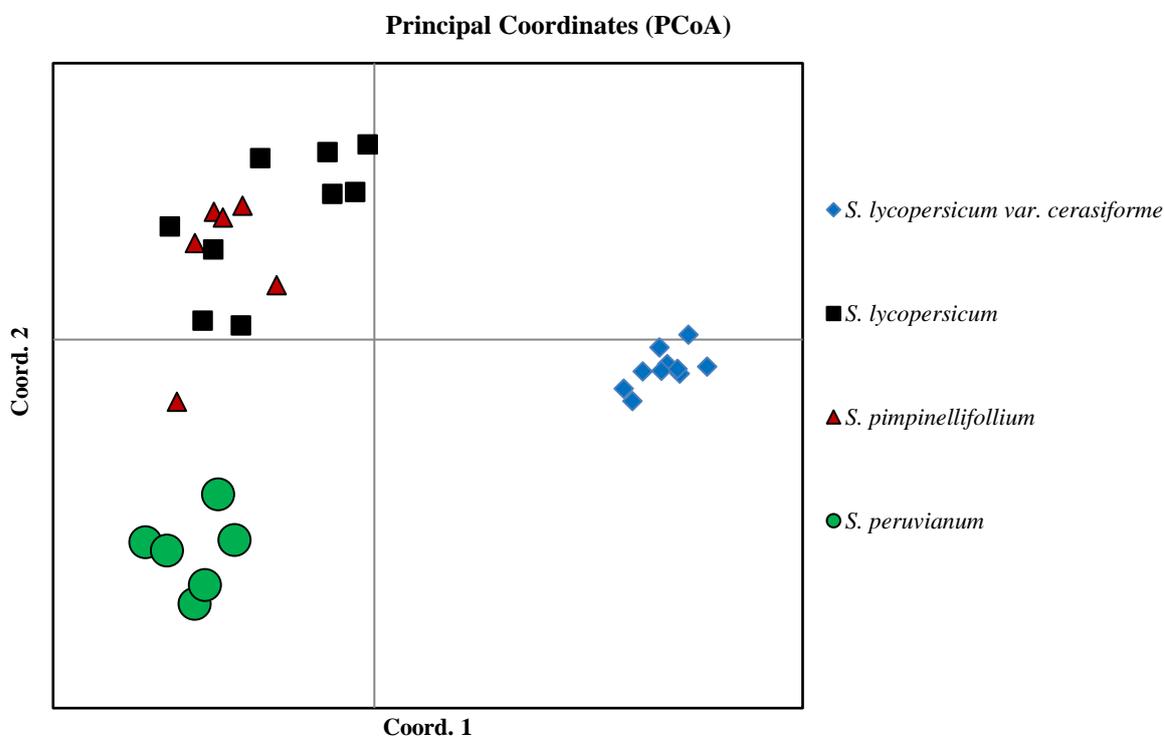


Figura 2.2 Análise de Coordenadas Principais (PCoA) com base em dados obtidos com sete marcadores ISSR em 31 genótipos de *Solanum lycopersicum*, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, *Solanum pimpinellifolium* e *Solanum peruvianum* do Núcleo de pesquisas em hortaliças da UNICENTRO. A identificação de cada genótipo encontra-se na Tabela 2.1. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

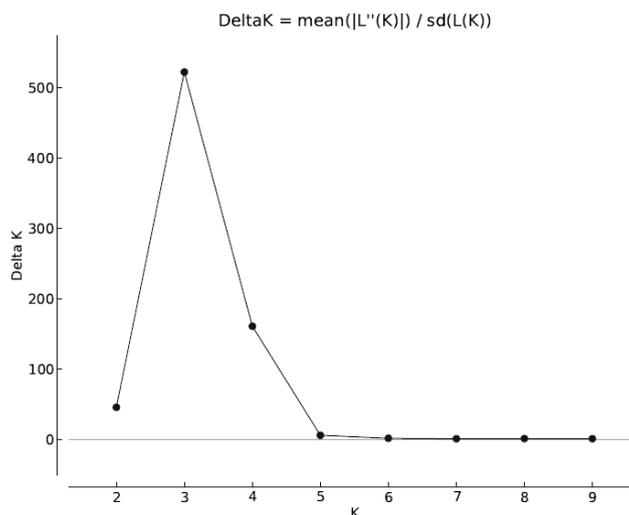


Figura 2.3 Determinação do número ótimo de K (clusters-grupos genéticos) em espécies de tomateiro pelo método Bayesiano, com dados obtidos com sete marcadores ISSR. O ponto de intersecção entre o maior valor no eixo Y com o eixo X indica o número ótimo de K (grupos genéticos). Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

Nas simulações feitas pelo programa STRUCTURE com abordagem Bayesiana, o número de K (Clusters, grupos genéticos) foi definido claramente em três (Figura 2.4). A distribuição dos genótipos nos três grupos genéticos obtidos pela análise Bayesiana ficou definido da seguinte forma. O primeiro grupo genético identificado pelo número 1 constituído pela espécie *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*. O segundo grupo formado pelos números 2 e 3 representando as espécies *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* respectivamente e por fim, o terceiro grupo indicado pelo número 4 representando a espécie *S. peruvianum* (Figura 2.4.).

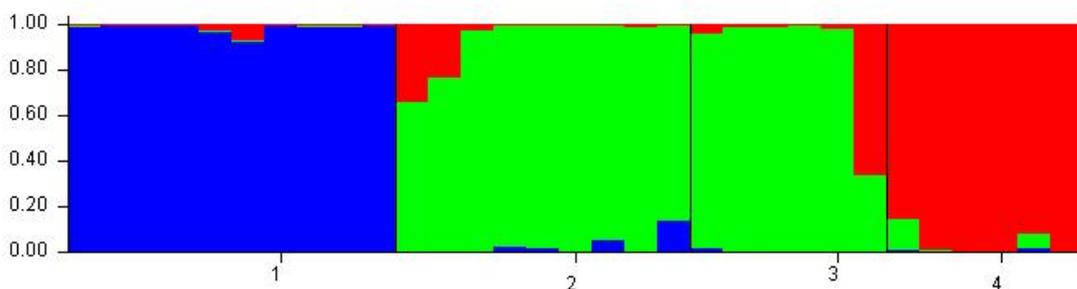


Figura 2.4 Distribuição dos três grupos genéticos (K) obtidos pela análise Bayesiana nos 31 genótipos das espécies de tomateiro *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (1) *Solanum lycopersicum* (2), *Solanum pimpinellifolium* (3) e *Solanum peruvianum* (4) do Núcleo de pesquisas em hortaliças da UNICENTRO. Guarapuava – PR. UNICENTRO, 2018.

Vários estudos têm sido desenvolvidos para esclarecer a relação do tomateiro cultivado com seus parentais silvestres.

Estudos históricos e linguísticos de JENKINS (1948) e RICK (1976) sugeriram que o tomateiro cultivado foi provavelmente selecionado de formas silvestres de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* e com isso alimentaram várias discussões sobre o assunto. Os recentes estudos filogenéticos de diversidade baseados em isoenzimas e polimorfismo de DNA ajudaram a desvendar e alimentar discussões sobre a linha evolutiva do tomateiro contemporâneo.

Utilizando marcadores moleculares para diferenciação de oito espécies da seção *Lycopersicon* em bancos de germoplasma espalhados pelo mundo, MILLER & TANKSLEY (1990) concluíram que *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* foram os mais próximos geneticamente. Este resultado, não só reflete o padrão evolutivo das espécies, classificadas como simpátricas na América Central, mas também a hibridização introgressiva, conhecida por ter sido promovida historicamente pelo homem pelo processo de melhoramento.

Neste mesmo estudo, avaliando a formação do dendograma das espécies, dois dimorfismos foram responsáveis pelo primeiro agrupamento, 1 - definidos como self-incompatible os genótipos pertencentes a *Solanum pennellii*, *Solanum hirsutum*, e *S. peruvianum* contra 2 - os self-compatible, *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium*, *Solanum cheesmanii*, *Solanum parviflorum* e *Solanum chmielewskii*. Ainda, a cor do fruto separa *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium* e *S. cheesmanii* (fruto vermelho) do restante do gênero (fruto-verde). Em nosso estudo, *S. lycopersicum* também foi intimamente relacionado com *S. pimpinellifolium* (MILLER & TANKSLEY, 1990).

NESBITT & TANKSLEY, (2002) em um estudo de ancestralidade e domesticação, utilizando o *locus fw2.2* relacionado ao tamanho de fruto, analisaram diversos acessos e verificaram em particular que os alelos de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* estava presente em diferentes subclados, dependendo de que alelo era examinado.

Com isso os autores concluíram que *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* considerada âncora do silvestre dos tomateiros domesticados, parece ser uma mistura das espécies *S. lycopersicum* (domesticado) e *S. pimpinellifolium* (silvestre) decorrente da intensa introgressão ocorrida nos últimos anos. É provável e razoável inferir que a diversidade entre os *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* existente na atualidade, não seja fruto dessa introgressão recente pensando em um único atributo e sim da diversidade para os verdadeiros ancestrais da espécie (NESBITT & TANKSLEY, 2002).

BLANCA *et al.* (2015) utilizaram mais de 7.000 SNP's para comparar e contrastar 1080 acessos de *S. lycopersicum* (processamento, vintage e cultivado), *S. pimpinellifolium*

e *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* da região Andina e não Andina. Como o resultado observaram uma diferença bastante acentuada entre os genótipos *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* encontradas na região Andina e não Andina.

Com isso os autores concluem que há um novo grupo formado por essas misturas ocorridas por meio de hibridação introgressiva ocorrida nos últimos 100 anos. Estes dados estão de acordo com os obtidos em nosso estudo que evidenciou que os genótipos de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* estudados (genótipos não Andinos) são geneticamente distintos de *S. lycopersicum* (BLANCA *et al.*, 2015).

PEASE *et al.* (2016) em um estudo sobre as fontes de variação adaptativa da radiação da espécie *Solanum* identificaram três fatores evolutivos que facilitaram essa adaptação da espécie aos mais diferentes ambientes; As introgressão ocorrida entre espécies, as mutações de novo e esse resgate a partir da variação ancestral como fatores dessa rápida adaptabilidade.

O tomateiro *S. lycopersicum* está estritamente relacionado com o *S. pimpinellifolium* por essa intensa introgressão ocorrida no último século. Este último possui várias características de interesse inseridas no tomateiro contemporâneo como coloração de fruto e relacionadas a sua qualidade. Além disso, genes de resistência à doenças como o cancro, murcha, pinta preta, fusariose, requeima entre outras (ALVARENGA, 2013; PERALTA & SPOONER., 2005; NICK & SILVA, 2016).

Tais introgressões de genes, para a formação do pacote tecnológico comentado no capítulo anterior, provavelmente estão presentes nos híbridos F₁ analisados neste estudo. Os programas de melhoramento genético dessas empresas privadas, assim como suas bases experimentais dos cruzamentos e os bancos de germoplasmas que participam da formação desses híbridos, estão em diferentes países (Espanha, Estados Unidos, Japão, Brasil, etc.).

Como relatado por FOOLAD & PANTHEE (2012) nos programas de melhoramento genético do tomateiro das empresas do setor privado, dificilmente essas informações chegam até a literatura, e essa introgressão no âmbito do conhecimento científico, seus benefícios, suas conquistas e seus fracassos não são reveladas e restritas apenas para seus programas internos. Isso ratifica os resultados obtidos no presente estudo quando se compara os genótipos das diferentes empresas e como eles se distanciam geneticamente dentro do *S. lycopersicum* (Figura 2.2).

Um pouco mais distante, e explicado por algumas características de autoincompatibilidade e coloração de fruto, o *S. peruvianum* segue o caminho parecido, mas com menos introgressão quando comparado ao *S. pimpinellifolium*. Porém, não menos

importante, afinal genes de interesse envolvendo resistências a doenças fúngicas, viróticas, bacterianas e nematoides além de pragas como afídeos já fazem parte da hibridação introgressiva dessa espécie no tomateiro cultivado.

O *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* é o grupo mais distante encontrado entre os avaliados no presente estudo. A explicação mais coerente para isso é que esses genótipos avaliados foram coletados na América do Sul, fora da região Andina. MILLER & TANKSLEY (1990) relatavam sobre a menor diversidade observada nos genótipos modernos, que poderia ser reflexo de métodos de melhoramento popular, onde geralmente descendentes de uma única semente ou seleção de pedigree, que promoviam uma uniformidade genética.

A menor diversidade genética global das cultivares modernas pode refletir o "gargalo" genético ao qual o tomateiro foi submetido durante a sua introdução na Europa e depois para os Estados Unidos MILLER & TANKSLEY (1990). Provavelmente, este gargalo genético esteve presente no *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* presente no Brasil e utilizados neste estudo

Mas em contraste ao agrupamento de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, o que se observa em *S. lycopersicum* não é um agrupamento sólido das cultivares modernas (Figura 2.2.). Para estas cultivares o que poderia explicar este comportamento é que as diversas introgressões contribuíram para um maior distanciamento (maior variabilidade) entre os genótipos avaliados e comprovados no capítulo 1 pelo dendograma de similaridade entre os híbridos F₁ avaliados no processo de dialelo.

5.5 Conclusões

- As cultivares de tomateiro (*S. lycopersicum*) avaliadas neste estudo são mais intimamente relacionadas com *S. pimpinellifolium* do que com *S. peruvianum* e *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*;
- Os processos intensos de hibridação introgressiva de genes de interesse agrônômico foram determinantes para o agrupamento observado entre as espécies e os genótipos de tomateiro (*S. lycopersicum*) avaliados, ou seja, a participação de espécies ocorreu de acordo com a contribuição da espécie para uma seleção dos genes de interesse, destacando que *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, por não contribuir atualmente com nenhum gene de interesse, ficou isolado;
- Um efeito de gargalo genético seria uma explicação plausível do isolamento dos

genótipos de *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* do banco de germoplasma avaliados neste estudo. A autopolinização, endogamia, seleção natural e artificial e grande mistura entre e dentro dos genótipos são eventos que contribuem para um gargalo onde pode ocorrer um isolamento regionalizado e nesse caso único. Assim sendo, os genótipos estudados suscitaram uma observação para a quantidade de genótipos caracterizados, observando que, esse número de genótipos avaliados dentro dessa espécie deveria ser aumentado, para que assim, esse efeito de gargalo genético fosse realmente conclusivo.

5.6 Referências Bibliográficas

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate**: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. 2. Ed. Lavras: UFLA, 2013, 455p.

BLANCA, J.; MONTERO-PAU, J.; SAUVAGE, C.; BAUCHET, G.; ILLA, E.; DÍEZ, M. J.; FRANCIS, D.; CAUSSE, M.; VAN DER KNAAP, E.; CAÑIZARES, J. Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. **BMC genomics**, v.16, n.257, p. 1-19, 2015.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular biology**, v.14, n.8, p.2611-2620, 2005.

FEDRIGO, K.; GIACOMIN, R. M.; FARIA, C. M. D. R.; DA-SILVA, P. R. ISSR primers for analysis of genetic variability of *Stenocarpella maydis*. **Tropical Plant Pathology**. v. 41, n.4, p. 270-275, 2016.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; BENTO, C. S.; MOULIN, M. M.; ARAÚJO, M. L.; DAHER, R. F.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G. Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultura brasileira**, v.26, n.03, p.364-370, 2008.

GRANDILLO S.; KU H. M.; TANKSLEY S. D. Identifying loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato. **Theoretical and applied genetics**, v.99, n.06, p. 978–987, 1999.

HENAREH, M.; DURSUN, A.; ABDOLLAHI MANDOULAKANI, B.; HALILOĞLU, K. Assessment of genetic diversity in tomato landraces using ISSR markers. **Genetika**, v.48, n.01, p. 25-35, 2016.

JENKINS, J. A. The origin of the cultivated tomato. **Economic botany**, v.02, n.4, p. 379-392, 1948.

KOCHIEVA, E. Z.; RYZHOVA, N. N.; KHRAPALOVA, I. A.; PUKHALSKYI, V. A. Genetic Diversity and Phylogenetic Relationships in the Genus *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. as Revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Analysis. **Russian journal of**

genetics, v.38, n.08, p. 958–966, 2002.

LIN, T.; ZHU, G.; ZHANG, J.; XU, X.; YU, Q.; ZHENG, Z.; ZHANG, Z.; LUN, Y.; LI, S.; WANG, X.; HUANG, Z.; LI, J.; ZHANG, C.; WANG, T.; ZHANG, Y.; WANG, A.; ZHANG, Y.; LIN, K.; LI, C.; XIONG, G.; XUE, Y.; MAZZUCATO, A.; CAUSSE, M.; FEI, Z.; GIOVANNONI, J. J.; CHETELAT, R. T.; ZAMIR, D.; STÄDLER, T.; LI, J.; YE, Z.; DU, Y.; HUANG, S. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. **Nature genetics**, v.46, n.11, p. 1220-1228, 2014.

MILLER, J. C.; TANKSLEY, S. D. analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and applied genetics**, v.80, n.01, p.437-448, 1990.

NESBITT, T. C.; TANKSLEY, S. D.; Comparative sequencing in the genus *lycopersicon*: implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatões. **Genetics society of America**, v.162, n.01, p. 365–379, 2002.

NICK, C.; SILVA, D. J. H. Melhoramento de tomate. In: NICK, C.; BOREM, A. **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. cap.13, p.396-431.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. **Bioinformatics**, v.28, n.19, p.2537-2539, 2012.

PEASE, J. B.; DAVID, C. H.; HAHN, M. W.; MOYLE, L. C. Phylogenomics reveals three sources of adaptive variation during a rapid radiation. **PLOS Biology**, v.14, n.02, p. 1-24, 2016.

PERALTA, I. E. SPOONER D. M. Morphological characterization and relationships of wild tomatoes (*Solanum* L. section *lycopersicon*). **Monographs in systematic botany from the Missouri botanical garden**, v.104, n.01, p. 227-257, 2005.

RICK, C. M. Tomato *Lycopersicon esculentum* (*Solanaceae*). In: SIMMONDS, N.W. **Evolution of crop plants**. London: Longman, cap. 90, p. 268–273. 1976.

ROBBINS, M. D.; SIM, S. C.; YANG, W.; VAN DEYNZE, A.; VAN DER KNAAP, E.; JOOBEUR, T.; FRANCIS, D. M.; Mapping and linkage disequilibrium analysis with a genome-wide collection of SNPs that detect polymorphism in cultivated tomato. **Journal of experimental botany**, v.62, n.06, p. 1831-1845, 2011.

ROHLF, J. F. NTSYS-pc: Microcomputer Programs for Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis. **The american statistician**, v.41, n.04, p. 330, 2008.

STRICKLER, S. R.; BOMBARELY, A.; MUNKVOLD, J. D.; YORK, T.; MENDA, N.; MARTIN, G. B.; MUELLER, L. A. Comparative genomics and phylogenetic discordance of cultivated tomato and close wild relatives. **PeerJ**, v.3, n.01, p.1-19, 2015.

TERZOPOULOS, P. J.; BEBELI, P. J. DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. **Scientia horticultrae**, v.116, n.01, p. 354-361, 2008.

WHITT, S. R.; WILSON, L. M.; TENAILLON, M. I.; GAUT, B. S.; BUCKLER, E. S.;
Genetic diversity and selection in the maize starch pathway. **Proceedings of the national
academy of sciences**, v.99, n.20, p.12959–12962. 2002.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os cruzamentos dialélicos permitiram a obtenção de híbridos duplos com desempenho superior às testemunhas comerciais. As diferenças genéticas constatadas pelos marcadores moleculares foram observadas de maneira concreta nos resultados de recombinação obtidos no campo experimental. Os marcadores moleculares demonstraram que são ferramentas para seleção e diferenciação de genitores.

Apesar das estimativas de capacidade geral e específica de combinação indicar genitores e combinações de híbridos duplos com resultados satisfatórios, fatores importantes dessa herança devem ser estudados para confirmar a utilidade e viabilidade econômica desses híbridos. Alguns deles como a segregação para o formato do fruto, o pacote tecnológico de resistência/tolerância à pragas e doenças, os genes “longa vida” que contribuem para o pós-colheita no fruto, em observância particular na herança, são os princípios básicos para indicar a utilização comercial desses cruzamentos.

O uso dos marcadores moleculares permitiu a classificação e conhecimento dos genótipos neste estudo. Além disso, o agrupamento das espécies definiu que a introgressões de genes atuou diretamente nos resultados do agrupamento desses grupos de genótipos (espécies) e a utilização de protocolos similares, unindo informações, podem resultar em trabalhos mais completos e complexos, contribuindo diretamente para o conhecimento histórico e evolutivo da espécie pelo Mundo.