

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**DIVERSIDADE GENÉTICA ESTIMADA POR MEIO
DE MARCADORES MOLECULARES E
MORFOAGRONÔMICOS EM ACESSOS DE MINI-
TOMATE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ANA PAULA PRECZENHAK

GUARAPUAVA-PR

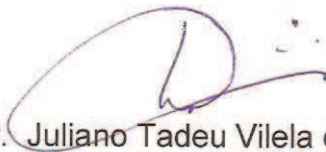
2013

Ana Paula Preczenhak

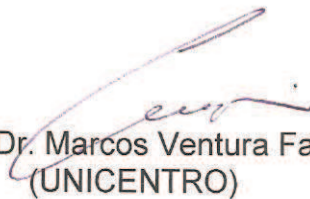
**“DIVERSIDADE GENÉTICA ESTIMADA POR MEIO DE MARCADORES
MOLECULARES E MORFOAGRONÔMICOS EM ACESSOS DE MINI-TOMATES”**

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.

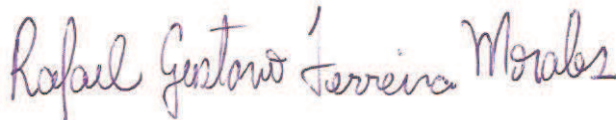
Aprovada em 07 de fevereiro de 2013.



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



Prof. Dr. Marcos Ventura Faria
(UNICENTRO)



Dr. Rafael Gustavo Ferreira Morales
(UFPR)

GUARAPUAVA-PR

2013

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da UNICENTRO, Campus Guarapuava

Preczenhak, Ana Paula

P923d Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos em acessos de mini-tomate / Ana Paula Preczenhak. – Guarapuava, 2013
x, 67 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2013

Orientador: Juliano Tadeu Vilela de Resende

Co-orientador: Paulo Roberto da Silva

Banca examinadora: Rafael Gustavo Ferreira Morales, Marcos Ventura Faria

Bibliografia

1. Agronomia. 2. Produção vegetal. 3. *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*. 4. Banco de germoplasma. 5. Marcadores moleculares ISSR. 6. Análises morfoagronômicas. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

CDD 635.642

A minha querida avó Virka,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem sempre confio.

Ao Prof. Dr. Juliano Vilela de Resende, pela orientação, pela confiança e oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva, pela disponibilidade, paciência e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Marcos Ventura Faria, pela sua colaboração inestimável na realização deste trabalho.

A todos os professores e secretárias do mestrado em Agronomia.

Aos meus pais, que estiveram sempre ao meu lado me apoiando e incentivando e pelos valores e educação oferecidos.

Ao meu namorado Rafael, pela sua paciência, compressão e carinho, que sempre esteve ao meu lado me apoiando e colaborando efetivamente no meu trabalho.

Ao meu irmão Anderson, a quem tenho muito carinho, pelas risadas e alegria.

A minha prima Joseane e madrinha Madalena, pelos conselhos, amizade e principalmente força.

Ao Grupo de Olericultura, Ju, Gizele, Édina, Ju Henschel, Sofia, Diego Munhoz, Guilherme, Gabriel, Rafael Siqueira, Luiz Fernando, Rafael Mattos, Meert e Alex, pela ajuda na condução do experimento e análises.

A Bruna e Ângela, que me auxiliaram efetivamente na execução das análises.

Aos funcionários do Campus, Seu Elias, Seu Manoel e Seu Ângelo, sempre disponíveis a ajudar.

E a todos que me ajudaram, de certa forma, ao longo deste mestrado.

SUMÁRIO

Resumo	I
Abstract.....	ii
1. Introdução	1
2. Objetivos.....	2
2.1. Objetivo geral.....	2
2.2. Objetivos específicos.....	2
3. Referencial Teórico	3
3.1. A cultura do tomateiro	3
3.1.1. Importância comercial.....	4
3.1.2. O mini-tomate	6
3.2. Melhoramento do tomateiro.....	7
3.3. Descritores morfológicos.....	8
3.4. Marcadores moleculares.....	9
3.4.1. Marcadores ISSR.....	11
4. Referências	11
Capítulo I	16
Diversidade genética entre acessos de mini-tomate acessada por marcadores ISSR	
1. Introdução	16
2. Material e Métodos	17
2.1. Local do experimento e material utilizado	17
2.2. Extração de DNA.....	18
2.3. Análise com o marcador molecular ISSR.....	18
2.4. Dados moleculares.....	19
2.5. Atributos dos marcadores.....	19
2.6. Análises estatísticas.....	20
3. Resultados e Discussão	20
4. Conclusões	28

5. Referências	29
 Capítulo II.....	 31
Divergência genética entre acessos de mini-tomate por meio de caracteres morfoagronômicos	
1. Introdução.....	31
2. Material e Métodos	32
2.1. Local do experimento e material vegetal	32
2.2. Tratos culturais.....	32
2.3. Delineamento experimental.....	32
2.4. Análises morfológicas.....	33
2.4.1. Análises dos parâmetros quantitativos.....	33
2.4.2. Análises dos parâmetros multicategóricos (qualitativos).....	35
2.5 Análises estatísticas.....	36
3. Resultados e Discussão.....	37
4. Conclusões.....	41
5. Referências.....	41
 Capítulo III.....	 44
Qualidade dos frutos e caracterização agronômica de genótipos de mini-tomates do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste	
1. Introdução.....	44
2. Material e métodos.....	45
2.1. Local do experimento e material vegetal.....	45
2.2. Tratos culturais.....	45
2.3. Delineamento experimental.....	46
2.4. Análises das características agronômicas.....	46
2.5. Análise da coloração dos frutos.....	47
2.6. Análise estatística	47
3. Resultados e Discussão.....	47
4. Conclusões.....	53

5. Referências.....	54
Anexo I.....	56
Anexo II.....	56
Anexo III.....	56
Anexo IV.....	57
Anexo V.....	57
Anexo VI.....	57
Anexo VII.....	58
Anexo VIII.....	58
Anexo IX.....	58
Anexo X.....	59
Anexo XI.....	60
Anexo XII.....	61
Anexo XIII.....	63
Anexo XIV.....	63
Considerações Finais.....	65
Referências.....	66

RESUMO

PRECZENHAK, Ana Paula. Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfológicos em acessos de mini-tomate. Guarapuava: UNICENTRO, 2013. 77p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal).

O tomate é a segunda hortaliça mais plantada e consumida no mundo e está entre as espécies vegetais mais estudadas geneticamente e modificadas fenotipicamente. A produção de tomate tem crescido nos últimos anos devido à introdução de novas cultivares, como os mini-tomates, desenvolvidas por programas de melhoramento. Em programas de pré-melhoramento a caracterização de acessos de um banco de germoplasma é essencial para determinar a utilidade dos acessos como fonte de genes de interesse. Neste trabalho é descrito a montagem do banco de germoplasma de mini-tomates da UNICENTRO bem como a caracterização deste banco por meio de marcadores moleculares, morfológicos, desempenho agrônomico e coloração dos frutos. Para análise molecular foi utilizado 11 marcadores ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat). O polimorfismo dos marcadores ISSR foi de 88%, considerado alto para espécies de tomateiro. Com base nos resultados do PIC (Conteúdo de Informação Polimórfica), MI (Índice do Marcador) e RP (Poder de Resolução) os primers 878, 861, 807, 815 e 836 são os mais informativos e os mais eficientes na discriminação dos acessos, sendo assim os mais indicados para estudos com mini-tomates. A similaridade média entre os acessos foi de 64%, os acessos RVTC-15 e IAC420-62 foram os menos similares (13%) e os acessos RVTC-25 e RVTC-26 os mais similares (96%). Os 6 e 8 grupos gerados no dendograma (molecular e morfológico) não apresentaram relação direta com os locais de coleta. Com os dados morfológicos foi obtido uma distância média padronizada entre os acessos de 0,60. O acesso IAC1498-63 foi o que apresentou a maior distância entre todos os acessos para as características morfológicas. Embora seja difícil fazer uma comparação direta entre similaridade/divergência, obtida com os marcadores moleculares, com distância genética, a padronização das distâncias (em valores variando de 0 a 1) feita neste trabalho, permite uma comparação mais direta e conseqüentemente, concluir que os marcadores morfológicos, quando comparados com os marcadores moleculares, demonstraram maior capacidade de diferenciar os genótipos estudados. Quanto ao desempenho agrônomico, o acesso RVTC-22 foi o genótipo que mais se destaca pela boa produção de frutos e elevado teor de sólidos solúveis. Contudo, considerando os diferentes critérios para coloração dos frutos, os acessos IAC1622-64 e IAC392-59 também se destacaram, podendo indicar esses três acessos para programas de melhoramento de mini-tomates. Com base nesses resultados

pode-se concluir que os acessos apresentaram bons valores de divergência genética molecular e morfoagronômica para todas as características, assim, esses acessos possuem potencial para utilização em programas de melhoramento de mini-tomate.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, banco de germoplasma, marcadores moleculares ISSR, análises morfoagronômicas.

ABSTRACT

PRECZENHAK, Ana Paula. Estimated genetic diversity through morphological and molecular markers in access of mini-tomato. Guarapuava: UNICENTRO, 2013. 77p. (Dissertação – Mestrado em Produção Vegetal).

The tomato is the second most cultivated and consumed vegetables in the world and is among the most genetically studied plant species and phenotypically modified. Tomato production has grown in recent years, and this growth is due to the introduction of new cultivars and varieties such as mini-tomatoes, developed by breeding programs. In pre-breeding programs the characterization of accessions of a germoplasm bank is essential to determine the usefulness of the accessions as a source of genes of interest. This paper describes the establishment of mini-tomato UNICENTRO germplasm bank and the characterization of this germplasm bank by means of molecular markers, morphological characters, agronomic performance and fruit color. For molecular analysis was used 11 ISSR (Inter-simple sequence repeat) primers. The polymorphism of ISSR was 88%, considered high for tomato species. Based on the results of the PIC (polymorphism information content), MI (markers index) and RP (resolving power) primers 878, 861, 807, 815 and 836 are the most informative and the most efficient in the discrimination of accessions, therefore the most suitable for studies with mini-tomatoes.. The average similarity between accessions was 64%, accesses RVTC-15 and IAC420-62 were the least similar (13%) and accessions RVTC-25 and RVTC-26 the most similar (96%). The 6 and 8 groups generated in the dendrogram (molecular and morphological) showed no relationship with the local of sampling. With morphological data was obtained average standardized distance between access of the 0.60. The access IAC1498-63 was show the higher distance between any access to morphological characteristics. Although it is difficult to make a direct comparison between similarity / divergence, obtained with molecular markers with genetic distance, standardized distances (in values ranging from 0 to 1) made in this work, allows a more direct comparison and therefore conclude that

the morphological markers, compared to molecular markers, demonstrated greater capacity to differentiate genotypes.. As for agronomic performance, access RVT-22 is the genotype that most stands out for good fruit production and high soluble solids. However, considering the different criteria for fruit color, accesses IAC1622-64 and IAC392-59 were also important and may indicate these three accessions for breeding programs of mini-tomatoes. Based on these results it can be concluded that the accessions showed good values of divergence molecular and morphoagronomic to all features, so these accessions are potentially useful in breeding programs of mini-tomatoes.

Keywords: *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, genebank, ISSR molecular markers, analyzes morphoagronomic.

1. INTRODUÇÃO

A produção comercial de mini-tomates (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) de forma comercial no Brasil teve início nos anos de 1990 e despertou o interesse de muitos agricultores que aliaram a alta produtividade o alto retorno financeiro. Atualmente, os mini-tomates são amplamente aceitos pelo consumidor, tendo sua área de cultivo em constante expansão. Há no mercado várias cultivares para este segmento, dentre suas varias formas, colorações e tamanhos (SANTOS, 2009).

O mini-tomate é originário da região andina, sendo considerado o principal progenitor das cultivares de maior importância econômica da espécie *Solanum lycopersicum* L.. Os mini-tomates se disseminaram e hoje ocorre naturalmente em vários pontos do planeta, podendo ser uma excelente fonte de variabilidade no caso de erosão genética do tomateiro cultivado (FILGUEIRA, 2008).

O tomateiro é uma das plantas mais utilizadas em estudos genéticos, sendo suas espécies consideradas um modelo para as pesquisas de variabilidade e diversidade, pois, encontra-se entre as que sofreram as maiores modificações morfológicas em comparação com seus genitores selvagens (TANSKLEY e FULTON, 2007).

Com a crescente demanda por plantas mais produtivas em menores espaços, as cultivares hoje plantadas são o resultado de inúmeras seleções artificiais para melhoramento de suas características. Neste sentido, prevalece a necessidade da caracterização genética de genótipos silvestres para conhecimento e exploração da variabilidade existente (CARELLI, 2003).

O mini-tomate, que ocorre naturalmente em várias regiões do Brasil, pode apresentar um potencial de variabilidade de grande interesse para o melhoramento dos tomates em geral. Acessos expostos a diferentes condicionantes (temperatura, fotoperíodo, clima, solo disponibilidade de água, altitude, bioma), certamente tiveram de se adaptar de modo particular à sua região. A sua rusticidade confere consequentemente, características de resistência às intempéries ambientais, a pragas e patógenos. O primeiro passo para implantar um programa de melhoramento é a caracterização do banco de germoplasma disponível, que muitos classificam como uma atividade de pré-melhoramento.

Neste sentido, a caracterização molecular, por meio de marcadores baseados na amplificação do DNA, é muito recomendada, pois o DNA não sofre influência ambiental em curto prazo o que proporciona mais confiabilidade nos resultados. No entanto, é importante ser atrelada a caracterização molecular a avaliação morfológica e agrônômica, pois estes dados auxiliam no melhor entendimento da variabilidade

existente e na escolha dos materiais mais promissores (SAAVEDRA, et al, 2001). A caracterização por meio de marcadores moleculares poderá fornecer a variabilidade geral existente entre os acessos e a caracterização morfoagronômica quantitativa e qualitativa poderá demonstrar seu desempenho e padrões fenotípicos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Analisar a diversidade genética entre acessos de mini-tomate, por meio de marcadores moleculares e morfológicos.

2.2. Objetivos Específicos

Analisar a variabilidade genética em 47 acessos de mini-tomate utilizando marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*);

Analisar a variabilidade morfológica quantitativa e qualitativa entre 65 acessos de mini tomate;

Avaliar o desempenho agronômico e de características de qualidade de 65 acessos de mini-tomate.

Indicar os acessos de mini-tomate com maior potencial para uso em programas de melhoramento genético considerando a análise conjunta entre variabilidade genética por marcadores moleculares e morfológicos e desempenho agronômico.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. A cultura do tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) tem como centro de origem as montanhas andinas, na região que vai desde o Equador até o norte do Chile, onde ocorrem naturalmente espécies de *Solanum lycopersicum* (anteriormente denominado *Lycopersicon esculentum*). Acredita-se que sua domesticação ocorreu no México e as primeiras atividades de melhoramento tiveram início na Europa. Sua aceitação para consumo e início do cultivo ocorreu primeiramente na Europa e Estados Unidos, no século XIX. No Brasil há evidências que a introdução foi por meio dos europeus, isto ocorrido há mais de um século, iniciando-se também atividades de melhoramento. No

entanto, sua difusão no mercado e a ampliação do consumo começaram a ocorrer após a Primeira Guerra Mundial, meados de 1930 (ALVARENGA, 2004).

O tomateiro é uma planta perene, de porte arbustivo, de caule flexível podendo assumir duas formas de crescimento a determinada e a indeterminada. No crescimento do tipo determinado a planta não apresenta uma dominância apical, cada haste ou ramificação apresenta um ramo floral apical, dando origem a uma planta mais avantajada. Em plantas de crescimento indeterminado há um ramo apical que cresce mais que as hastes laterais, sendo que, a cada três folhas lançadas ocorre um ramo floral. Normalmente, o crescimento determinado é observado nas cultivares de tomateiro rasteiro, destinado à indústria e o de crescimento indeterminado é mais comum em tomates destinados à mesa (ALVARENGA, 2004; FILGUEIRA, 2008).

Seu sistema radicular assume um aspecto pivotante, sua raiz principal pode alcançar até um metro e meio de comprimento no solo, suas raízes secundárias, cerca de 70%, geralmente se localizam a menos de vinte centímetros da superfície. As folhas do tomateiro estão dispostas alternadamente, de forma composta, com um grande folíolo terminal e cerca de seis a oito folíolos laterais que podem, muitas vezes, ser compostos. A epiderme abaxial contem muitos estômatos para as trocas gasosas, ao passo que a epiderme adaxial os tem em número muito reduzido. São geradas folhas novas em intervalos de dois a três dias dependendo das condições ambientais (ALVARENGA, 2004).

Em toda a extensão da planta ocorrem tricomas glandulares e não-glandulares de origem epidérmica, logo abaixo da epiderme ocorre o córtex clorofilado fotossintético superficialmente e internamente o colênquima de sustentação da planta, com uma ramificação lateral avantajada (FILGUEIRA, 2008).

A estrutura reprodutiva da planta, a flor, apresenta a corola de coloração amarelada, com apenas um gineceu, um estigma, por flor, e cinco estames com os cinco estiletos livres e as cinco anteras soldadas que formam um cone envolvendo o estigma (MELO, 2007).

As primeiras plantas de tomateiro partilhavam de alogamia, mas com o isolamento, ocorreu a seleção natural no sentido da autogamia. (TANSKLEY e FULTON, 2007). As espécies cultivadas de *Solanum lycopersicum* apresentam autogamia, portanto a fecundação ocorre antes da antese da flor, com raras possibilidades de polinização cruzada atingindo valores inferiores a 5%, por isso apresentam alto grau de homozigose dentre suas cultivares (ALVARENGA, 2004). Ressaltando que em variedades silvestres a taxa de polinização cruzada pode atingir valores mais elevados devido e as particularidades genotípicas ao ambiente que

ocorrem.

O tomateiro apresenta diversos padrões, quanto a sua morfologia, desenvolvimento, coloração dos frutos, tamanho dos frutos, produtividade, entre outras características. A espécie comercial do tomateiro é dividida em cultivares as quais estão designadas em grupos de acordo com as suas características. São cinco os grupos de tomateiro: Santa Cruz, Salada ou Caqui, Saladinha, Saladete ou Italiano e o Cereja (FILGUERA, 2008; ALVARENGA, 2004).

3.1.1. Importância comercial

O tomateiro é uma hortaliça cosmopolita, conhecida e consumida em todo o mundo, devido sua multiplicidade na alimentação humana e ativa participação no comércio. Além, de sua ótima adaptação aos mais variados climas, pouca sensibilidade ao fotoperíodo e facilidade de ajustamento aos recursos naturais (TABOSA e SILVA, 2008). Sua importância para a sociedade também implica as questões nutricionais. O tomate apresenta altos valores de vitaminas A e C e Licopeno, substâncias que ajudam na prevenção do câncer, relacionado ao aparelho digestivo (SIMÃO e RODRÍGUEZ, 2008).

O consumo de tomate *per capita* aumentou 36% entre os anos de 1985 e 2005, passando de 14 kg por pessoa ano para 19 kg. Este aumento é devido principalmente ao maior poder aquisitivo da população e a conscientização pela busca de alimentos mais saudáveis, refletindo no crescimento da produção (SEAGRI, 2010).

A produção mundial de tomate duplicou nos últimos 20 anos, passando de 65,4 milhões de toneladas (1985) para 145,7 milhões de toneladas (2010), um aumento de 123%. A produção brasileira teve aumento no último decênio (2001-2010) de 3,1 milhões (2001) para 3,6 milhões de toneladas por ano (2010), com um rendimento médio que passou de 53,98 t ha⁻¹ em 2001 para 60,74 t ha⁻¹ em 2010. Em 2011 o Brasil, alcançou produção de mais de 4,4 milhões de toneladas, em uma área correspondente a 69.311 hectares, obtendo uma produtividade de 63,8 kg ha⁻¹ (IBGE, 2012). Nos últimos anos a produtividade aumentou em cerca de 30% sendo este incremento devido principalmente ao melhoramento da espécie e a introdução de novas variedades de tomateiro, como a saladete e os mini-tomates. Cerca de dois terços da produção nacional são de tomate destinado à mesa e um terço para o processamento industrial (SEAGRI, 2010).

Com estes números o Brasil é o 9º maior produtor mundial de tomate, ficando atrás de Irã, Espanha, Itália, Egito, Índia, Turquia, Estados Unidos e China,

respectivamente (FAO, 2010). No panorama nacional a região Sudeste é a maior produtora de tomate, seguida pela região Centro-Oeste, Sul, Nordeste e com menor expressão a Região Norte. Entre os maiores produtores, tem destaque o estado de Goiás com produção de 405.966 toneladas, São Paulo com 672.030 toneladas, Minas Gerais com 477.92 mil toneladas, Bahia com 307.751 mil toneladas e o Paraná como 5º maior produtor com produção de 289,808 mil toneladas (IBGE, 2012).

Apesar de sua participação no mercado estar consolidada o tomate ainda apresenta grande potencial de crescimento e desenvolvimento de novas áreas de cultivo. Além, desse aumento da área de cultivo Carvalho e Pagliuca (2007), também destacam que há aumento de seu consumo relacionado principalmente às redes de *fast food*, para utilização da hortaliça na forma processada e fresca, devido à demanda crescente de alimentos industrializados ou semi-prontos, como molhos pré-preparados, molhos prontos para consumo ou até mesmo frutos consumidos *in natura* inteiros como o caso dos mini-tomates.

Este aumento de produção de tomate brasileiro não é ainda maior pela dificuldade da inserção do país no mercado internacional, em ambos os segmentos de consumo *in natura* e tomate processado. O principal fator é o alto custo do produto nacional, a distância entre os países produtor e consumidor e as exigências tarifárias e fitossanitárias do mercado externo (CAMARGO et al., 2006).

3.1.2. O Mini-tomate

A introdução do mini tomate no Brasil ocorreu por meio dos europeus, mais especificadamente os italianos vindos ao final do século XIX, e também por pássaros migratórios (AZEVEDO FILHO e MELLO, 2001). Segundo Carelli (2003), algumas variedades de *Cerasiforme*, possivelmente também, foram introduzidas por nativos durante seu deslocamento pela América do Sul. Segundo Filgueira (2008) e Carelli (2003), o tomate cultivado teve sua origem a partir de uma espécie silvestre de *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, que ocorre naturalmente na Região Andina, juntamente com as outras espécies de tomateiro. Esta espécie seria a mais próxima das linhagens de tomateiros atualmente cultivados.

Este segmento de tomate de mesa foi introduzido no mercado nos anos de 1990, despertou o interesse de muitos agricultores que viram aliada a alta produtividade com o retorno financeiro. Atualmente, é amplamente aceita pelo consumidor sendo utilizado na ornamentação de pratos ou sendo consumido em molhos (SANTOS, 2009).

As plantas de tomate têm um crescimento do tipo indeterminado, com os cachos dispostos pela planta alternadamente, a cada três inserções foliares. O mini tomate com

certeza chama a atenção pelo tamanho reduzido de seus frutos com média de 30 gramas (FILGUEIRA, 2008). Alvarenga (2004) destaca que seus frutos são tipicamente arredondados, biloculares, com uma coloração variada que vai desde o vermelho intenso passando pelo laranja, pelo rosado até o amarelo, quando maduros, disposto na planta em cachos com até 18 ou mais frutos. Para este autor, a melhor denominação para este tipo de tomate seria a de mini-tomate, já que muitos de seus frutos apresentam tamanhos e coloração fora do padrão para o mini tomate.

Os mini-tomates apresentam um grande número de frutos que se desenvolvem ativamente desde o primeiro até o último cacho. Normalmente, ocorreria uma intervenção na formação de frutos nos cachos posteriores ao primeiro, como é percebido em tomates de mesa e rasteiro comerciais, mas o mini tomate pelo tamanho reduzido de seus frutos é um dreno com baixo potencial. Desta forma, um cacho não interfere na produção de frutos dos cachos adjacentes (ROCHA, 2010).

A forma arredondada dos frutos do mini tomate é uma característica que detém dominância em relação à forma oval (ou alongada), ambos os formatos podem ser encontrados em acessos selvagens (MACIEL e SILVA, 2008). Em questão a nutrição, o mini tomate é pouco exigente, podendo ser diminuídas em muito as aplicações de fertilizantes, reduzindo o custo de manejo da cultura (ROCHA, 2010).

O segmento de mini-tomates foi alavancado pela inserção da cultivar Sweet Grape (Sakata Seeds[®]), principalmente pela sua alta produtividade, qualidade dos frutos, alto teor de sólidos solúveis e seus altos preços de mercado.

3.2. Melhoramento vegetal

O melhoramento de plantas provavelmente surgiu com a agricultura. No início o processo era totalmente arbitrário, e consistia apenas da escolha das melhores plantas, as que produziam mais e apresentavam um produto de melhor qualidade (grão, fruto, raiz, folha). As técnicas de melhoramento vegetal tomaram um direcionamento e crescimento mais concreto a partir das descobertas de Mendel. A seleção de indivíduos e suas características puderam ser direcionadas ao nível da modificação dos caracteres hereditários (BORÉM, 2005).

Atualmente, as técnicas de melhoramento são aplicadas a várias espécies, sempre buscando selecionar suas características favoráveis. O mercado de hortaliças tem apresentado uma demanda crescente nos últimos anos, incentivando estudos de pesquisa para melhorias das cultivares. Uma das plantas mais estudadas é o tomateiro, que referente à sua expressiva importância social e econômica é alvo de muitos

trabalhos de melhoramento genético (TIKUNOV et al, 2003).

Estes trabalhos visam principalmente estratégias que possam atenuar a deriva gênica. A base estreita é consequência dos vários ciclos de seleção para a cultura, da sua domesticação fora do centro de origem, seleção empírica a partir de seletas linhagens e a substituição ou desaparecimento de algumas espécies (SAAVEDRA et al., 2001), também devido às alterações do clima (FERREIRA et al., 2003). A manutenção da variabilidade genética possibilita novas combinações gênicas e maior heterose em seus cruzamentos, garantindo assim a seleção de cultivares com características agrônômicas superiores (JESUS, 2006).

A variabilidade genética está atrelada aos processos ecológicos que conferem as plantas a necessidade de adaptação aos diferentes locais onde estas ocorrem (NESBITT e TANSKLEY, 2002). Portanto, a manutenção dos bancos de Germoplasma e a conservação de seus acessos são fundamentais para o melhoramento genético, uma vez que são fontes de variabilidade. Ainda, mediante caracterização dos genótipos é possível à identificação de genes envolvidos em características agrônômicas de interesse como, aumento de produção, qualidade e coloração dos frutos, adaptação a várias condições edafoclimáticas e, conseqüentemente a expansão do mercado (GONÇALVES et al., 2008).

Esta caracterização pode ser realizada por meio de seus caracteres morfológicos e mais recentemente moleculares. Embora, a caracterização morfológica seja crucial, esta é vulnerável as condições ambientais. O contrário dos marcadores moleculares muito utilizados para caracterização da variabilidade e divergência genética em nível de DNA, que não apresentam interferências do ambiente. Assim, ambas as avaliações complementam-se e podem elucidar melhor a variabilidade existente quando associados (CARELLI, 2003).

3.3. Descritores morfológicos

A descrição das características das espécies é datada de muitos anos, como forma de sistematizar e classificar os seres vivos. Os vegetais, principalmente pela sua importância na alimentação e utilização como condimentos fitoterápicos e estéticos, foram descritos e caracterizados ao longo da história (BORÉM, 2005).

Atualmente, há um sistema de classificação e agrupamento, baseado em caracteres morfológicos e em dados moleculares. Vários métodos multivariados são utilizados como descritores morfológicos em plantas cultivadas para a sua caracterização. Os descritores morfológicos baseiam-se nas características fenotípicas

das espécies. Recentemente, estes descritores morfológicos apresentam-se paralelos aos descritores de DNA, utilizados como alternativas e complementação de informações para descrição de cultivares. Estas duas técnicas aliam a descrição do fenótipo e do genótipo, respectivamente, possibilitando a distinção de genótipos morfológicamente similares, mas geneticamente diferentes (COSTA, 2010).

No entanto, os caracteres morfológicos ainda são a fonte mais utilizada como descritores de cultivares, pois, são de fácil visualização, além de não necessitarem de análises laboratoriais, assim diminuindo os custos, e facilitando as avaliações. Tem como base a descrição de inúmeras características (cor, dimensão, tamanho, formato, entre outras), sendo um método de aplicação mais facilitada em comparação aos outros descritores e possibilita simultaneamente a avaliação do desempenho do genótipo no ambiente de crescimento (JESUS, 2006). Porém, contém desvantagens, pois seus caracteres métricos sofrem muita influência do ambiente, são controladas por muitos locos, poucas plantas apresentam herança mendeliana simples (CASTELLEN, 2000), além de poucas características estarem associadas a genes de importância econômica, normalmente com alelos dominantes, sendo sua expressão percebida somente na planta já adulta, o que dificulta a avaliação em plantas de ciclo longo (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Os caracteres morfológicos são classificados em dois tipos, os quantitativos e os multicategóricos ou qualitativos, que são definidos de acordo com a interação com o ambiente. Os qualitativos são de pouca interação com o ambiente, assim não sofrem modificações expressivas, refletem as características de qualidade da planta como a coloração dos frutos e flores, padrão foliar, hábito de crescimento, formato do fruto, entre outros. Já os quantitativos estão muito relacionados com o ambiente, e podem vir a alterar os caracteres dependendo das respostas da planta, tratam-se, por exemplo, de altura da planta, diâmetro do caule e do fruto, comprimento do fruto, produção, e assim por diante (MILACH, 1998). No Brasil os descritores quantitativos destacam-se como sendo os mais utilizados nas avaliações, principalmente, de acessos em bancos de germoplasma (SUDRÉ et. al., 2007). No entanto, as informações requeridas pelos melhoristas são as mais completas possíveis, sendo utilizados tanto dados quantitativos quanto os qualitativos e aplicados de formas diversas, de acordo com os objetivos da pesquisa (ROCHA, 2008).

3.4. Marcadores moleculares

A identificação do DNA como sendo o material genético das células,

possibilitou estudos mais aplicados ao seu funcionamento. Muitos resultados foram obtidos com a técnica de duplicação de DNA *in vitro*, em especial a técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), que permitiu a duplicação do DNA em uma reação em cadeia (RAMALHO, 2008).

A técnica de PCR baseia-se na duplicação quantitativa da molécula de DNA por meio de sua replicação *in vitro*. Esta técnica possibilitou o desenvolvimento e aplicação de marcadores moleculares, para estudos específicos de sequências desejadas, clonagem de genes, construção de árvores filogenéticas, genes condicionantes de características de interesse e mapeamento genômico (OLIVEIRA, 2010). A definição de marcador molecular segundo Milach (1998b) é a seguinte: “Características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente”.

A interpretação dos resultados é dada pela diferença eletroforética das bandas, onde bandas posicionadas em locais distintos representam número díspar de pares de bases. A segregação dos marcadores é dependente de polimorfismo, portanto quanto mais alto grau de polimorfismo dos marcadores moleculares melhor a sua eficiência, refletindo em mais bandas que variam quanto à posição, por isso são ditas bandas polimórficas (HOFFMAN e BARROSO, 2006).

O emprego de marcadores moleculares no estudo da biotecnologia e do DNA recombinante propiciou um avanço muito significativo para a agricultura. A partir do momento que se pode estudar e melhorar as cultivares não apenas no aspecto fenotípico, mas também em questão do seu genótipo, o conhecimento da estrutura genotípica possibilitou estudos mais acurados juntamente com o melhoramento de espécies tradicional, possibilitando desenvolver plantas cada vez mais adaptadas as diferentes regiões. Testes de identidade com marcadores de DNA são utilizados regularmente para registro de cultivares. Uma vez cruzadas as linhagens, este teste é uma forma de validação de que as características foram segregadas de acordo com o pretendido e que realmente formou-se uma nova cultivar. Ainda, é uma informação com maior rigor que a obtida com os marcadores morfológicos (RAMALHO e FURTINI, 2009).

Os tipos de marcadores moleculares disponíveis diferenciam-se pela metodologia empregada na análise. Atualmente os marcadores moleculares mais expressivos são classificados em dois grupos de acordo com a metodologia seguida para identifica-los. Desta forma temos os marcadores baseados em hibridização e baseados na amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) de DNA. Os marcadores identificados por hibridização são os marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Já aqueles marcadores baseados em amplificação por PCR são os do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length*

Polymorfism), Microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) (MARTINS et al., 2003; MILACH, 1998b). Deve-se ressaltar que cada marcador tem suas características peculiares que devem ser levadas em consideração na escolha do qual utilizar em uma análise. Os Marcadores RAPD são os mais simples e baratos para serem utilizados, no entanto apresentam problemas sérios de repetibilidade. Os Marcadores AFLP são extremamente robustos revelando grande quantidade de *locos* e com alta repetibilidade, no entanto são extremamente elaborados e com custo elevado. Os marcadores microssatélites, uma vez que existam primers disponíveis, são de alta repetibilidade, custo médio, no entanto o processo para obtenção dos *primers* é laboriosa e cara. Os marcadores ISSR combinam a facilidade do RAPD com a robustez dos marcadores AFLP e SSR sendo assim recomendado para trabalhos que requerem confiabilidade sem alto custo para as análises. No tomateiro os marcadores ISSR e SSR tem sido amplamente utilizados para caracterização genética (TIKUNOV et al., 2003).

Marcadores moleculares de DNA têm sido utilizados para marcação de genes de resistência a doenças, insetos e pragas, avaliação e caracterização de germoplasma, melhoramento de genitores, introgressão gênica e seleção assistida por marcadores. Também são amplamente empregados no desenvolvimento de mapas genéticos, determinação de grupos heteróticos e associação com regiões genômicas que afetam heterose, reconstituição de pedigrees. Apresentam-se como ferramentas muito úteis em testes de pureza genética, seleção de resistência a patógenos exóticos ainda inexistentes em determinada região, associação com caracteres quantitativos, estudos de interação genótipo-ambiente, processos legais, entre outros (MILACH, 1998b).

3.5 Marcadores ISSR

Os marcadores moleculares ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) apresentam um método baseado nos microssatélites, no entanto não necessitam do conhecimento prévio do genoma. São marcadores moleculares dominantes, ou seja, não diferenciam os indivíduos heterozigotos dos homozigotos, no entanto, tem a vantagem de analisar *locos* múltiplos em uma única reação. Estes primers podem estar ancorados na extremidade 5' ou 3' por 1 ou 4 bases degeneradas, sendo baseados na amplificação da molécula de DNA pela técnica de PCR. Os alelos polimórficos ocorrem sempre que em um genoma ocorra deleção ou inserção em uma sequência, que modifica a distância entre as repetições. Também, ocorre devido a diferenças no comprimento do microssatélite, principalmente nos primers ancorados na posição 5' (GOULÃO E OLIVEIRA, 2001).

Apresentam um produto de amplificação de 200 a 2000 pares de bases e necessitam de temperaturas elevadas para anelamento (COSTA, 2010).

Marcadores ISSR são recomendados para análises de espécies relacionadas evolutivamente, obtendo-se resultados confiáveis, devido sua abundância e dispersão no genoma, sendo marcadores de alta reprodutibilidade, locos polimórficos em quantidades satisfatórias e por apresentarem rapidez em seus resultados com custos razoavelmente menores em comparação aos outros marcadores (RODRIGUES, 2010).

Esses marcadores de DNA podem contribuir em programas de melhoramento vegetal para seleção de genótipos a serem utilizados futuramente como genitores de novas cultivares, pois apresentam entre os mais utilizados atualmente para varias espécies de plantas. Também são aplicados em estudos de diversidade genética, “fingerprinting” e seleção assistida (COSTA, 2010).

4. REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A.R.; **Tomate: produção em campo em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras.** Ed UFLA, 2004.
- AZEVEDO FILHO, J.A.; MELO A.M.T. Avaliação de tomate silvestre do tipo cereja. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, suplemento CD-ROM, jul., 2001.
- BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas.** Viçosa, Ed. UFLA, 2^aed. 2005 969p.
- CAMARGO, A.M.M.P.; CAMARGO, F.P.; ALVES, H.S.A.; CAMARGO FILHO, W.P. Desenvolvimento do sistema agroindustrial do tomate. *Informações Econômicas* vol. 36, pag. 53- 58. 2006.
- CARELLI, B.P. **Estimativa de variabilidade genética em acessos crioulos e cultivares comerciais de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) do sul do Brasil e avaliação da presença do gene Mi.** Tese (Doutorado), São Carlos, UFSCAR, 2003.
- CARVALHO, J.L.; PAGLIUCA, L.G. Tomate: um mercado que não pára de crescer globalmente. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v.6, n.58, p.6-14, 2007.
- CASTELLEN, M.S. **Uso de marcadores RAPD e isoenzimáticos na quantificação da diversidade genética em populações naturais de *Esenbeckia leiocarpa* Engl.** 2000. 76f. Dissertação (Mestrado) – Esalq, Piracicaba.
- COSTA, J.L.; OLIVEIRA, E.J.; JESUS, O.N.; OLIVEIRA, G.A.F.; NEVES, C.G. Marcadores moleculares como ferramenta para estruturação da diversidade genética em

genótipos de maracujazeiro. **Jornada Científica** – Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2010.

FAO. Organização das Nações Unidas Para Agricultura e Alimentação. **Boas Práticas Agrícolas**. Disponível em: <<http://www.rlc.fao.org>>. Acesso em: 10 abr. 2010.

FERREIRA MAJF; QUEIROZ MA; BRAZ LT; VENCOVSKY R. Correlações genotípicas, fenotípicas e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento genético. **Horticultura Brasileira**, vol. 21, pag. 438-441. 2003.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPLAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3 ed. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN. 220p.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agro tecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças** – Viçosa, UFV, 2008.

GONÇALVES LSA; RODRIGUES R; SUDRÉ CP; BENTO CS; MOULIN MM; ARAÚJO ML; DAHER RF; PEREIRA TNS; PEREIRA MG. Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultura Brasileira**. Vol 26, pag. 364-370. 2008.

GOULÃO, L.; OLIVEIRA, C.M. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*, vol. 122, pag. 81-89. 2001.

HOFFMAN, L.V.; BARROSO, P.A.V. Marcadores moleculares como ferramentas para estudos de genética de plantas. **EMBRAPA Algodão**. Documentos, 147, 35p. Campina Grande-PB, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Levantamento sistemático da produção agrícola. 2012. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201210.pdf. Acesso em 16 de dez. 2012.

JESUS, O. N. de. **Caracterização morfológica e molecular de cultivares de bananeira**. Recife: UFRPE. 83p. Dissertação (Mestrado), 2006.

MACIEL G.M; SILVA E.C. Herança do formato do fruto em tomateiro do grupo cereja. **Horticultura Brasileira**, vol. 26, pag. 495-498, 2008.

MARTINS, C.M.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Utilização de RAPD como marcador molecular em plantas. **Embrapa Agrobiologia**. Documentos, 166,. Seropédica, 2003. 39 p

MELO, R.A. **Caracterização morfológica e molecular em genótipos de coentro (*Coriandrum Sativum* L.) e estudo da viabilidade genética em progênes de meios irmãos na cultivar Verdão**. Dissertação mestrado, 83p. UFRPE. Recife, 2007.

- MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre. 1998b. 141 p.
- MILACH, S.C.K. Uso de marcadores moleculares na caracterização de cultivares. In: BORÉM, A. et al. **Biossegurança, proteção de cultivares, acesso aos recursos genéticos e propriedade industrial na agropecuária**. Viçosa: Ed. UFV, 1998a. 43-58p.
- NESBITT, T.C.; TANSKLEY, S.D. Comparative Sequencing in the Genus *Lycopersicon*: Implications for the Evolution of Fruit Size in the Domestication of Cultivated Tomatoes. **Genetics**, vol 162, pag. 365–379 Set., 2002.
- OLIVEIRA, T.M.S. PCR em tempo real: métodos e aplicações. Dissertação Mestrado, Universidade de Aveiro, 2010. 111f.
- RAMALHO, M.A.P.; FURTINI, I.V. Técnicas biotecnológicas aplicadas ao melhoramento vegetal: alcance e limites. *Revista Ceres*, n. 56, v. 4, pag. 473-479. 2009.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.A.B.P. **Genética na Agropecuária**, Lavras. Ed UFLA., 2008, 464 p.
- ROCHA M.Q.; PEIL, R.M.N.; COGO, C.M. Rendimento do tomate cereja em função do cacho foral e da concentração de nutrientes em hidroponia. **Horticultura Brasileira**, vol.28, pag. 466-471, 2010.
- ROCHA, M. C. **Variabilidade fenotípica de acessos de tomate cereja sob manejo orgânico: características agronômicas, físico-químicas e sensoriais**. Tese (Doutorado), UFRRJ - Seropédica – RJ. 2008. 213 f.
- ROCHA, M.Q.; GONÇALVES, L.S.A.; CORRÊA, F.M.; RODRIGUES, R.; SILVA, S.L.; ABOUD, A.C.S. Descritores quantitativos na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, pag. 664-670, mai-jun, 2009.
- RODRIGUES M.B.; DORNELLES A.L.C.; SILVA V.O.M.Z.; PESSOA C.A.; SERRALHA B.C.S.; SILVA D.A.G.; PEREIRA M.B. Caracterização morfológica de 25 cultivares de tomateiro tipo cereja – caracteres da planta. **Horticultura Brasileira** vol. 26, pag. 4461-4467, 2008.
- RODRIGUES, J.F. **Delimitação de espécies e diversidade genética no complexo *Cattleya coccínea* Lindl. e *C. Mantiqueirae* (Flowie) Van der Berg (*Orchidaceae*) baseada em marcadores moleculares ISSR**. Dissertação de Mestrado, 81p. ESALQ/USP. Piracicaba, 2010.
- SAAVEDRA, G.; SPOOR, W.; HARRIER L. Molecular markers and genetic base broadening in *Lycopersicum* spp.. **Acta Horticulturae**.vol. 546, pag. 503-507. 2001.
- SANTOS, S.C.L. Sugestão de cultivo orgânico do tomate cereja no IFRN, campus Ipanguaçu: **Procedimentos Técnicos**. Ipanguaçu. 2009

SEAGRI. Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Regularização fundiária. Disponível em: < www.seagri.ba.gov.br>. Acesso em: 05 dez. 2012.

SIMÃO, R.; RODRIGUEZ, T. **A evolução do tomate de mesa no estado de Rondônia**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco (Acre). Anais... Rio Branco (Acre): SOBER, 2008.

SUDRÉ, C.P.; LEONARDECZ, E.; RODRIGUES, R.; AMARAL JUNIOR, A.T.; MOURA, M.C.L.; GONÇALVES, L.S.A. Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. **Horticultura Brasileira**. Vol. 25, pag. 496-503. 2007.

TABOSA, F.; SILVA, D. M. **Análise econométrica do mercado de tomateno estado do Ceará: 1980-2000**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco (Acre). Anais... Rio Branco (Acre): SOBER, 2008.

TANKSLEY, S.D.; FULTON, T.M.. Dissecting quantitative trait variation: examples from the tomato. **Euphytica**. vol.154, pag.365-370. 2007.

TIKUNOV Yu.M., KHRUSTALEVA L.I., KARLOV G.I. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. **Euphytica**, v.131, p.71–80, 2003.

CAPÍTULO I

DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE MINI-TOMATE ACESSADA POR MARCADORES ISSR

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro é a segunda olerícola mais plantada e consumida no mundo, apresentando grande importância econômica e social. O destaque conquistado pela espécie faz com que seja, também, uma das espécies mais estudadas geneticamente e que mais sofreu mudanças de seu genótipo e fenótipo. Estas mudanças decorreram com o processo de melhoramento com um número limitado de espécies, domesticação fora do local de origem e a substituição ou desaparecimento de algumas espécies silvestres (SAAVEDRA et al., 2001). Assim, resultaram as variedades de tomateiro com baixa variabilidade genética, tornando-se um entrave aos melhoristas que procuram desenvolver cultivares superiores (GONÇALVES et al., 2008).

As técnicas para utilização dos recursos genéticos encontram-se bastante avançadas, permitindo, em parte, a reversão desta perda (SACCARO JR., 2011). Uma alternativa é a conservação, manutenção e caracterização da diversidade genética do tomateiro em bancos de germoplasma (BROWN et al., 1989). No mundo existem 1.300 bancos de germoplasma ativos preservando mais de 6,1 milhões de subamostras (FAO, 1996), sendo 78.000 amostras de tomateiro (FRALEIGH, 2006). Neste sentido, os acessos presentes em bancos de germoplasma tornam-se fontes importantes de variabilidade genética. Para o melhoramento, o conhecimento da diversidade genética tem contribuído na identificação de linhagens mais produtivas e combinações parentais adequadas à obtenção de híbridos heteróticos para maior segregação em recombinações. De tal modo, a caracterização com a finalidade de mensurar a variabilidade e o potencial dos acessos, podem ser assumidos como fatores essenciais ao pré-melhoramento (FERREIRA, 2007).

O mini tomate é o precursor do tomate cultivado e é muito aceito pelo consumidor, devido a suas características de sabor, praticidade e aparência e vem se destacando entre os tomates destinados para o consumo *in natura* (FILGUEIRA, 2008; CARRELLI, 2003). Por apresentar variadas formas, cores e apresentações o nome mini-tomate é dito por muitos como o mais apropriado ao segmento (ALVARENGA, 2005). Ainda, por ocorrer naturalmente em várias regiões do mundo, esta variedade torna-se

uma fonte de variabilidade eminente, sendo muito importante a manutenção de acessos em bancos de germoplasma.

A análise da variabilidade genética entre acessos pode ser efetuada por meio dos marcadores morfológicos e moleculares, sendo os últimos muito utilizados, pois atuam em nível de DNA (RAMALHO e FURTINI, 2009). As técnicas moleculares possibilitam acelerar os processos de análise da variabilidade e seleção, uma vez que não necessitam que a planta complete seu ciclo para efetuar as análises, não sofrem interferência do meio e ainda apresentam alta eficiência para discriminação de materiais (FERREIRA e GRATTAPRAGLIA, 1998). O genoma do tomateiro está entre os mais investigados, deste modo há grande disponibilidade de marcadores moleculares o que facilita seu emprego (TIKUNOV et al., 2003).

Atualmente, os marcadores moleculares baseados em PCR, ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat), RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), SSR (Single Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), são largamente utilizados em estudos de diversidade genética em plantas (LEAL et al. 2010). Os marcadores aleatórios são recomendados, uma vez que não necessitam do conhecimento prévio da sequência do DNA, facilitando seu emprego (REDDY et al., 2002). Dentre estes, podemos citar o ISSR, que alcança destaque entre os marcadores aleatórios, pois além de ser uma técnica simples, produz resultados satisfatórios quanto à reprodutibilidade, polimorfismo e qualidade de bandas, características importantes para o estudo da diversidade genética (RODRIGUES, 2010).

A diversidade genética proporciona importantes contribuições no gerenciamento de bancos de germoplasma de tomateiro, garantindo assim, uma caracterização eficiente dos materiais e a exclusão de duplicatas, de tal modo a facilitar o acesso dos melhoristas ao material. Também, são muito importantes as características do marcador, como seu potencial de discriminação, para o fornecimento de resultados satisfatórios quanto à caracterização dos acessos. Destarte, o objetivo deste trabalho foi a análise da diversidade genética entre acessos de mini-tomate do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste, por meio de marcadores moleculares ISSR e a análise do potencial dos primers utilizados em estudos genéticos em tomate.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento e material utilizado

Foram utilizados 46 acessos de mini-tomate (Anexo XII) pertencentes ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste e a testemunha comercial Sweet Grape (Sakata Seeds®). Dentre os 65 materiais 46 acessos foram selecionados, mantendo a diversidade dos locais de coleta, para a análise molecular. A semeadura foi efetuada em caixas de polipropileno e transferidas para bandejas de poliestireno (200 células), após 10 dias. O transplante ocorreu quando a muda alcançou o estágio de três folhas permanentes. As plantas de tomateiro foram conduzidas com duas hastes no sistema de tutoramento cerca cruzada. O suprimento de água foi fornecido por tubos gotejadores (20-20cm).

2.2. Extração de DNA

Para extração do DNA, folhas jovens de cada acesso foram coletadas pela manhã e mantidas em nitrogênio líquido. As folhas foram então maceradas até a formação de um pó bem fino e este macerado incubado em microtubos, sendo mantidos a -18°C até o momento da utilização. O DNA foi extraído pelo método CTAB, conforme segue: 1 mL do tampão de extração (20 mM EDTA; 100 mM Tris-HCL pH 8,0; 2 M NaCl; 2% CTAB; 2% PVP; 2% β -mercaptoetanol) foi adicionado em um tubo contendo 100 mg de tecido e incubado em banho maria a 65°C por 30 minutos. O DNA foi separado da solução de extração por precipitação com fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) e centrifugação. Após extraído, o DNA foi ressuscitado em TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0; 1 mM EDTA), tratado com RNase (10 mg/mL) a 37°C por 30 minutos armazenado a -20°C até o momento do uso. A quantificação foi realizada em gel de agarose 0,9%.

2.3. Análise com o marcador molecular ISSR

Para a PCR (*Polimerase Chain Reaction*) o DNA de cada cultivar foi amplificado com 12 primers ISSR de acordo reação descrita a seguir: 40 ng de DNA genômico, 2,5 μl de tampão para PCR 1x, 1,5mM de MgCl_2 , 200 μM de cada dNTP, 10 μmol de primer, 1 unidade de Taq DNA polimerase e água até completar um volume de 12,5 μl . Para amplificação a programação do termociclador consistiu de um passo inicial para desnaturação do DNA de 5 minutos a 95°C , seguidos de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, Temperatura de anelamento do primer (Tabela 1) por 45 segundos e 72°C por 2 minutos. Ao final dos 35 ciclos foi realizado um passo de 72°C por 7 minutos para extensão final dos fragmentos amplificados. O produto da PCR foi separado em gel de agarose 3% e corados com brometo de etídio.

2.4. Dados dos marcadores

Foi avaliado o número total de bandas amplificadas (NBA), que é a soma do total de bandas amplificadas por todos os primers. O número de bandas polimórficas (NBP), que é a proporção das bandas polimórficas entre o total de bandas amplificadas e a porcentagem de bandas polimórficas (PBP) de cada primer. Ainda, o número de locos raros (NLR) que corresponde aos locos que estão presentes em até 15% dos genótipos e o número de locos únicos (NLU), são aqueles presentes em apenas um genótipo. Também foram avaliados o número de locos semelhantes (NLS), sendo aqueles que ocorrem entre 15 até 70% dos genótipos e o número de locos comuns (NLC) representando os fragmentos que aparecem em mais de 70% dos acessos.

2.5. Atributos dos marcadores

O poder de discriminação dos primers ISSR foi avaliado usando 3 parâmetros: Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), Índice do Marcador (MI) e Poder de resolução (RP).

Conteúdo de informação polimórfica (PIC)

Os valores de PIC para cada loco de ISSR foram computados como:

$$PIC_i = 2f_i(1 - f_i)$$

onde PIC_i é o conteúdo de informação polimórfica do primer i , f_i é a sequencia dos locos amplificados (presença de bandas), e $1-f_i$ é a frequência dos alelos nulos (ROLDAN-RUIZ et al., 2000).

Índice do Marcador (MI)

O MI foi calculado de acordo com Varshney et al. (2009), onde:

$$MI = PIC \times EMR$$

sendo EMR “a relação efetiva do multiplex (E) e é definido como o produto do número total de locos por primer (n) pela a fração de loco polimórficos (β)

$$(EMR = n \cdot \beta).”$$

Poder de resolução (RP)

O RP foi calculado de acordo com Prevost e Wilkinson (1999):

$$RP = \sum I_b,$$

onde I_b representa os locos polimórficos. O I_b pode ser transformado em uma escala de 0-1 usando a fórmula:

$$I_b = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

onde, p é a proporção dos genótipos que contém o loco.

2.6. 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).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 12 primers ISSR testados, 11 foram selecionados por apresentaram polimorfismo e bom perfil de amplificação. Os fragmentos variaram de 100 a 3000 pares de bases, sendo obtido um total de 100 bandas, se sobressaindo os primers 815 (repetição AG) com 12 bandas, os primers 807 (AG), 808 (AG) e 836 (AG) com 11 bandas cada e o primer 878 produziu o menor número de bandas (5) (Tabela 1). Ao considerar o número de bandas polimórficas, os primers 815, 836 e 878 tiveram 100 % de bandas polimórficas, sendo o menos polimórfico o primer 808 com 63,6 %. A média de bandas por primer foi de aproximadamente 9 e de bandas polimórficas chegou a 8 por primer, sendo o polimorfismo médio de todos os primers de 88 %. O alto polimorfismo dos primers demonstra sua acentuada contribuição para o agrupamento dos genótipos de acordo com sua similaridade, aumentando a confiabilidade dos resultados (FRANCO et al., 2001).

Ao avaliar os acessos de tomateiro do banco de germoplasma da UENF, utilizando marcadores RAPD, Gonçalves et al., (2008), encontrou uma porcentagem de bandas polimórficas mais baixa representando 56,06 % do número de bandas totais. A divergência de resultados pode ser devida a diferente origem dos acessos estudados em cada trabalho. Em uma comparação com o trabalho de Melo (2009), que realizou um estudo molecular de espécies do gênero *Solanum*, este polimorfismo (88%) pode ser considerado alto para o tomateiro em análise intraespecífica. O autor relatou que em seu

estudo o polimorfismo intraespecífico não ultrapassou os 16,70 %, no entanto quando analisado o polimorfismo entre as espécies foi de 97,40 %, demonstrando que as espécies do gênero apresentam alta divergência genética. Polimorfismo interespecífico ainda mais alto (98,8 %) foi observado por Kochieva (2002), que estudou o polimorfismo e as relações genéticas entre espécies do antigo gênero *Lycopersicon*. Utilizando o marcador molecular ISSR o polimorfismo intraespecífico variou entre 8,7 % a 65,6 %. O autor ressaltou a eficiência do marcador para análises de diversidade genética dentro do gênero.

Ao estudar a variabilidade de acessos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa por meio de marcadores moleculares ISSR, Aguilera et al. (2011) observaram um número total de bandas igual a 144. No entanto, o polimorfismo médio foi de 36,4 %, sendo que primers individuais variaram de 15 a 72 %. Assim, mesmo com um número de bandas superior o polimorfismo foi bastante inferior ao encontrado no presente trabalho. O autor ressaltou que este resultado pode estar atrelado à seleção consciente praticada pelo homem direcionando para a adaptação aos seus gostos e necessidades no desenvolvimento de linhagens de tomateiro. Ainda neste estudo, o autor também pode observar que o motivo AG foi predominante quanto ao polimorfismo de bandas corroborando com a eficiência por AG encontrada neste trabalho. O alto polimorfismo da repetição AG em tomateiro com marcadores ISSR, também foi obtido por Tikunov et al. (2003), mesmo sendo menos comum na espécie *S. lycopersicum* quando comparado ao restante das combinações presentes neles (AGUILERA, 2011).

O número de locos raros, que ocorrem em menos de 15 % dos acessos, chegou a 20, presentes em quase metade dos genótipos (30). Os primers que apresentaram estes loco foram 807 (2), 808 (2), 809 (1), 810 (3), 811 (3), 815 (5) e 864 (4), podem ser destacados os locos raros do primer 811 que ocorreram apenas nos genótipos 0988-46 e 1254-47 (Tabela 1). Quanto ao número de locos únicos ocorreram 4, amplificados com os primers 810 (2, genótipos IAC404-60 e RVTC-36), 815 (1, genótipo RVTC-65) e 835 (1, genótipo RVTC-39). Segundo Camargo et al., (2013), os locos raros e os locos únicos podem ser utilizados na diferenciação entre genótipos dentro de um banco de germoplasma, assim como seus dados utilizados em programas de melhoramento para técnicas de seleção assistida por marcadores para confirmação de cruzamentos.

Os locos que estavam presentes entre 15 % e 70 % dos genótipos foram classificados como locos semelhantes, e estes foram amplificados com todos os primers, destacando o primer 809 que apresentou apenas 1 loco semelhante. Também, todos os primers apresentaram locos comuns, que são aqueles presentes em mais de 70 % dos

genótipos. Os primers 864 e 878 amplificaram apenas um loco comum, já o primer 809 também se destacou pelo maior número de locos comuns (7) (Tabela 1). Primers que apresentam baixas taxas de locos comuns e semelhantes podem ser considerados mais discriminatórios, auxiliando em estudos que visam o melhoramento genético de plantas, principalmente pela dedução da origem de acessos desconhecidos (TATIKONDA et al., 2009). Assim, dentre os primers o 810, 811 e 864 forneceram o menor número de locos semelhantes e comuns, estando entre os mais discriminatórios.

Algumas análises como conteúdo de informação polimórfica (PIC), índice do marcador (IM) e poder de resolução (RP) são eficientes na discriminação dos primers mais informativos. Além disso, são muito utilizados em diversos estudos para acessar a informação e discriminação de combinações de primers em estudos de diversidade genética (TATIKONDA et al., 2009).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) para cada marcador apresentou variação entre 0,19 (808) a 0,39 (878), com média de 0,27 (Tabela 1). Os primers 878, 861 e 807 proporcionaram os maiores valores de PIC com 0,39, 0,36 e 0,35, respectivamente. O PIC foi descrito primeiramente por Boststein et al. (1980) expressam a qualidade do marcador em estudos genéticos. Esta análise leva em consideração o número total de fragmentos detectados para cada loco para um dado marcador e a frequência destes alelos no conjunto de genótipos investigados (VARSHNEY et al., 2007). O valor máximo de PIC esperado para marcadores bialélicos é de 0,5, sendo considerados mais informativos os primers que apresentam valores em um intervalo entre 0,45 e 0,5. (TATIKONDA et al. 2009). O PIC representa a existência de variabilidade, em que a variabilidade é maior com os maiores valores de PIC. Assim, marcadores ISSR que apresentam essa característica são os mais indicados para estudos de variabilidade (RIBEIRO, 2011). Neste estudo, os marcadores apresentaram valores de PIC baixos, sendo pouco informativos. No entanto os primers 878, 861 e 807 são os mais recomendados para análises de germoplasma de mini-tomates, pois apresentaram os maiores valores dentre os primers.

Tabela 1. Características dos marcadores ISSR, Sequencia (SQ), Temperatura de anelamento (T_A), tamanho das bandas em pares de bases (TPB), total de bandas amplificadas (TBA), total de bandas polimórficas (TBP), porcentagem de polimorfismo (PP), total de locos únicos (TLU), total de locos raros (TLR), total de locos semelhantes (TLS), total de locos comuns (TLC), conteúdo da informação de polimorfismo (PIC), poder de resolução do primer (RP) e Índice do marcador (MI).

Primer	Sequência	T_A	TPB	TBA	TBP	PP (%)	TLU	TLR	TLS	TLC	PIC	RP	MI
807	(AG) ₈ T	52°	250-1500	11	10	90,9	0	2	4	2	0,35	5,48	3,21
808	(AG) ₈ C	50°	250-1000	11	7	63,6	0	2	3	6	0,17	2,72	1,21
809	(AG) ₈ G	55°	100-750	9	8	88,9	0	1	1	7	0,25	2,75	1,98
810	(GA) ₈ T	50°	300-2000	9	8	88,9	2	3	2	2	0,22	2,61	1,72
811	(AG) ₈ C	53°	500-1000	8	7	87,5	0	3	2	2	0,23	2,06	1,58
815	(CT) ₈ G	54°	250-1000	12	12	100	1	5	4	2	0,25	4,37	2,99
835	(AG) ₈ Y*C	54°	200-3000	10	9	90	1	0	3	6	0,21	2,95	1,87
836	(AG) ₈ Y*A	53°	250-2000	11	11	100	0	0	5	6	0,29	4,53	3,21
861	(ACC) ₆	52°	200-900	7	6	85,7	0	0	4	3	0,37	3,95	2,56
864	(ATG) ₆	50°	400-2000	7	5	71,4	0	4	2	1	0,23	2,14	1,6
878	(GGAT) ₄	54°	300-1000	5	5	100	0	0	4	1	0,39	2,8	1,96

*Y: pirimidina C ou T.

Marcadores mais informativos, ou seja, com valores altos para PIC, são melhor aplicados em estudos de variabilidade genética quando apresentam uma correlação positiva com o número de locos polimórficos (TATIKONDA et al., 2009). No entanto, em nosso trabalho esta correlação não foi observada. No estudo da diversidade de um banco de germoplasma de batata-doce, Camargo et al. (2013) também não observaram uma correlação entre seus valores. Os autores ressaltaram, que isto é indicativo de que uma pequena porção de locos polimórficos contribuem mais efetivamente na diferenciação dos genótipos em estudo. Porém, pode-se observar, em nosso estudo, correlação ($R^2 = 0,51 (\geq 0,05)$) entre os valores de PIC e a porcentagem de loco polimórficos.

A análise da frequência de fragmentos polimórficos pelas frequências dos locos nas classes (Figura 1-A) mostrou que um grande número de locos polimórficos se concentra na maior classe (0,9-0,99), seguido pela menor classe (0,0-0,10) de fragmentos polimórficos. Resultados semelhantes foram observado por Gravitol et al. (2010), em que a maior frequência de bandas polimórficas correspondeu a classe 0,9-0,99. Os resultados divergem parcialmente de Tatikonda et al. (2009) com marcadores AFLP, que observaram a maioria das bandas polimórficas na classe de frequência 0,0-0,10, com valores altos, também, na classe de 0,9-0,99. Entretanto, quando a frequência de bandas polimórficas foi correlacionada com a média dos valores de PIC (Figura 1-B), a maioria dos fragmentos polimórficos apresentaram valores baixos de PIC. Os maiores valores de PIC ficaram concentrados no intervalo de frequência de bandas de 0,41-0,50 e 0,51-0,60. Com marcadores AFLP (TATIKONDA et al., 2009) e com marcadores ISSR (GRAVITOL et al., 2010), também foi observados este padrão, onde os fragmentos mais informativos encontraram-se nas frequências de classes de 0,40-0,60, correspondendo a baixas frequências de fragmentos polimórficos.

Os baixos valores de PIC relacionados com as maiores frequências de bandas polimórficas é um resultado esperado, pois estas bandas prevaleceram entre os acessos, tendendo, assim, ao monomorfismo. As bandas menos frequentes também tendem ao monomorfismo, uma vez que apresentam a prevalência de bandas ausentes. No entanto, estas são importantes para a compreensão das relações e semelhanças entre os acessos (Gravitol et al., 2010).

O índice do marcador (MI) leva em consideração a fração de marcadores polimórficos, é o produto entre o índice de diversidade que equivale ao PIC e a razão de multiplex eficaz (EMR). Segundo Tatikonda et al. (2009), não há um valor específico ideal para MI, seus resultados podem ser analisados comparando-se os valores de cada primer do estudo. Esta característica mostrou valores que oscilaram entre 1,21 (808) e

3,52 (807) com média de 2,20, os valores mais altos foram observados nos primers 807 (3,52), 836 (3,20) e 815 (2,99) (Tabela 1). Varshney et al. (2007) destacam que os valores altos para estes primers estão relacionados com altos valores de EMR (Taxa multiplex efetiva), e não necessariamente com altas taxas polimórficas. No entanto, nesse estudo os marcadores que apresentaram altos valores de MI também foram os que apresentaram as maiores porcentagens de polimorfismo. Os primers com os valores mais altos para MI são os mais apropriados para *fingerprint* ou para estimar a diversidade genética, apresentando alto poder discriminatório para os acessos (MARIETTE et al., 2002).

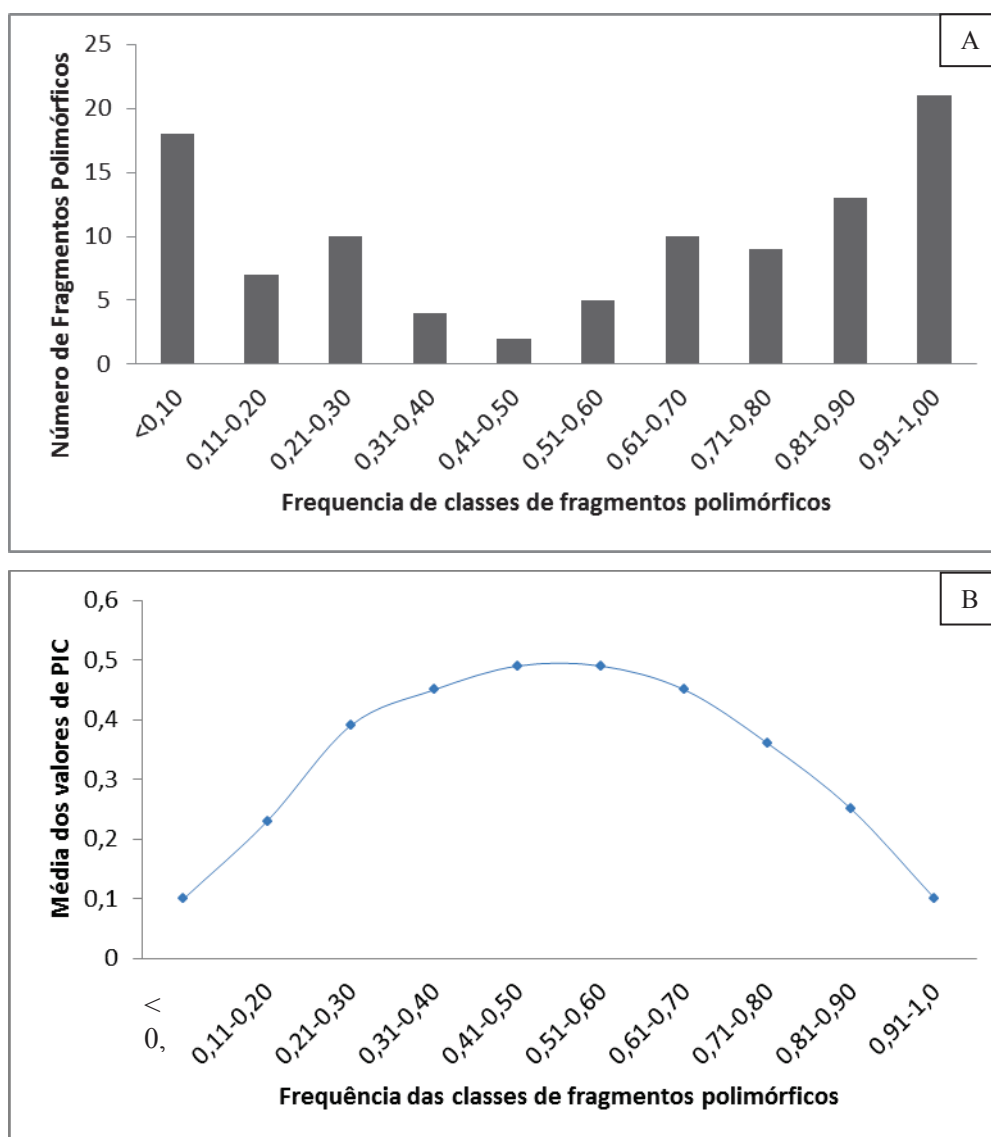


Figura 1. Frequência da distribuição dos fragmentos polimórficos de ISSR em acessos de mini-tomate, em relação ao número de fragmentos polimórficos e pela média dos valores de PIC.

O poder de resolução (RP) de um primer é uma característica da combinação de primers que indica seu potencial discriminatório, altamente correlacionado com diagnóstico de genótipos (PREVOST e WILKINSON, 1999). Neste trabalho seus valores chegaram a 5,48 para o primer 807, também se destacando os primers 836 (4,53) e 815 (4,37). O menor valor encontrado foi de 2,06 para o primer 811, com uma média de 3,28 (Tabela 1). Assim como para RP para MI não há um valor ótimo estabelecido, sendo classificados de acordo com os seus valores mais altos, sendo eles os primers com maior capacidade para discriminação de genótipos (PREVOST e WILKINSON, 1999). Entre os atributos dos primers, foi encontrada correlação positiva entre MI e RP, correspondendo a $R^2 = 0,93$ ($\leq 0,05$), demonstrando que a informação obtida com os primers ISSR para os acessos de mini-tomate é robusta (CAMARGO et al., 2013). Ainda estas correlações positivas entre RP e MI indicam que a utilização de qualquer um dos parâmetros é eficiente para discriminar a combinação de primers mais informativos (TATIKONDA et al., 2009).

Os primers 807 e 861 se destacaram com valores altos para PIC, MI e RP e os primers 815 e 836 apresentaram os valores mais altos para MI e RP, confirmando serem os primers mais informativos. Assim, a discriminação de todos os acessos pode ser realizada por um número menor de primers, utilizando apenas os mais informativos (807, 861, 815 e 836). A diminuição do número de primers acarreta não apenas na diminuição do tempo utilizado para as análises, mas também a diminuição dos custos (VARSHNEY et al., 2007). Na análise para a identificação de genótipos, normalmente, são testados e utilizados um número alto de primers, no entanto trabalhos como de Isshiki et al. (2008) relatam que podem ser utilizados menos primers com a mesma eficiência. Estes autores utilizaram 100 primers para a discriminação de 8 cultivares de *Solanum melongena*, e concluíram que a utilização de apenas 2 já seria suficiente para a identificação dos genótipos. Assim, a análise dos atributos dos marcadores informa a contribuição de cada primer para a identificação dos acessos.

A similaridade genética variou de 0,13 entre os acessos RVTC-15 e IAC420-62 a 0,96 entre os acessos RVTC-25 e RVTC-26, com média de 64%. Altos índices de similaridade foram observados entre os acessos RVTC-02 e RVTC-03 e entre RVTC-07 e RVTC-08. A alta similaridade destes acessos pode estar relacionada com o local de origem de coleta dos materiais. Para RVTC-25 e 26, os acessos são do município de Prudentópolis-PR; e RVTC-07 (Palmital-PR) e RVTC-08 (Santa M^a do Oeste-PR) a distância entre os municípios não ultrapassa 38 km. No entanto a distância entre os municípios de Jardim Alegre-PR (RVTC-02) e Capanema-PR (RVTC-03) chega a 415 km e os acessos apresentaram maior similaridade. Realizando um estudo citogenético e

molecular em nove espécies do gênero *Solanum*, Melo (2009) pôde confirmar que a similaridade genética entre as espécies é baixa (0,28), e que a intraespecífica é alta, demonstrando que a base genética destas espécies é estreita. contraditório

A análise da diversidade genética para o conhecimento da variabilidade entre materiais de interesse torna-se muito vantajoso no processo de identificação de novas fontes de genes (AMARAL JUNIOR e THIÉBAUT, 1999). Para o melhoramento, que busca a variabilidade genética na progênie, com o objetivo da seleção de cultivares superiores, os acessos mais dissimilares são os mais apropriados. Já que nestes cruzamentos procura-se obter o efeito heterótico na geração híbrida e maior probabilidade de recuperação de segregantes superiores em gerações avançadas. No entanto, quando o objetivo é a formação de multilinhas. A prioridade é a identificação e seleção de materiais com alta similaridade (CRUZ et al., 2004).

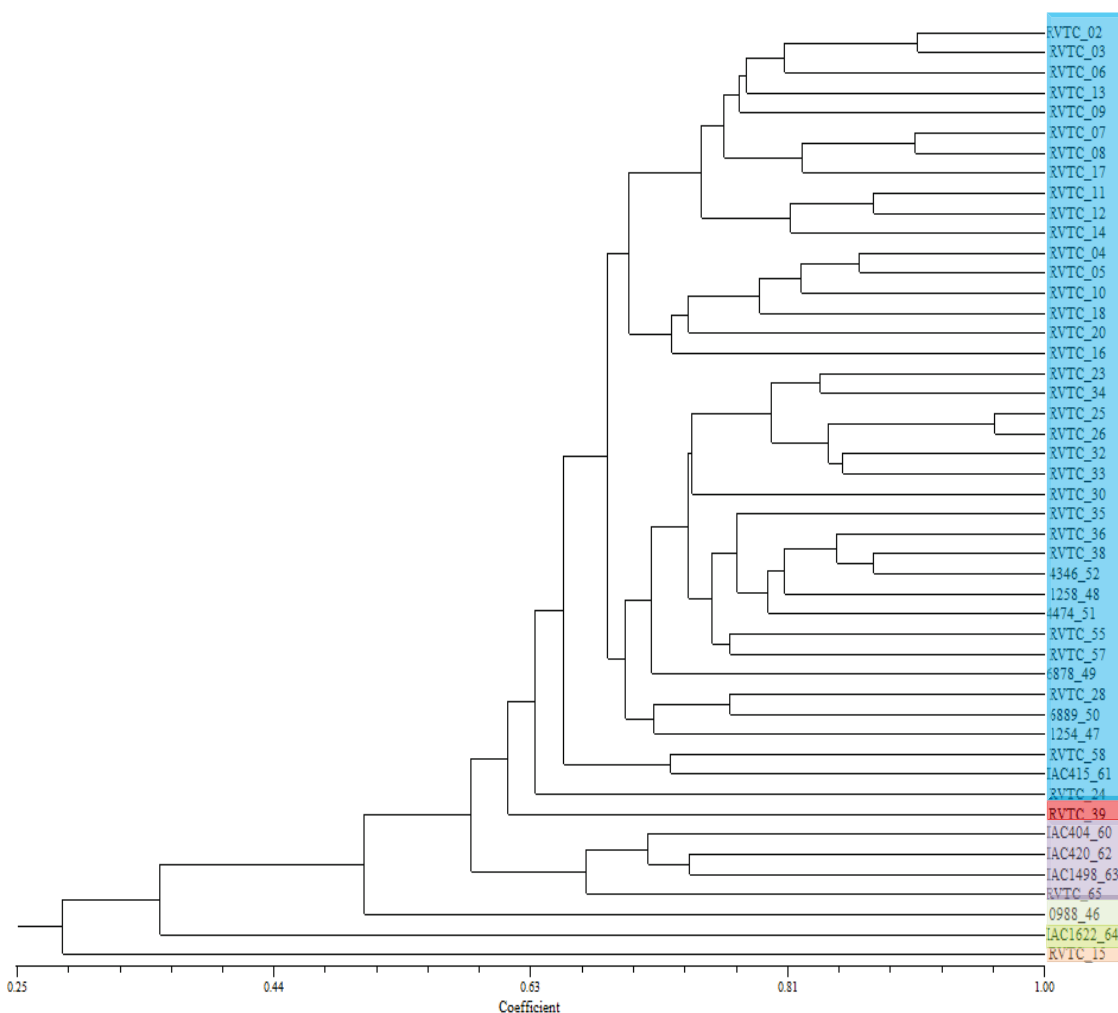


Figura 2. Dendrograma de similaridade genética entre 46 acessos de mini-tomate e a cultivar comercial Sweet Grape, obtido a partir de marcadores ISSR, pelo método de agrupamento UPGMA. A linha pontilhada indica o ponto de corte de 64%, com base na similaridade média entre os acessos.

O dendrograma gerado por meio da similaridade entre os acessos revelou a formação de 6 grupos (Figura 2). O grupo I foi constituído por 28 acessos, o grupo II por 1 acesso, o grupo III por 4 acessos, e os grupos IV, V e VI por 1 acesso cada. O grande número de grupos formados evidencia a variabilidade genética existente entre os acessos avaliados, uma vez que a formação de poucos grupos demonstra uma similaridade alta (MARTINS, 2011).

Os agrupamentos não tiveram uma relação direta com a origem dos materiais, no grupo I foram alocados, em sua maioria, os acessos do Estado do Paraná e de Minas Gerais. O mesmo padrão de agrupamento pode ser observado para os acessos provenientes do IAC que mantiveram-se no grupo II, exceto os acessos IAC415-61 e IAC1622-64. A cultivar Sweet Grape foi agrupado no grupo I. Os grupos I e III apresentaram uma similaridade média entre os acessos constituintes, que variou de 0,64 a 0,69, respectivamente.

A boa caracterização genética molecular de um banco de germoplasma depende do emprego de marcadores moleculares que apresentem boa reprodutibilidade e polimorfismo, assim sendo capazes de discriminar os acessos quanto a sua diversidade. Os primers ISSR, apresentaram PIC com valores considerados baixos, sendo que a baixa frequência dos fragmentos polimórficos, em relação aos maiores valores médios de PIC encontrados, reforçam que a base genética do tomateiro é bastante estreita. Estes resultados corroboram com a similaridade genética (63%) observada entre os acessos, porém pelos valores de similaridade encontrados estes podem ser considerados com potencial genético para a utilização em programas de melhoramento. Os atributos dos marcadores revelaram que podemos reduzir o número de primers ISSR utilizados em mini-tomates de 11 para 4, mantendo ainda a discriminação eficiente entre os acessos.

4. CONCLUSÕES

Os locos com baixa frequência de fragmentos foram os mais informativos para distinguir os acessos.

Os primers 807, 815, 836, 861 e 878 combinados ofereceram boa discriminação dos acessos de mini-tomate, podendo substituir todos os primers utilizados.

Os acessos de mini tomates estudados apresentam alta similiaridade, no entanto ainda há potencial de exploração no melhoramento.

5. REFERÊNCIAS

AGUILERA, G. J.; PESSONI, L. A.; RODRIGUES, B. G.; ELSAYED, A. Y.; SILVA,

D. J. H.; BARROS, E. G. Genetic variability by ISSR markers in tomato. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v. 6, n. 2, p. 243-252, 2011.

ALVARENGA, M.A.R.; **Tomate: produção em campo em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras. Editora UFLA, 2004.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal Human Genetic**, vol. 32, pag. 314–331. 1980.

BROWN, A.H.D; BURDON, J.J.; JAROSZ, A.M. Isozyme analysis of plant mating systems. In: DOUGLAS, E.S.; SOLTIS, P.S. (Ed.). *Isozymes in plant biology*. London: **Chapman and Hall**, 73-86. 1989.

CAMARGO, L.K.P.; MÓGOR, A.F.; RESENDE, J.T.V.; DA-SILVA P.R. Establishment and molecular characterization of a sweet potato germplasm bank from the highlands of Paraná state, Brazil. **Genetic Molecular Research**, (aceito para publicação). 2013.

CARELLI, B.P. **Estimativa de variabilidade genética em acessos crioulos e cultivares comerciais de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) do sul do Brasil e avaliação da presença do gene Mi**. Tese (Doutorado), São Carlos, UFSCAR, 2003.

FERREIRA, F.M. **Diversidade em populações simuladas com base em locos multialélicos**. (Tese Doutorado). Viçosa – MG, UFV. 2007

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ª ed. Brasília. 1998. 220p.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças** – Viçosa, UFV, 2008.

FRALEIGH, B. Global overview of crop genetic resources. In: RUANE, J.; SONNINO, A. *The role of biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources*. Rome: **FAO**, 2006. p.21-31.

FRANCO, M.C.; CASSINI, S.T.A.; OLIVEIRA, V.R.; TSAI, S.M. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. Vol. 36, pag 381-385. 2001.

GONÇALVES LSA; RODRIGUES R; SUDRÉ CP; BENTO CS; MOULIN MM; ARAÚJO ML; DAHER RF; PEREIRA TNS; PEREIRA MG. Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultura Brasileira**. Vol 26, pag. 364-370. 2008.

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 Rep**, vol. 10, pag. 547-557. 2010.

ISSHIKI, S.; OKUBO, H.;FUJIEDA, K. ISSR variations in eggplant (*Solanum*

- melongena*). **Scientia Horticulturae**, v. 117, p. 186-190. 2008.
- KOSHIEVA, E.Z.; RYZHOVA, N.N.; KHRAPOLOVA, I.A.; PUKHALSKYI, V.A. Using RAPD for estimating genetic polymorphism in and phylogenetic relationships among species of the genus *Lycopersicon* (Tourn) Mill. **Russian Journal of Genetics**, num. 38, vol. 9, pag. 1104-1108. 2002.
- MARIETTE, S.; LE CORRE, V.; AUSTERLITZ, F.; KREMER, A. Sampling within the genome for measuring within-population diversity: trade-offs between markers. **Molecular Ecology**, vol. 11, pag. 1145–1156. 2002.
- MARTINS, F.A. **Integração de dados morfoagronômicos, moleculares e fitopatológicos para estabelecimento de coleção nuclear**. Tese doutorado, UFV, Viçosa-MG, 2011. 119f.
- MARTINS, F.A.; CARNEIRO, P.C.S.C.; SILVA, D.J.H.; CRUZ, C.D.; CARNEIRO, J.E.S. Integração de dados em estudos de diversidade genética de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.11, p.1496-1502. 2011.
- MELO, C.A.F. **Estudo citogenético e molecular em nove espécies do gênero *Solanum L.* (Solanacea A. Juss)**. Dissertação Mestrado, UFRPE, Recife. 2009. 88f.
- PREVOST, A.; WILKINSON, M.J. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. **Theory Applicate Genetic**. Vol. 98, pag 107–112.
- RAMALHO, M.A.P.; FURTINI, I.V. Técnicas biotecnológicas aplicadas ao melhoramento vegetal: alcance e limites. **Revista Ceres**, Lavras – MG. vol. 56:473-479. 2009.
- REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, p. 9–17, 2002.
- RIBEIRO, I. C. N. S. **Análise da divergência genética em acessos de *Mangifera indica* com base em descritores agro-morfológicos e marcadores microssatélites**. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana. 2011. 114 f.
- RODRIGUES, J.F. **Delimitação de espécies e diversidade genética no complexo *Cattleya coccínea* Lindl. e *C. Mantiqueirae* (Flowie) Van der Berg (Orchidaceae) baseada em marcadores moleculares ISSR**. Dissertação (Mestrado), ESALQ/USP. Piracicaba, 2010. 81f.
- ROLDAN-RUIZ, I.; DENDAUW, J.; VANBOCKSTAELE, E.; DEPICKER, A.; DE LOOSE, M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.), **Molecular Breeding**. vol. 6, pg. 125–134. 2000.

- SAAVEDRA, G.; SPOOR, W.; HARRIER L. Molecular markers and genetic base broadening in *Lycopersicum* spp.. **Acta Horticulturae**.vol. 546, pag. 503-507. 2001.
- SACCARO JR, N.L. A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. **Ambiente e Sociedade**, Campinas, núm. 1, vol. 14, pag. 229-244. 2011.
- SALAZAR, S.; LAURENTÍN, H.; DÁVILA, M.; CASTILLO, M.A. Reliability of the RAPD technique for germplasm analysis of Sesame (*Sesamum indicum* L) from Venezuela. **Revista Interciencia**, vol. 31, pag. 456-460. 2006.
- TATIKONDA, L.; WANI, S.P.; KANNAN, S.; BEERELLI, N.; SRUDEVI, T.K.; HOISINGTON, D.A.; DEVI, P.; VARSHNEY, R.K. AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L. biofuel plant. **Plant Science**. Vol. 176, pag. 505-513. 2009.
- TIKUNOV Y.M., KHRUSTALEVA L.I., KARLOV G.I. Application of ISSR markers in the genus *Lycopersicon*. **Euphytica**, vol.131, pag. 71–80, 2003.
- VARSHNEY, R.K.; THIEL, T.; SRETENOVIC-RAJICIC, T.; BAUM, M.; VALKOUN, J.; GUO, P.; GRANDO, S.; CECCARELLI, S.; GRANER, A. Identification and validation of a core set of informative genic SSR and SNP markers for assaying functional diversity in barley, **Molecular Breeding**. Vol. 22, pag. 1–13. 2009.

CAPÍTULO II

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE MINI-TOMATE POR MEIO DE CARCTERES MORFOAGRONÔMICOS

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro encontra-se entre as espécies cultivadas que mais sofreram modificações morfológicas e genéticas em comparação aos seus genitores silvestres. Estas mudanças foram ocasionadas, entre outros fatores, pelo intenso melhoramento aplicado ao tomateiro. Deste modo, houve afinamento da base genética, restringindo as opções de estratégias para melhoramento (TANSKLEY e FULTON, 2007). A introdução dos grupos de mini tomate e saladete podem oferecer novas perspectivas de desenvolvimento de cultivares superiores e expandir, ainda mais, o mercado (ROCHA, 2009).

O mini tomate, em particular, foi introduzido no mercado nos anos 90, sendo amplamente aceito pelo consumidor, devido pelo seu tamanho reduzido e coloração intensa (SANTOS, 2009). Por apresentar variadas formas, coloração e tamanho, o termo mini-tomate tem sido bastante aceito para designar este segmento de frutos (ALVARENGA, 2004) que se disseminou e hoje ocorre naturalmente em vários pontos do planeta, podendo ser uma excelente fonte de variabilidade (FILGUEIRA, 2008).

As pesquisas visando a manutenção dos recursos genéticos devem ser consideradas como formas importantes de conservação da diversidade genética, assim como uma forma de acesso à variabilidade genética dos materiais (ROCHA, 2008). Há um sistema complexo de classificação e agrupamento, baseado em caracteres morfológicos e, mais recentemente, em dados moleculares, que facilitam a discriminação dos acessos (COSTA, 2010). Dentre as avaliações de diversidade, os caracteres morfológicos quantitativos estão entre os mais estudados em hortaliças e baseiam-se nos dados métricos das plantas. No entanto, as características multicategóricas complementam de forma singular as informações e a caracterização de acessos, sendo importantes em avaliações de bancos de germoplasma (SUDRÉ et. al., 2007).

As pesquisas para caracterização e estudos de diversidade genética em bancos de germoplasma de mini-tomates, encontram-se em crescimento, sendo assim necessários estudos que aprimorem estes conhecimentos, além de fornecer perspectivas para o

melhoramento da espécie. Além disso, permite o avanço de pesquisas para melhoria dos sistemas de produção, assim como estabelece condições de cultivo peculiares aos materiais e da sua adaptabilidade (CARELLI, 2003).

A partir deste eminente potencial, mini-tomates armazenados em bancos de germoplasma podem ser utilizado como fonte de variabilidade em programas de melhoramento. Portanto, o objetivo deste trabalho foi a caracterização morfoagronômica e da diversidade morfológica entre acessos de mini-tomates do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento e material vegetal

O trabalho foi conduzido na Universidade Estadual do Centro-Oeste, *Campus* CEDETEG, em Guarapuava-PR, (25°23'36" de latitude, 51°27'19" de longitude e 1.120 m de altitude). Os acessos de tomate foram cultivados no Setor de Olericultura do Departamento de Agronomia. Foram avaliados 64 acessos de mini-tomates provenientes do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste (RVTC-UNICENTRO), mais a cultivar Sweet Grape (Sakata Seeds®) (Anexo XII).

2.2. Tratos culturais

A semeadura foi efetuada em bandejas de poliestireno (200 células). O transplântio para o campo ocorreu 15 dias depois, quando as mudas alcançaram o estágio de três folhas permanentes. As plantas foram conduzidas com duas hastes no sistema tutorado, sendo realizadas desbrotas semanais. O suprimento de água foi fornecido por tubos gotejadores (20-20 cm).

2.3. Delineamento experimental

O delineamento foi em blocos ao acaso, com três repetições, com quatro plantas por parcela, totalizando 195 parcelas. O espaçamento utilizado foi de 0,5 m entre plantas e 1,0 m entre linhas.

2.4. Análises morfológicas

2.4.1. Análises dos caracteres quantitativos

Diâmetro do fruto e comprimento do fruto

Para esta característica foram avaliados 15 frutos por parcela, utilizando paquímetro digital manual, sendo os dados expressos em milímetros (mm). As medidas consistiram na avaliação comprimento e diâmetro dos frutos, respectivamente.

Largura da folha

A largura da folha foi medida em suas maiores extremidades e seus valores expressos em centímetros (cm). Foram realizadas 4 repetições por parcela, com folhas da região mediana da planta.

Inserção do primeiro cacho floral

Foram avaliadas todas as plantas do experimento, sendo mensurada a distância entre o solo e a inserção do primeiro cacho floral. Seus valores foram expressos em centímetros (cm).

Número de frutos e de flores por cacho

Para mensurar o número de flores e frutos, foram considerados cachos a partir do 2º até o 8º, sendo realizada a contagem para todas as plantas do experimento.

Desenvolvimento dos frutos

O desenvolvimento dos frutos corresponde ao número de dias desde a antese até a colheita do fruto completamente maduro. Foram marcadas todas as flores que entravam em antese durante 10 dias, no início da floração. Durante a colheita eram distinguidos os frutos marcados e contados os dias até a colheita.

Distanciamento entre nós

Foi considerado o distanciamento entre os nós da parte média da planta, entre o 4º e 6º cacho floral. A medição foi expressa em centímetros (cm) e realizada em todas as plantas.

Diâmetro do caule

Foram avaliadas todas as plantas do experimento, na região do 1º cacho floral. A medição foi realizada por meio de paquímetro digital e os dados expressos em milímetros (mm).

Massa média dos frutos por planta

Os frutos colhidos apresentavam-se em estágio parcial ou completo de maturação, sendo então imediatamente contados e pesados. Para obter a massa média dos frutos por planta foi utilizada a fórmula:

$$\text{Massa média dos frutos} = \text{Número Total de Frutos} / \text{Massa total dos frutos}$$

Sendo expressos os valores em g fruto⁻¹.

Produção por planta

Foi considerada a massa total dos frutos colhidos, e os resultados expressos em g planta⁻¹.

Sólidos solúveis (SS)

Foram coletados 15 frutos maduros representativos de cada tratamento e identificados. Estes foram colhidos, suas sementes retiradas e por seguinte as amostras congeladas a -18°C, devidamente separadas conforme tratamento. Para as análises os tomates foram descongelados e a polpa homogeneizada em triturador doméstico, sendo determinados os sólidos solúveis, em refratômetro digital portátil (modelo PAL%1), e os valores expressos em °Brix.

2.4.2. Análises dos caracteres multicategóricos (qualitativos)

Todos os parâmetros qualitativos foram baseados na avaliação proposta pelo IPGRE (Instituto Internacional de Recursos Genéticos de Plantas), como descritores para o tomate. As escalas de notas estão presentes no Anexo X.

Tipo de folha e Foliolo

Foram definidos os principais tipos de folhas que ocorriam, sendo elaborada uma escala de notas de 1 a 5 (Anexo I). Para os folíolos foram atribuídas notas de 1 a 3 para selecionar folíolos pouco, moderadamente ou muito recortados, respectivamente (Anexo II).

Região estilar do fruto

Os frutos foram classificados de acordo com o formato da região estilar em: ponteadado, estrelado e linear (Anexo IV).

Formato da região terminal

A região terminal do fruto foi classificada como endentada, aplanada ou pontiaguda (Anexo V).

Formato do fruto

O formato do fruto foi classificado de 1 a 7 como: achatado, ligeiramente achatado, redondo, redondo alargado, cordiforme, cilíndrico e periforme (Anexo III).

Ombro do fruto

O ombro do fruto foi avaliado em aplanado, ligeiramente fundido, moderadamente fundido e muito fundido (Anexo VII).

Coloração inicial e final do fruto

A coloração foi avaliada no início e final da maturação, sendo construídas

escalas de 4 pontos. A coloração final recebeu conotação de 1 a 5 (Anexo VIII).

Padrão do cacho floral

Foi demarcada uma escala de 1 a 3 de acordo com o padrão apresentado para o cacho floral, frutos com mesmo ângulo de inserção ao eixo principal, eixo principal ramificado e os dois tipos anteriores mistos (Anexo IX).

Padrão de inserção da folha

O padrão foi definido de acordo com o ângulo de inserção da folha no caule, sendo em ângulo agudo, reto e obtuso (Anexo VI).

2.5. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à ANOVA, e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para estudos de diversidade genética entre os acessos, os dados multicategóricos primeiramente foram transformados em uma matriz binária em que cada variável analisada foi subdividida em função do número de classes, de forma que cada classe correspondeu a uma coluna da matriz binária. A partir da matriz binária foi obtida a matriz de distâncias utilizando-se o índice $\Sigma(b+c)/(a+b+c+d)$, em que: *a* é o valor que quantifica o número de coincidência do tipo 1-1 para cada par de genótipo; *b* é o valor que quantifica o número de discordância do tipo 1-0 para cada par de genótipo; *c* valor que quantifica o número de discordância do tipo 0-1 para cada par de genótipo; *d* valor que quantifica o número de coincidência do tipo 0-0 para cada par de genótipo. A partir dos dados quantitativos foi obtida uma matriz de distância generalizada de Mahalanobis (D^2). Posteriormente, as matrizes de distâncias foram padronizadas dividindo-se o valor de cada elemento pelo respectivo desvio padrão, reduzindo a amplitude de variação dos dados em ambas as matrizes. A partir das matrizes padronizadas, foi obtida uma matriz conjunta, em que cada elemento foi composto pela média das distâncias padronizadas de cada conjunto de dados. Para gerar o dendrograma, as distâncias foram padronizadas de 0-1, sendo a maior distância correspondendo a 0% e a menor distância a 100%. Após a transformação, os valores foram subtraídos de 1. Esta transformação foi feita para facilitar a comparação com os dados de similaridade/divergência genética obtidas pelos marcadores ISSR. Foi utilizado o método de agrupamento UPGMA. A contribuição relativa dos caracteres foi

estimada pelo método de Singh (1981). As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico Genes (Cruz, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características morfológicas utilizadas para a análise de divergência genética foram as que apresentaram diferenças estatísticas significativas, menos a produtividade que apresentou alta contribuição relativa (99%) para os agrupamentos, sendo excluída (Anexo XIV). A distância entre os acessos variou de 0,00023 para os acessos IAC1498-63 (Artur Nogueira - SP) e 2298-45 (Viçosa - MG) a 0,93 entre os acessos RVTC-33 (Palotina - PR) e RVTC-40 (Itumirim - MG) e RVTC-13 (Ponta Grossa - PR) e 1254-47 (Viçosa - MG). Como são acessos da mesma espécie, o resultado reflete o grau de divergência genética encontrado entre eles e a importância de serem conservados no banco de germoplasma, a fim de manter a alta variabilidade entre os materiais (DATTATRAY, et al., 2010; AGUILERA, 2007). Os acessos mais discrepantes, que apresentaram valores de distâncias acima de 0,90, corresponderam a 7 combinações e foram observadas 3 combinações de genótipos que apresentaram distância inferior a 0,1.

A distância média de 0,60 pode ser considerada alta, levando-se em consideração a padronização de 0-1 realizada, demonstrando que há variabilidade presente entre os acessos de mini-tomate (como demonstrado pelas 7 combinações de genótipos mais distantes). Quando as distâncias médias foram avaliadas individualmente para cada genótipo em relação aos outros, o genótipo RVTC-36 foi o mais distante (0,72) para com todos os outros genótipos, seguido pelos acessos RVTC-33 (0,71), RVTC-58 (0,71) e RVTC-21 (0,71). Já os acessos IAC1498-63 e 6889-50 foram os mais próximos em relação aos outros acessos, com os valores de 0,35 e 0,47, respectivamente.

A cultivar Sweet Grape, um híbrido comercial de mini-tomate plantado em larga escala, apresentou um valor médio de distância com todos os genótipos de 0,59, dentro da média de distância entre todas as combinações dos genótipos. Ao avaliar a distância dos acessos quanto à Sweet Grape, se destacam os genótipos RVTC-57 (0,76) e RVTC-36 (0,73), RVTC-58 (0,73), RVTC-15 (0,73) e 4474-51 (0,73) mais distantes e o genótipo 1448-63 (0,31) o mais próximo. Como o híbrido Sweet Grape apresenta características agrônomicas desejáveis, esta divergência com os outros acessos poderia ser utilizada em programas de melhoramento para obtenção de indivíduos superiores (CRUZ E CARNEIRO, 2003). Os genótipos mais distantes podem ser utilizados como genitores com características superiores para o desenvolvimento de cultivares com

características de interesse agrônomo (CRUZ et al., 2004). As cultivares brasileiras de tomate são derivadas, em sua maioria, de material dos Estados Unidos e Europa. Mesmo que sejam encontrados genótipos selvagens no país, estes tem a mesma origem das seletas linhagens das quais derivaram (CARELLI et al., 2006). Este fato poderia explicar a proximidade do híbrido comercial com alguns genótipos aqui estudados.

Com o agrupamento pelo dendograma, os acessos foram separados em oito grupos (Figura 1), com ponto de corte na distância de 0,60, que corresponde a distância média entre os acessos. A formação de um número razoável de grupos em um dendograma demonstra a existência da variabilidade genética entre os acessos avaliados, uma vez que a formação de poucos grupos representa uma distância genética baixa (MARTINS, 2011). Os grupos foram divididos: grupo I com 50 acessos, o grupo II com 3 acessos, o grupo III com 2 acessos, o grupo IV com 5 acessos, o grupo V com 1 acessos, o grupo VI com 1 acesso, o grupo VII com 2 acessos e o grupo VIII com 1 acesso. Não foi observada relação entre o local de coleta e os agrupamentos. Muitos acessos de mini-tomate foram provenientes de outros bancos de germoplasma, assim possivelmente apresentando materiais distintos entre si, o que explicaria os seus genótipos dispersos entre os grupos no dendrograma. Neste estudo, foram observadas diferenças consideráveis entre a distância média de cada grupo formado, enquanto o grupo VII foi congregado com acessos que apresentam 0,65 de distância, o grupo II apresentou até 0,74 de distância entre seus genótipos.

Foi realizada a análise da contribuição relativa entre os caracteres morfológicos multicategóricos e quantitativos. A contribuição relativa apresentou boa distribuição entre os 20 caracteres analisados, variando entre 21,03 % e 0,06 %. A maior contribuição relativa para a divergência entre os acessos (Tabela 2), segundo o método de Singh (1981) foi a inserção do primeiro cacho floral (21,03 %), seguidos por frutos por cacho (16,54 %), comprimento do fruto (8,71 %) e massa média do fruto (7,57 %). Mas, mesmo que muitas das características tenham contribuído pouco para a divergência dos acessos (Flores por cacho – 0,07% e largura da folha – 0,06%) estas não devem ser descartadas, pois podem ser utilizadas em pesquisas futuras (REGO et al., 2003). Assim como, muitas características morfoagronômicas avaliadas, que do ponto de vista prático, não são muito valorizadas, no entanto apresentam similar importância para a caracterização destes acessos ou mesmo cultivares em bancos de germoplasma (SUDRÉ et al., 2007).

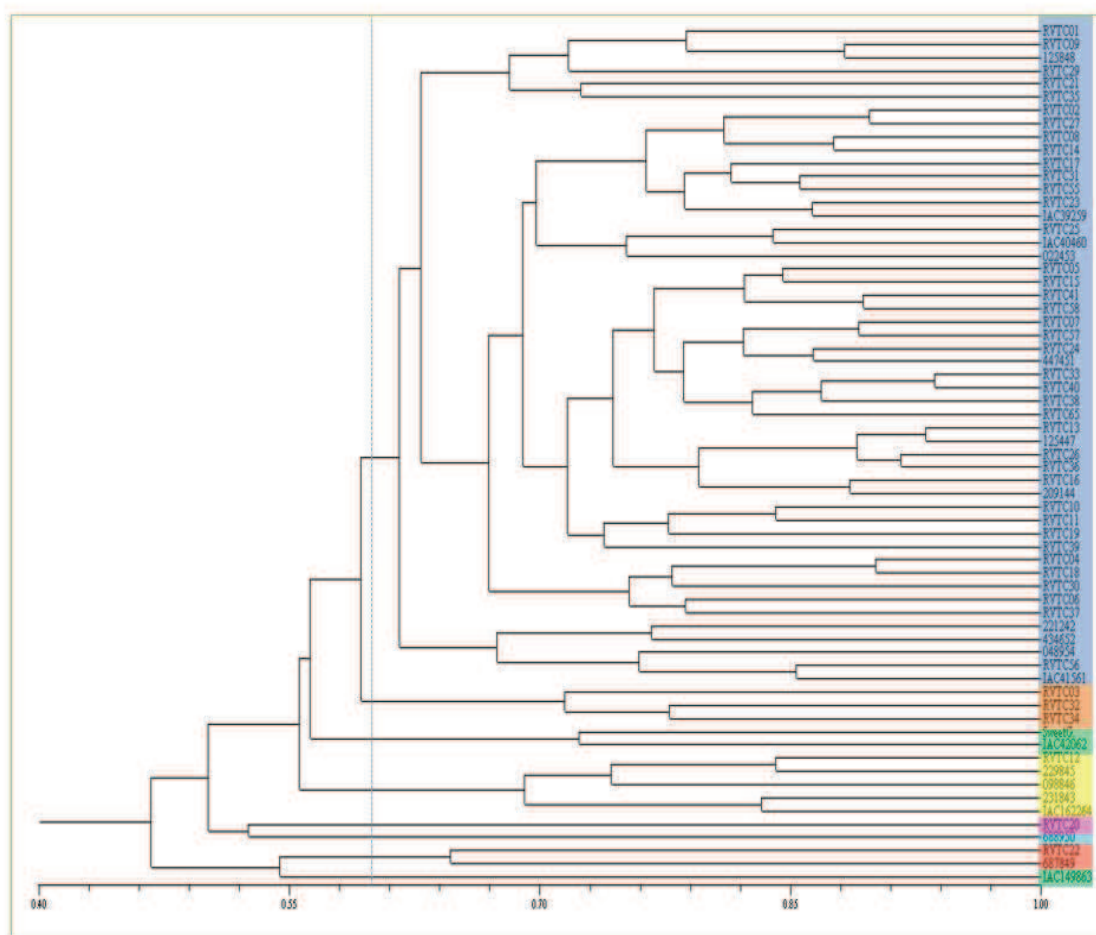


Figura 1. Dendrograma de análise de agrupamento de 65 acessos de mini-tomate pelo método UPGMA.

Quando avaliados pelos caracteres multicategóricos os acessos apresentaram uma distância genética que variou entre 0,33 (RVTC-38 e RVTC-40 e entre RVTC-41 e IAC392-59) e 0,29 (RVTC-01 e IAC1498-63). Estudando a divergência genética em tomateiro por meio de marcadores moleculares e multicategóricos, Gonçalves et al., (2008) observaram uma distância média de 0,19, inferior a obtida neste estudo (0,60). No entanto, bastante similar aos 0,65 de distância média obtido por meio de marcadores RAPD em acessos de tomateiro. A baixa distância genética pode ser atrelada a variação não adaptativa das características qualitativas e, portanto, não sujeita a seleção, tanto natural ou artificial, diferente das características quantitativas que estão sujeitas a ambas as seleções (QUINTAL et al., 2012). A diferença entre os estudos, provavelmente, é resultado da diferente origem dos locais de coleta de cada conjunto de acessos estudados (GONÇALVES et al., 2008).

A distância morfológica mostra uma boa variabilidade genética entre os acessos de mini-tomate. No entanto, quando comparada a similaridade média resultante dos marcadores moleculares (CAPÍTULO I), confirma o que foi relatado por Labate e

Roberts (2002), que no tomate cultivado é predominante o monomorfismo molecular mesmo que haja variabilidade morfológica. Ainda, confirma a interferência do ambiente no desempenho agrônomico do tomateiro, principalmente para os caracteres métricos. A interferência do ambiente nos caracteres quantitativos está diretamente relacionada com o número de genes que conferem esta característica, sendo inversamente proporcionais (VIEIRA, 2004). Igualmente, demonstra que para uma boa caracterização de acessos dos bancos de germoplasma, análises por meio de marcadores genéticos agregam informações mais detalhadas juntamente aos marcadores morfológicos, uma vez que os marcadores moleculares aleatórios amplificam tanto regiões que codificam características fenotípicas quanto as não codificadoras (GONÇALVES et al., 2008b).

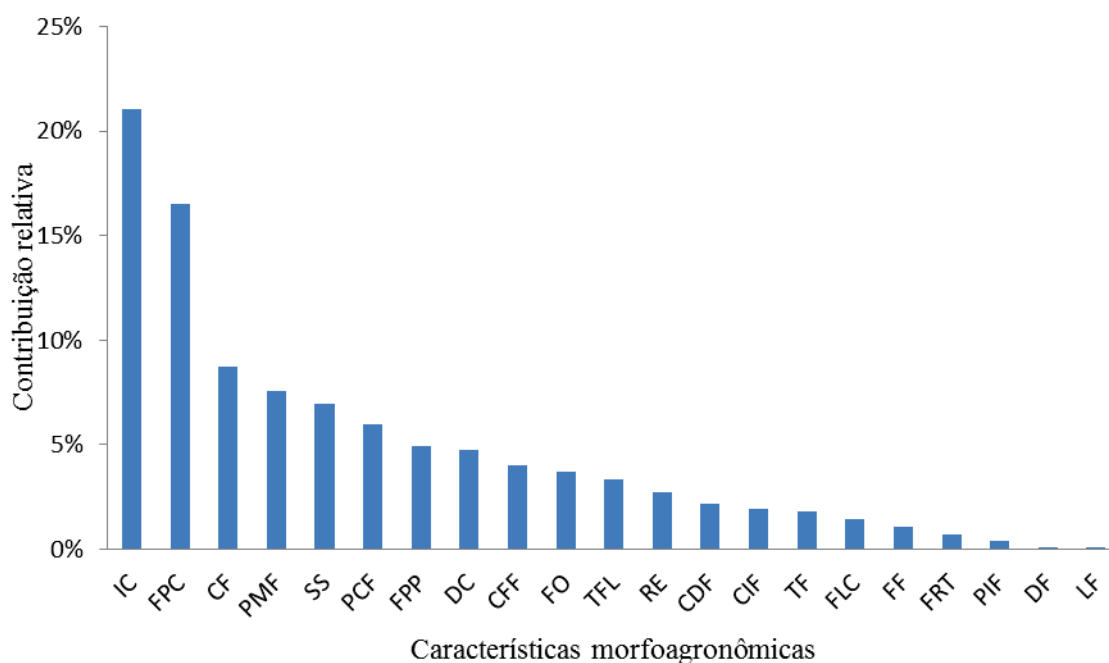


Figura 2. Contribuição relativa de 21 características morfoagronômicas, IC (inserção do primeiro cacho floral), FPC (frutos por cacho), CF (comprimento do fruto), PMF (peso médio do fruto), SS (sólidos solúveis), PCF (padrão do cacho floral), FPP (frutos por planta), DC (diâmetro do caule), CFE (coloração final dos frutos), FO (formato do ombro do fruto), TFL (tipo de folíolo), RE (formato da região estilar do fruto), CDF (ciclo de desenvolvimento dos frutos), CIF (coloração inicial do fruto), TF (tipo de folha), FLC (flores por cacho), FF (formato do fruto), FRT (formato da região terminal do fruto), PIF (padrão de inserção da folha), DF (diâmetro do fruto) e LF (largura da folha).

A caracterização dos bancos de germoplasma fornece informações importantes para caracterização e escolha de acessos com potencial para desenvolvimento de

cultivares superiores. Além disso, fornecem subsídios para implantação de programas de melhoramento, a partir de seu desempenho agrônomico e características genéticas peculiares e com características que atendam consumidores e produtores. A divergência genética observada entre os acessos, principalmente quanto aos caracteres morfológicos, sugere uma boa variabilidade genética, no entanto pela falta de ligação com os locais de coleta entende-se a necessidade da caracterização molecular para os acessos.

3. CONCLUSÕES

A divergência genética observada entre os caracteres morfoagronômicos demonstra a existência de variabilidade entre os acessos de mini-tomate.

As combinações envolvendo os acessos RVTC-36, RVTC-33, RVTC-58 e RVTC-21, que apresentaram maior distância permite combinações promissoras para utilização em programas de melhoramento genético para mini-tomate.

O acesso IAC1498-63 foi o com menor distância em relação aos outros acessos.

4. REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A.R.; **Tomate: produção em campo em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras. Editora UFLA, 2004.
- CARELLI, B.P. **Estimativa de variabilidade genética em acessos crioulos e cultivares comerciais de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) do sul do Brasil e avaliação da presença do gene Mi**. Tese (Doutorado), São Carlos, UFSCAR, 2003.
- CARELLI, B.P.; GERALD, L.T.S.; GRAZZIOTIN, F.G.; ECHEVERRIGARAY, S. Genetic diversity among Brazilian cultivars and landraces of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. revealed by RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.53, p.395-400, 2006.
- COSTA, J. L. C.; OLIVEIRA, E. J. de; OLIVEIRA, G. A. F.; SILVA, A. dos S.; YAMAGISHI, M. E. B. **Minissatélites: novas ferramentas moleculares para o mamoeiro**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Natal. Frutas: saúde, inovação e responsabilidade: anais. Natal: **Sociedade Brasileira de Fruticultura**, 2010.
- CRUZ, C.D. et al. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético II**. Viçosa: UFV, 2004. 480p.
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. 585p.

- FALCONER, D.S. 1989. **Introduction to quantitative genetics**. Longman, London, London.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças** – Viçosa, UFV, 2008.
- GONÇALVES, L.S.A.; RODRIGUES R.; SUDRÉ C.P.; BENTO C.S. Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultuira Brasileira**. Vol. 26, pag. 364-370. 2008a.
- GONÇALVES, L.S., RODRIGUES R., AMARAL JR A.T., KARASAWA, M. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, vol. 7, pag. 1289-1297. 2008b.
- GONÇALVES, LVA. Divergence among tomatoes using Ward-MLM traits description plant growth type. **Genetics and Molecular Research**, vol. 8, pag. 364-374. 2009.
- LABATE, J.A.; ROBERTS, L.D. **Genetic variation in heirloom versus modern tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivars**. p. 27 In: Program for the 43 rd Annual Meeting of the Society for Economic Botany, NY Botanical Garden, NYC, NY. 2002.
- MARTINS, F.A. **Integração de dados morfoagronômicos, moleculares e fitopatológicos para estabelecimento de coleção nuclear**. Tese doutorado, UFV, Viçosa-MG, 2011. 119f.
- QUINTAL, S.S.R.; VIANA, A.P.; GONÇALVES, S.L.A.; PEREIRA, M.G.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Divergência genética entre acessos de mamoeiro por meio de variáveis morfoagronômicas. **Ciências Agrárias**. Londrina - PR. Vol. 33, pag. 131-142. 2012.
- RÊGO, E.R.; RÊGO, M.M.; CRUZ, C.D.; CECON, P.R.; AMARAL, D.S.S.L.; FINGER, F. Genetic diversity analysis of peppers: a comparison of discarding variable methods. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 19-26, 2003.
- ROCHA, M. C. **Variabilidade fenotípica de acessos de tomate cereja sob manejo orgânico: características agronômicas, físico-químicas e sensoriais**. Tese (Doutorado), UFRRJ - Seropédica – RJ. 2008. 213 f.
- ROCHA, M.Q.; GONÇALVES, L.S.A.; CORRÊA, F.M.; RODRIGUES, R.; SILVA, S.L.; ABOUD, A.C.S. Descritores quantitativos na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, pag. 664-670, mai-jun, 2009.
- SANTOS, S.C.L. Sugestão de cultivo orgânico do tomate cereja no IFRN, campus Ipanguaçu. **Procedimentos Técnicos**. Ipanguaçu. 2009.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics e Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.
- SUDRÉ, C.P.; LEONARDECZ, E.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A.T.;

MOURA, M.C.L.; GONÇALVES, L.S.A. Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. **Horticultura Brasileira** v. 25, n. 4, p. 496-503. 2007.

TANKSLEY S. D.; FULTON T. M. Dissecting quantitative trait variation: examples from the tomato. **Euphytica**, v. 154, p. 365-370, 2007.

VIEIRA, E.S.N. **Marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares na caracterização de cultivares de soja e café.** Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 2004. 137 f.

CAPÍTULO III

QUALIDADE DOS FRUTOS E CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE MINI-TOMATES DO BANCO DE GERMOPLASMA DE HORTALIÇAS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda pelos mini-tomates (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), tem despertado grande interesse dos agricultores (LENUCCI et al., 2006). Desde sua introdução no mercado na década de 90, seu cultivo e consumo vêm aumentando e se difundindo em todo o país. O mini-tomate chama a atenção pelo tamanho reduzido de seus frutos, que não ultrapassam 30 g. Seus frutos são tipicamente arredondados, biloculares, dispostos na planta em cachos, com 8 a 18 ou mais frutos (ROCHA et al., 2010). A principal cultivar disponível no mercado é o híbrido Sweet Grape, que possui sólidos solúveis de até 7° Brix e pouca acidez, quando comparado a outras variedades, as quais contêm de 4 a 5° Brix (CUNHA, 2011).

Para continuar a expansão do segmento de mini-tomates, diversificar os sistemas produtivos e aumentar a opção de mini-tomates para os produtores e consumidores, deve-se caracterizar o potencial genético de acessos silvestres em bancos de germoplasma e explorar a variabilidade existente em programas de melhoramento (COSTA, 2006). A caracterização de acessos de um banco de germoplasma é o primeiro passo para saber a real utilidade dos acessos como fonte de genes de interesse, pois, na maioria dos casos, têm-se numerosas coleções sem, no entanto, conhecer seu real potencial como fonte doadora de genes para programas de melhoramento (MATTEDI et al., 2011).

A caracterização de mini-tomates, por meio de produtividade, número de frutos por cacho, formato e diâmetro de frutos e resistência as principais pragas e doenças, são fatores importantes a serem considerados pelos melhoristas, devido à demanda dos produtores por cultivares com bom desempenho agrônômico. Por outro lado, para atender a exigência dos consumidores, o melhorista deve levar em consideração à qualidade dos frutos, que devem possuir formato cereja, pequeno tamanho, inexistência de deformidades, alto teor de sólidos solúveis e baixa acidez (GOMEZ JÚNIOR, 2011; ROCHA, 2010).

Outro fator levado em consideração pelo consumidor, mas que possui difícil mensuração, é a coloração dos frutos. As características de cor e brilho podem ser

mensurados por meio da espectrofotometria ou mais atualmente por colorímetros *triestimulos* (sistema CIELAB). Esta análise leva em consideração três coordenadas perpendiculares ($L^* a^* b^*$) que possibilitam determinar com exatidão a cor do objeto, expressando valores para a luminosidade, que vai do branco (+L) ao preto (-L) no eixo z , do vermelho (+a) ao verde (-a) no eixo x e do amarelo (+b) ao azul (-b) no eixo y (ARIAS, 2000). Os índices de saturação permitem calcular outros índices de cor, como o ângulo Hue, que possibilita diferir dois objetos pela sua luminosidade, e o Chroma, que representa a intensidade da cor e sua vivacidade (ALESSI, 2010).

A caracterização dos acessos de bancos de germoplasma subsidiará a escolha de acessos em programas de melhoramento de mini-tomates, possibilitando o intercâmbio de genótipos com outros bancos de germoplasma, universidades, empresas públicas e privadas. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo caracterizar 64 acessos de mini-tomates de três bancos de germoplasma, levando em consideração aspectos agronômicos e de qualidade pós-colheita dos frutos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local experimental e material vegetal

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual do Centro-Oeste, *Campus Cedeteg*, em Guarapuava, PR (25°23'36" de latitude, 51°27'19" de longitude e 1.120 m de altitude). O clima da região é classificado, segundo Köppen, como subtropical úmido mesotérmico, com frio e geadas no inverno e com verões amenos. Foram avaliados 64 acessos de mini-tomate do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Anexo XII). A cultivar Sweet Grape (Sakata Seeds[®]) foi utilizada como testemunha, pois apresenta características que atendem as exigências de mercado, tanto para a produção quanto para características de frutos.

2.2 Tratos culturais

A semeadura foi efetuada em bandejas de poliestireno (200 células), dia 16 de setembro de 2011, e o transplântio ocorreu 25 dias após o semeio nas bandejas, quando as plântulas apresentavam três folhas definitivas. As plantas foram conduzidas com duas hastes no sistema de tutoramento com cerca cruzada. A irrigação foi por meio de tubos gotejadores (20-20 cm). Foram realizadas duas adubações durante o ciclo da cultura: uma durante o transplântio e outra ao início do florescimento. O controle fitossanitário e preventivo foi realizado semanalmente com aplicação de fungicidas e

inseticidas recomendados para a cultura.

2.3. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com três repetições e com quatro plantas por parcela, totalizando 195 parcelas. O espaçamento entre plantas foi de 0,5 m, entre linhas de 1,0 m.

2.4. Análises das características agronômicas

As colheitas foram realizadas semanalmente, no período de final de janeiro a março de 2012, coletando-se todos os frutos a partir do estágio inicial de maturação. Após colhidos os frutos foram imediatamente contados e pesados.

Diâmetro do fruto, comprimento do fruto e relação Comprimento/Diâmetro

Para esta característica foram avaliados 15 frutos por parcela, utilizando paquímetro digital manual, sendo os dados expressos em milímetros (mm). As medidas consistiram na avaliação comprimento e diâmetro. A relação do comprimento/diâmetro dos frutos (C/D) foi realizada assumindo os valores $C/D < 1$; $C/D = 1$; $C/D > 1$, estes correspondendo a frutos com formato achatado, redondo e oblongo, respectivamente (ARAÚJO, 1997). Os frutos foram avaliados quanto ao seu diâmetro e massa, sendo agrupados em quatro classes, conforme classificação proposta por Fernandez (2007): pelo diâmetro, em gigantes (>35 mm), grandes (>30 a 35 mm), médios (>25 a 30 mm) e pequenos (>20 a 25 mm); e pelo peso, em gigantes (>20 g), grandes (15 a 20 g), médios (10 a 15 g) e pequenos (5 a 10 g).

Número de frutos e de flores por cacho

Foram considerados cachos a partir do 2º até o 8º, sendo realizada a contagem para todas as plantas do experimento.

Massa média dos frutos por planta e produção por planta

Os frutos eram colhidos a partir do estágio inicial de maturação, sendo então imediatamente contados e pesados. Para obter a massa média dos frutos por planta foi utilizada a fórmula:

$$\text{Massa média dos frutos} = \text{Número Total de Frutos} / \text{Massa total dos frutos}$$

Sendo expressos os valores em gramas fruto⁻¹.

Produção por planta

Foi considerada a massa total dos frutos colhidos, e os resultados expressos em gramas por planta (g planta⁻¹).

Sólidos solúveis (SS)

Foram coletados 15 frutos maduros representativos de cada tratamento e identificados. Estes foram colhidos, suas sementes retiradas e por seguinte as amostras congeladas a 18°C, devidamente separadas conforme tratamento. Para as análises os tomates foram descongelados e a polpa homogeneizada em triturador doméstico, sendo determinados os sólidos solúveis, em refratômetro digital portátil (modelo PAL%1), sendo os valores expressos em °Brix.

2.5 Análises da coloração dos frutos

As análises de coloração foram realizadas com a ajuda do aparelho Croma Meter CR-400/410 (KONICA MINOLTA), que expressa os componentes L* a* b*, na saturação de cor Croma e na tonalidade da cor pelo ângulo de Hue. O aparelho foi calibrado no sistema L* a* b* com uma placa branca padrão de cerâmica. As medições foram realizadas na região mediana de frutos completamente maduros, com três repetições por fruto de cada tratamento, em local de iluminação ambiente e com fundo claro.

2.6 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análise de variância ($F \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$), com o auxílio do programa estatístico GENES (CRUZ, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os acessos que se destacaram quanto à produção de frutos foram RVTC-06, RVTC-07, RVTC-08, RVTC-12, RVTC-14, RVTC-22, RVTC-29, 2318-43, 2091-44 e

0224-53, todos eles com produção equivalente a cultivar Sweet Grape (2078,92 g planta⁻¹) (Tabela 2). Ao avaliar a produtividade em cinco cultivares de mini tomate, Machado et. al. (2003) obtiveram produção entre 2450 g planta⁻¹ e 3350 g planta⁻¹, produção superior a dos acessos avaliados neste trabalho.

O maior número de frutos por cacho foi observado nos acessos IAC420-62 (26 frutos) e IAC-415-61 (24 frutos); os dois com valores equivalentes a cultivar Sweet Grape (23 frutos). Contudo, o aumento do número de frutos por cacho não foi fundamental para o aumento da produção desses acessos, pois os dois apresentaram produção inferior a outros 10 acessos que possuem menor número de frutos por cacho. O mesmo pode-se dizer para o número de frutos por planta, pois seis dos acessos mais produtivos e sete dos menos produtivos não distinguiram quanto ao número de frutos, ficando todos eles na mesma classe (Tabela 2). O número de frutos por planta desses acessos é semelhante aos observados por Silva et al. (2011), que avaliaram 11 linhagens de mini tomate em sistema orgânico de produção e observaram variação de 33,39 a 304,29, média de 148,92 frutos por planta. Contudo, estes valores são inferiores aos observados nos híbridos comerciais Gisela (215 frutos pl⁻¹), Mascot (198 frutos pl⁻¹), Sweet Million (283 frutos pl⁻¹) e Cheri (360 frutos pl⁻¹) (GUSMÃO et al., 2006).

Tabela 2. Caracterização de 64 acessos de mini-tomates (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) quanto à produção de frutos por planta (PD), diâmetro do fruto (DF), relação comprimento/diâmetro de fruto (C/D), frutos por cacho (FPC), massa média de frutos (MMF), número de frutos por planta (NFP) e teor de sólidos solúveis (SS). Guarapuava-PR, UNICENTRO, 2012.

Genótipo	PD (g planta ⁻¹)	DF (mm)	C/D	FPC	MMF (g fruto ⁻¹)	NFP	SS °brix							
RVTC-01	593,43	d	26,23	C	0,83	c	6	d	10,26	c	57	b	6,30	c
RVTC-02	1207,98	c	26,70	C	0,83	c	11	c	16,74	c	74	b	6,40	c
RVTC-03	879,34	d	25,69	C	0,86	c	16	b	10,32	c	89	a	5,97	d
RVTC-04	1575,02	b	30,16	B	0,88	c	9	d	19,33	b	87	a	6,67	b
RVTC-05	777,38	d	23,87	D	0,91	c	8	d	9,87	c	79	b	5,83	d
RVTC-06	1856,70	a	27,83	C	0,94	c	8	d	19,49	b	72	b	6,07	d
RVTC-07	1934,90	a	29,48	B	0,90	c	8	d	21,05	b	93	a	5,37	f
RVTC-08	2280,65	a	32,66	A	0,97	c	8	d	25,41	b	90	a	5,33	f
RVTC-09	827,69	d	22,81	D	0,93	c	7	d	7,19	c	116	a	5,63	e
RVTC-10	1453,92	b	25,17	C	0,95	c	6	d	15,76	c	85	a	6,00	d
RVTC-11	1388,34	b	30,97	B	0,91	c	8	d	23,85	b	54	b	6,03	d
RVTC-12	2373,82	a	32,87	A	1,00	c	9	d	30,12	a	79	b	5,43	f
RVTC-13	784,10	d	22,08	D	0,93	c	9	d	8,73	c	92	a	5,93	d

Continuação...

Tabela 2...

RVTC-14	2078,32	a	33,09	a	1,00	c	7	d	34,19	a	64	b	6,20	c
RVTC-15	1790,58	b	31,22	b	0,92	c	7	d	18,38	b	99	a	6,13	d
RVTC-16	1565,88	b	29,46	b	1,10	c	7	d	22,29	b	72	b	6,10	d
RVTC-17	836,09	d	25,47	c	1,01	c	12	c	13,20	c	64	b	6,67	b
RVTC-18	1150,34	c	26,42	c	0,97	c	13	c	13,23	c	88	a	6,73	b
RVTC-19	1543,46	b	27,24	c	1,02	c	10	c	15,59	c	109	a	6,03	d
RVTC-20	1143,65	c	29,48	b	1,10	c	11	c	21,44	b	56	b	6,10	d
RVTC-21	1240,39	c	27,12	c	0,81	c	5	d	13,97	c	98	a	6,17	c
RVTC-22	1877,09	a	29,22	b	0,90	c	7	d	21,03	b	95	a	7,17	a
RVTC-23	1154,72	c	26,04	c	0,96	c	8	d	12,45	c	97	a	6,30	c
RVTC-24	1594,73	b	29,15	b	0,93	c	6	d	19,26	b	81	b	5,17	g
RVTC-25	1161,98	c	39,88	a	0,83	c	9	d	23,27	b	51	b	6,23	c
RVTC-26	984,24	c	25,06	c	0,96	c	9	d	10,59	c	96	a	6,13	d
RVTC-27	1193,07	c	26,57	c	0,95	c	9	d	10,77	c	100	a	6,13	d
RVTC-29	1858,68	a	34,40	a	0,97	c	10	c	17,28	c	111	a	5,30	f
RVTC-30	1184,52	c	27,29	c	0,94	c	8	d	11,92	c	103	a	6,03	d
RVTC-31	1516,81	b	32,65	a	1,00	c	7	d	25,72	b	61	b	5,80	e
RVTC-32	1353,28	c	27,34	c	0,91	c	15	b	12,98	c	105	a	6,27	c
RVTC-33	1053,37	c	26,32	c	0,85	c	7	d	13,60	c	78	b	5,97	d
RVTC-34	1029,50	c	26,94	c	0,84	c	11	c	13,68	c	69	b	5,57	e
RVTC-35	1236,25	c	21,44	d	0,87	c	13	c	7,61	c	128	a	6,57	b
RVTC-36	926,14	d	24,92	c	1,09	c	11	c	9,37	c	100	a	6,23	c
RVTC-37	1255,15	c	25,69	c	0,98	c	8	d	13,59	c	98	a	6,23	c
RVTC-38	587,72	d	22,01	d	0,94	c	8	d	7,55	c	77	b	5,30	f
RVTC-39	491,77	d	22,15	d	0,93	c	6	d	6,95	c	70	b	5,87	d
RVTC-40	992,95	c	22,32	d	0,91	c	9	d	7,13	c	114	a	6,37	c
RVTC-41	808,33	d	21,25	d	0,90	c	13	c	8,71	c	99	a	6,77	b
2212-42	816,48	d	35,87	a	0,84	c	7	d	22,63	b	38	b	5,57	e
2318-43	2282,32	a	34,49	a	1,00	c	9	d	37,75	a	60	b	5,00	g
2091-44	1934,81	a	29,96	b	1,30	b	7	d	19,39	b	102	a	5,90	d
2298-45	1222,21	c	34,99	a	1,00	c	8	d	26,47	b	44	b	4,77	h
0988-46	719,19	d	26,22	c	0,94	c	7	d	16,71	c	51	b	4,47	i
1254-47	1444,69	b	26,46	c	0,90	c	7	d	18,54	b	83	b	6,03	d
1258-48	1762,58	b	29,05	b	0,89	c	6	d	19,23	b	97	a	5,73	e
6878-49	675,83	d	25,68	c	1,17	b	7	d	11,54	c	60	b	7,13	a
6889-50	659,14	d	24,78	c	0,96	c	18	b	8,80	c	79	b	5,50	f
4474-51	1781,62	b	28,57	c	0,90	c	12	c	15,65	c	115	a	5,53	e
4346-52	1224,87	c	27,64	c	0,86	c	7	d	29,42	a	62	b	6,27	c
0224-53	2143,95	a	27,51	c	1,68	a	9	d	22,10	b	97	a	5,20	g
0489-54	1644,20	b	36,39	a	0,93	c	12	c	37,01	a	54	b	6,00	d
RVTC-55	887,04	d	26,89	c	1,25	b	7	d	17,12	c	53	b	6,43	c
RVTC-56	1073,54	c	22,97	d	1,00	c	14	b	9,48	c	114	a	5,83	d
RVTC-57	1530,22	b	25,80	c	0,96	c	9	d	13,24	c	121	a	5,73	e
RVTC-58	1106,46	c	28,50	c	0,94	c	10	c	12,40	c	100	a	6,10	d
IAC392-59	1436,70	b	30,70	b	1,21	b	9	d	18,08	b	78	b	6,07	d
IAC404-60	1164,13	c	30,14	b	1,02	c	10	c	14,84	c	80	b	6,30	c
IAC415-61	735,63	d	20,54	d	0,93	c	24	a	6,63	c	106	a	6,03	d

Continuação...

Tabela 2...

IAC420-62	1444,78	b	30,29	B	1,07	c	26	a	12,76	c	114	a	5,60	e
IAC1498-63	870,13	d	23,02	D	1,46	a	19	b	9,76	c	88	a	7,37	a
IAC1622-64	1268,95	c	33,96	A	1,13	c	8	d	23,88	b	56	b	4,80	h
RVTC-65	571,52	d	23,77	D	0,88	c	8	d	12,53	c	64	b	5,67	e
Sweet Grape	2078,92	a	26,14	C	1,53	a	23	a	14,48	c	145	a	5,80	e
Média	1292,65		27,80		0,99		9,88		16,53		84,78		5,96	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Para a relação comprimento/diâmetro dos frutos, 14 acessos apresentaram frutos oblongos, seis redondos e 44 com frutos achatados. Considerando o formato oblongo como o preferido pelo consumidor, que é o mesmo observado na cultivar Sweet Grape, apenas os acessos 0224-53 e 2091-44 são oblongos e estão entre os mais produtivos (Tabela 2).

Seguindo a classificação para diâmetro do fruto, proposta por Fernandez (2007), os acessos RVTC-25, 2212-42 e 0489-54 estão fora do padrão para mini tomate, sendo classificados como gigantes, com 39,88 mm, 35,87 mm e 36,39 mm, respectivamente. Contudo, apenas o último apresentou elevada massa média de frutos, com 37,01 g fruto⁻¹. A maioria dos genótipos apresentou diâmetro médio, com frutos de 25 a 30 mm (Tabela 3). Levando em consideração a massa dos frutos, os acessos ficaram bem distribuídos nas classes, com 17 acessos na classe gigante, 15 na grande, 20 na média e 13 na pequena (Tabela 3).

Tabela 3. Classificação de 64 acessos de mini-tomates (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) e a cultivar sweet Grape oriundos do banco de germoplasma da UNICENTRO em razão do diâmetro e da massa média dos frutos. Guarapuava-PR, UNICENTRO, 2012.

Classificação	Diâmetro*	Massa Média**
Gigante	25, 41, 53	7, 8, 11, 12, 14, 16, 20, 22, 25, 30, 41, 42, 44, 51, 52, 53, 63
Grande	4, 8, 11, 12, 14, 15, 28, 30, 42, 44, 58, 59, 61, 63	2, 4, 6, 10, 15, 19, 24, 28, 43, 45, 46, 47, 50, 54, 58
Médio	1, 2, 3, 6, 7, 10, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 36, 43, 45, 46, 47, 48, 50, 51, 52, 54, 56, 57	1, 3, 17, 18, 21, 23, 26, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 36, 48, 56, 57, 59, 61, 64
Pequeno	5, 9, 13, 34, 35, 37, 38, 39, 40, 49, 55, 60, 62, 64	5, 9, 13, 34, 35, 37, 38, 39, 40, 49, 55, 60, 62

*Com os respectivos valores: Gigante (>35 mm), Grande (>30 a 35 mm), Médio (>25 a 30 mm) e Pequeno (>20 a 25 mm); **Com os respectivos valores: Gigante (>20 g), Grande (>15 a 20 g), Médio

(>10 a 15 g) e Pequeno (5 a 10 g).

Três acessos se destacaram quanto ao teor de sólidos solúveis, com 7,37 °Brix (IAC1498-63), 7,13 °Brix (6878-49) e 7,17 °Brix (RVTC-22) (Tabela 2). A cultivar Sweet Grape apresentou 5,80 °Brix, inferior ao esperado para esse híbrido, que pode chegar a 7 °Brix (CUNHA et al. 2011). Os valores encontrados nos acessos deste trabalho podem ser considerados elevados por serem materiais que ainda não passaram por seleção. Mattedi et al. (2011) avaliaram 29 acessos de mini-tomates e observaram valores variando de 2,73 a 4,50 °Brix, média de 3,66 °Brix. Nesse mesmo trabalho os autores avaliaram os materiais comerciais Fanny, Santa Clara e Débora Plus e observaram teores de 3,60, 3,53 e 4,03 °Brix, respectivamente. O mesmo foi observado por Guimarães et al. (2007), trabalhando com a cultivar Kyndio, verificaram valores médios de sólidos solúveis 4,34 °Brix.

A coloração dos frutos variou consideravelmente nos componentes L* a* b* (Figura 1). Os valores do descritor acromático L* (luminosidade) mantiveram-se entre 45,2 (2091-44) a 33,49 (RVTC-60). De acordo com o artigo 6º, nº 02 do Regulamento (CE) nº 510/2006 do Conselho relativo à proteção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos gêneros alimentícios (2011), os valores considerados ideais de luminosidade para o mini-tomate estão entre 38 e 40. Considerando estes valores, os acessos RVTC-06, RVTC-08, RVTC-11, RVTC-12, RVTC-16, RVTC-20, 2318-43, 2091-44, 2298-45, IAC392-59 e IAC1622-64, apresentam os valores L* adequados. A análise de cor por meio dos parâmetros L* a* b*, de Croma e Hiu representam as medidas objetivas de cor percebidas pelo olho humano e tem a importância da correlação com a percepção do consumidor em relação ao produto (ARIAS, 2000).

Os valores de a* variaram de 2,17 (2091-44) a 24,89 (IAC1622-64), com destaque para os acessos 1258-48 (22,8), 6878-49 (22,8), IAC392-59 (20,79), 0224-53 (20,72), RVTC-25 (20,51) e RVTC-55 (22,01). Este parâmetro representa a região que compreende do vermelho (a*+) até o verde (a*-), assim quanto maiores os valores, mais vermelho o fruto e, pelo contrário, quanto mais próximos de zero, mais verde é o fruto. O pigmento responsável pela coloração vermelha dos frutos de tomate é o licopeno, que está presente, principalmente, no final do ciclo de maturação dos frutos. Carvalho et al. (2005) e Arias et al. (2000) encontraram uma correlação positiva entre a cor (a*) e os teores de licopeno em frutos de tomate, assumindo que quanto maior o valor do componente a*, maiores são os teores de licopeno. Assim, esses acessos que se destacaram pela coloração vermelha podem ser usados em programas de melhoramento

que visam aumento do teor de licopeno.

Para o descritor cromático b^* , que representa o grau da cor amarela (b^{*+}) até o grau da cor azul (b^{*-}), os acessos 2091-44 (29,32) e RVTC-07 (7,81) apresentaram o maior e o menor valor, respectivamente. O acesso 2091-44 apresenta coloração amarelo ouro, o que explica seus altos valores de b^* e de luminosidade, sendo o inverso nos valores a^* . Cultivares de mini-tomate com frutos de coloração amarela possuem mercado, no entanto, a coloração vermelha ainda tem maior preferência, tanto da indústria quanto do próprio consumidor (BRANDT, 2006).

Tabela 4. Coloração dos frutos de 64 acessos de mini-tomates (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), expressos pelos componentes L^* a^* b^* , saturação de cor Croma e tonalidade da cor pelo ângulo de Hue. Guarapuava-PR, UNICENTRO, 2012.

Acesso	L^*	a^*	b^*	Croma	Hue	Acesso	L^*	a^*	b^*	Croma	Hue
RVTC-01	36,19	15,28	12,17	3,91	38,54	RVTC-35	36,00	14,33	10,42	3,79	36,04
RVTC-02	36,39	15,43	13,32	3,93	40,80	RVTC-36	35,57	12,95	11,58	3,60	41,79
RVTC-03	35,38	17,30	13,42	4,16	37,81	RVTC-37	37,37	14,32	13,50	3,78	43,31
RVTC-04	36,63	15,90	11,65	3,99	36,22	RVTC-38	37,15	17,41	13,75	4,17	38,31
RVTC-05	36,63	13,57	14,04	3,68	45,99	RVTC-39	37,80	15,26	14,78	3,91	44,08
RVTC-06	38,22	14,79	16,93	3,85	48,85	RVTC-40	35,84	12,76	12,31	3,57	43,98
RVTC-07	35,72	17,03	7,81	4,13	24,64	RVTC-41	34,67	16,07	14,82	4,01	42,69
RVTC-08	39,27	16,94	15,40	4,12	42,28	2212-42	34,82	14,94	14,99	3,87	45,09
RVTC-09	37,36	11,16	11,83	3,34	46,68	2318-43	39,51	19,91	12,05	4,46	31,18
RVTC-10	35,88	13,28	12,60	3,64	43,49	2091-44	45,20	2,17	29,32	1,47	85,76
RVTC-11	38,45	19,41	14,47	4,41	36,71	2298-45	38,67	17,40	15,17	4,17	41,08
RVTC-12	38,58	18,35	14,23	4,28	37,78	0988-46	36,11	15,28	13,97	3,91	45,43
RVTC-13	35,35	10,79	16,54	3,29	56,87	1254-47	37,00	15,22	14,19	3,90	43,00
RVTC-14	37,82	17,01	10,31	4,12	31,22	1258-48	35,23	22,80	13,20	4,77	30,07
RVTC-15	36,76	18,61	14,93	4,31	38,73	6878-49	35,23	22,80	13,20	4,77	30,07
RVTC-16	38,11	18,07	13,48	4,25	36,73	6889-50	36,85	15,57	11,84	3,95	37,26
RVTC-17	36,59	17,21	14,88	4,15	40,85	4474-51	38,24	17,92	13,67	4,23	37,35
RVTC-18	37,71	15,82	14,28	3,98	42,06	4346-52	36,85	12,73	11,19	3,57	41,32
RVTC-19	37,53	18,05	14,56	4,25	38,90	0224-53	39,56	20,72	16,95	4,55	39,28
RVTC-20	38,79	14,75	18,16	3,84	50,91	0489-54	37,68	23,00	16,23	4,80	35,21
RVTC-21	37,68	14,67	14,14	3,83	43,79	RVTC-55	37,41	22,01	16,38	4,69	36,65
RVTC-22	34,98	17,65	13,13	4,20	41,87	RVTC-56	36,05	11,87	13,30	3,45	48,26
RVTC-23	34,47	16,95	13,41	4,12	38,35	RVTC-57	35,83	16,12	9,15	4,02	29,57
RVTC-24	37,18	16,95	9,61	4,12	29,55	RVTC-58	37,48	18,92	17,60	4,35	42,93
RVTC-25	37,97	20,51	15,63	4,53	37,31	IAC392-59	38,18	20,79	10,03	4,56	25,76
RVTC-26	35,88	16,93	12,25	4,12	35,89	IAC404-60	33,49	17,99	13,98	4,24	37,84
RVTC-27	34,04	16,54	11,66	4,07	35,18	IAC415-61	37,16	16,71	20,50	4,09	50,81
RVTC-29	36,78	13,97	11,11	3,74	38,49	IAC420-62	35,30	14,42	16,18	3,80	48,28

Continuação...

Tabela 4...

RVTC-30	37,25	16,77	11,31	4,09	34,00	IAC1498-63	36,45	18,13	13,64	4,26	36,95
RVTC-31	36,60	15,41	13,26	3,93	40,70	IAC1622-64	43,07	24,89	12,90	4,99	27,39
RVTC-32	35,13	13,84	9,52	3,72	34,53	RVTC-65 Sweet Grape	37,30	17,84	17,73	4,22	44,83
RVTC-33	36,85	13,57	14,59	3,68	47,07		35,16	19,18	11,94	4,38	31,90
RVTC-34	37,21	14,16	12,78	3,76	42,06						

Na saturação de cor dos frutos, o Cromo apresentou os maiores valores nos acessos 2091-44, 0489-54 e IAC1622-64, com os respectivos valores de 29,40, 28,15 e 28,03 (Tabela 4). Os acessos 4346-52 (16,95) e RVTC-09 (16,26) obtiveram os menores índices de Cromo. A cromaticidade define a intensidade da cor, sendo os mais opacos com valores próximos de zero e com maior vivacidade próximos de 60. Assim, quanto maior o valor, mais puras e fortes são as cores e, quanto menores os valores, as cores se tornam mais mescladas (ALESSI, 2010).

A tonalidade dos frutos depende da relação entre os valores de a^* e b^* , que é o valor do ângulo Hue, para que possam distinguir tons diferentes para uma mesma luminosidade (ARIAS, 2000). Os acessos RVTC-07 (24,64), IAC392-59 (25,76), IAC1622-64 (27,39), RVTC-24 (29,55) e RVTC-57 (29,57) foram os que apresentara os menores valores de Hue, e os acessos 2091-44, RVTC-13, RVTC-20 e IAC415-61 os maiores valores de Hue (Tabela 4). O ângulo Hue tem seus valores determinados, sendo os mais próximos de 0° tonalidades mais fortes de vermelho (vermelho puro) e 90° representa o amarelo puro (ARIAS, 2000). Alessi (2010), avaliando o processo de produção do tomate seco visando a preservação da qualidade do produto comparado com a coloração dos frutos *in natura* na cultivar Sweet Grape, observou valores superiores aos encontrados neste trabalho para os parâmetros a^* , b^* , Cromo e Hue nos frutos *in natura*. No entanto, para L^* os resultados foram semelhantes. Estes resultados podem ser atribuídos a diferença de instalação dos dois experimentos, uma vez que em campo a planta é exposta as intempéries do ambiente. Assim, há uma interferência na coloração dos frutos, que com a incidência direta dos raios solares tem a síntese de licopeno prejudicada e acúmulo de carotenoides amarelos e laranjas favorecida, deixando os frutos mais opacos e com nuances amareladas (LÓPEZ CAMELO e GÓMEZ, 2004).

4. CONCLUSÕES

O acesso RVTC-22 é o genótipo que mais se destacou se for levado em

consideração à produção de frutos e o teor de sólidos solúveis.

Considerando os diferentes critérios para coloração dos frutos, na seguinte ordem de importância $a^* > \text{Croma} > \text{Hue} > L^* > b^*$, os acessos IAC1622-64 e IAC392-59 são os mais indicados para programas de melhoramento de mini-tomates, que visam melhorar a aparência do fruto.

5. REFERÊNCIAS

- ALESSI, ES. **Tomate seco obtido por energia solar e convencional a partir de mini-tomates congelados**. (Tese doutorado). Piracicaba, ESALQ. 2010. 72 p.
- ARIAS, R.; LEE, TC; LOGENDRA, L.; JANES, H. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L^* , a^* , b^* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. **Journal Agriculture Food Chemical**, vol. 48, pag. 1697-1702, 2000.
- BRANDT, S.; PÉK, Z.; BARNA, E.; LUGASI, A.; HELYES, L. Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions. **Journal Science Food Agriculture**. Vol. 86, pag. 568-572, 2006.
- CARVALHO, W.; FONSECA, M.E.N.; SILVA, H.R.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B. Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. **Horticultura Brasileira**. Vol. 232, pag. 819-825. 2005.
- COSTA, MN; PEREIRA, WE; ALCANTRA, RL; FREIRE, EC; NÓBREGA, MBM; OLIVEIRA, AP. Divergência genética entre subamostras e cultivares da mamoeira por meio de estatística multivariada. **Pesquisa Agropecuária**, Brasília, vol. 41, pag. 1617-1622. 2006.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Biometria**. Viçosa: UFV. 2006. 382p.
- CUNHA, A. H. N; SIQUEIRA, L. N.; CORTEZ, T. B.; VIANA, E. S.; SILVA, S. M. C. Avaliação química e análise sensorial de geleias de tomate. **Revista Enciclopédia Biosfera**. Vol. 7, pag. 1399-1404. 2011.
- FERNANDES C; CORÁ JE; BRAZ LT. Classificação de tomate-cereja em função do tamanho e peso dos frutos. **Horticultura Brasileira**. Vol. 25, pag. 275-278. 2007.
- GUIMARÃES MA; SILVA DJH; FONTES PCR; CALIMAN FRB; LOOS RA; STRINGHETA PC. Produção e sabor dos frutos de tomateiro submetidos à poda apical e de cachos florais. **Horticultura Brasileira**, vol. 25, pag. 259-263. 2007.
- GUSMÃO MTA; GUSMÃO SAL; ARAÚJO JAC. Produtividade de tomate tipo cereja cultivado em ambiente protegido e em diferentes substratos. **Horticultura Brasileira**. Vol. 24, pag. 431-436. 2006.
- LENUCCI M.; CADINU D; TAURINO M; PIRO G; DALESSANDRO G. Antioxidant

composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. **Journal Agriculture Food and Chemistry**. Vol. 54, pag. 2606-2613. 2006.

LÓPEZ CAMELO, A.F.; GÓMEZ, P.A. Comparison of color indexes for tomato ripening. **Horticultura Brasileira**, v.22, p.534-537. 2004.

MACHADO, M.A.R.; OLIVEIRA, G.R.M.; PORTAS, C.A.M. Tomato root distribution, yield and fruit quality under subsurface drip irrigation. **Plant and Soil**. Vol. 255, pag. 333-341. 2003.

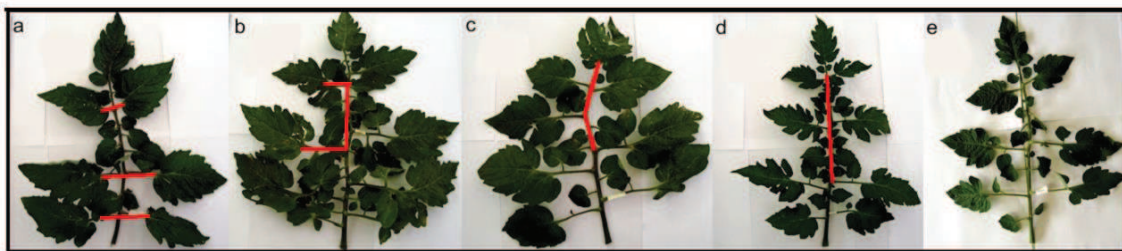
MATTEDI, A.P.; GUIMARÃES, M.A.; SILVA, D.J.H.; CALIMAN, F.R.B.; MARIM, B.G. Qualidade dos frutos de genótipos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa. **Revista Ceres**, Viçosa, vol. 58, pag. 525-530. 2011.

REGULAMENTO (CE) Nº 510/2006 DO CONSELHO TOMATE LA CAÑADA. **Conselho relativo à protecção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios**. Artigo 6º, nº2.

ROCHA, M.Q.; PEIL, R.M.N.; COGO, C.M. Rendimento do tomate cereja em função do cacho foral e da concentração de nutrientes em hidroponia. **Horticultura Brasileira**. Vol. 28, pag. 466-471, 2010.

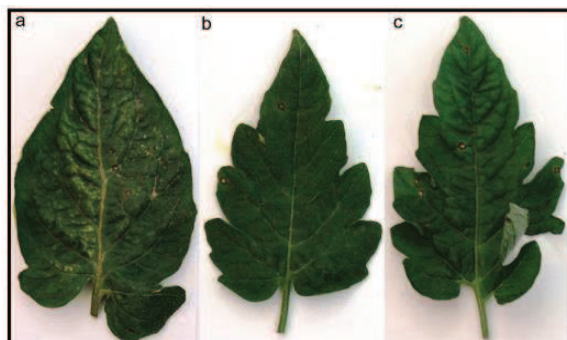
SILVA, AC; COSTA, CA; SAMPAIO, RA; MARTINS, ER. Avaliação de linhagens de tomate cereja tolerantes ao calor sob sistema orgânico de produção. **Revista Caatinga**, Mossoró, vol. 24, pag. 33-40. 2011.

ANEXO I



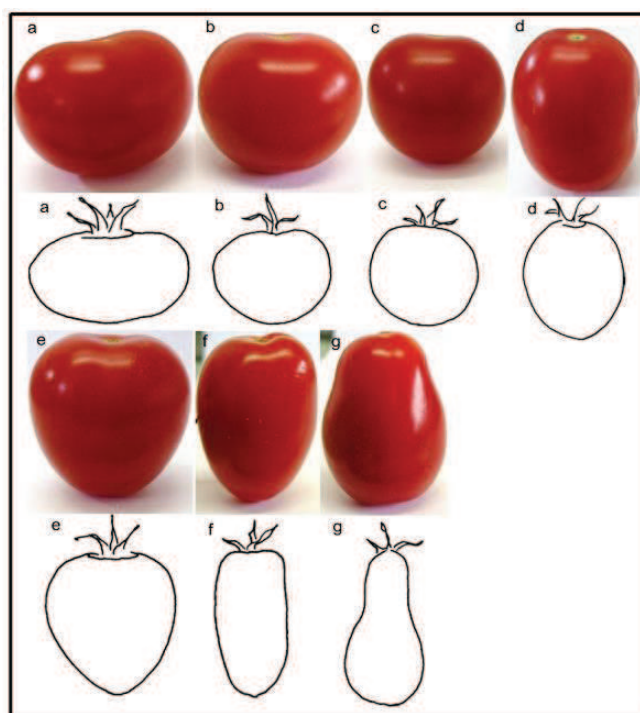
Classificação para tipo de folha, quanto a sua arquitetura. a) Folha com saída de folíolos paralela, b) folha com distanciamento saliente entre os nós dos folíolos, para a direita ou para a esquerda, c) folha com curvatura da nervura principal para a direita ou para a esquerda, d) folha com nervura retilínea e saída de folíolos intercalada, e) folha de porte e densidade de folíolos reduzido.

ANEXO II



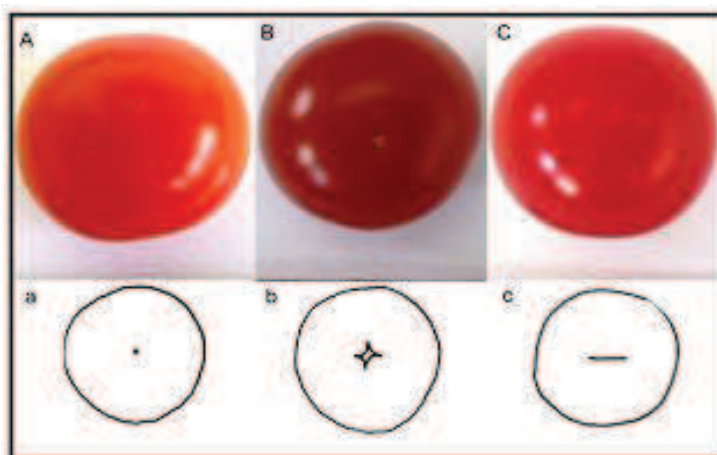
Classificação para tipos de folíolos. a) pouco recortado, b) recortado, c) muito recortado.

ANEXO III



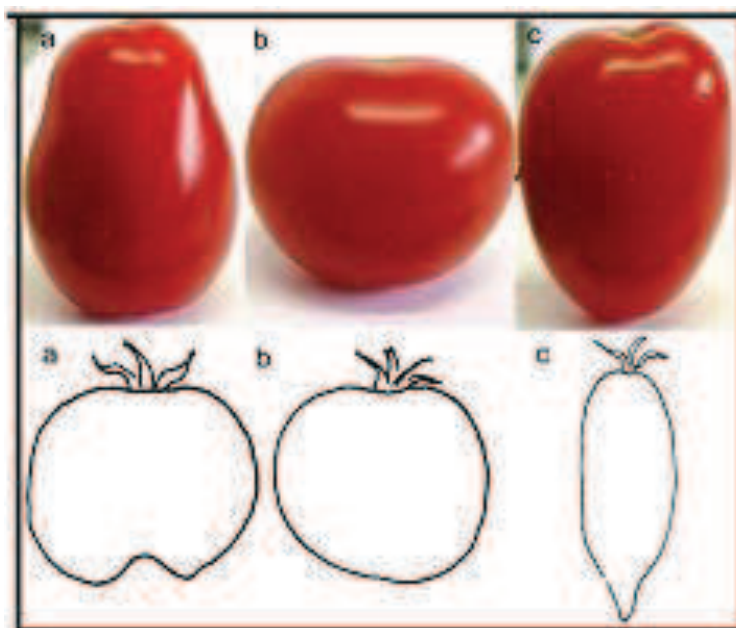
Classificação para formato de frutos. a) achatado, b) ligeiramente achatado, c) Redondo, d) Redondo alongado, e) Cordiforme, f) Cilíndrico g) Periforme.

ANEXO IV



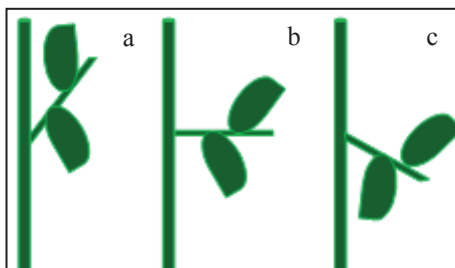
Forma da cicatriz do pistilo. a) pontilhada, b) estrelada, c) linear.

ANEXO V



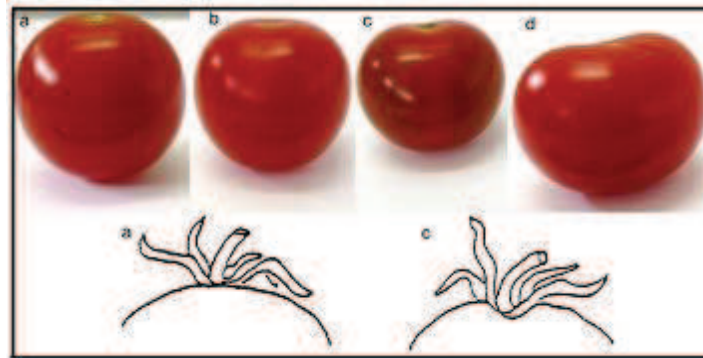
Formato da região terminal do fruto. a) Recortada, b) aplanada, c) pontiaguda.

ANEXO VI



Padrão de inserção da folha. a) ângulo agudo em relação ao caule, b) ângulo reto em relação ao caule, c) ângulo obtuso em relação ao caule.

ANEXO VII



Formato do ombro do fruto. a) Aplainado, b) ligeiramente afundado, c) moderadamente afundado, d) muito afundado.

ANEXO VIII



Coloração final dos frutos. a) vermelho, b) vermelho alaranjado, c) vermelho esverdeado, d) rosado, e) amarelo.

ANEXO IX



Padrão do cacho. a) Frutos com mesmo ângulo de inserção ao eixo principal, b) eixo

principal ramificado, c) padrão misto os dois tipos anteriores.

ANEXO X

Características morfológicas qualitativas analisadas nos 65 acessos de mini tomate, suas respectivas escalas de notas.

CARACTERÍSTICA	ESCALA DE NOTAS
Tipo de folha	1- Folha com saída de folíolos paralela 2- folha com distanciamento saliente entre os nós dos folíolos, para a direita ou para a esquerda 3- folha com curvatura da nervura principal para a direita ou para a esquerda 4- folha com nervura retilínea e saída de folíolos intercalada 5- folha de porte e densidade de folíolos reduzido
Tipo de folíolo	1- Pouco recortado 2- recortada 3- muito recortada
Forma da cicatrz do pistilo	1- pontilhada 2- estrelada 3- linear
Formato do ombro	1- aplainado 2- ligeiramente afundado 3- moderadamente afundado 4- muito afundado
Formato do fruto	1- achatado 2- ligeiramente achatado 3- redondo 4- redondo alongado 5- cordiforme 6- cilíndrico 7- periforme
Formato da região terminal	1- recortada 2- aplanada 3- pontiaguda
Coloração inicial do fruto	1- laranja 2- laranja esverdeado 3- laranja claro 6- branco
Coloração final do fruto	1- vermelho 2- vermelho alaranjado 3- vermelho esverdeado 4- rosado 5- amarelo
Padrão do cacho floral	1- Frutos com mesmo ângulo de inserção ao eixo principal 2- eixo principal ramificado 3- padrão misto (os dois tipos anteriores)
Padrão de inserção da folha	1- ângulo agudo em relação ao caule 2- ângulo reto em relação ao caule 3- ângulo obtuso em relação ao caule

ANEXO XI

Características morfológicas multicategóricas avaliadas em 65 acessos de mini-tomate, de acordo com a escala de notas (Anexo X). Tipo de folha (TF), tipo de folíolo (TFL), Formato da cicatriz do pistilo (FCP), formato do ombro do fruto (FO), formato do fruto (FF), fomato da região terminal do fruto (FRT), Coloração inicial do fruto (CIF), coloração final do fruto (CFF), padrão do cacho floral (PCF), padrão de inserção da folha (PIF).

Genótipo	TF	TFL	RE	FO	FF	FRT	CIF	CFF	PCF	PIF
RVTC-01	1	3	2	3	2	2	3	2	1	6
RVTC-02	4	3	1	3	2	2	1	1	1	3
RVTC-03	1	1	2	1	1	2	1	1	2	3
RVTC-04	1	1	3	3	2	2	2	1	1	6
RVTC-05	2	1	1	3	2	2	1	3	1	2
RVTC-06	3	1	3	3	2	2	3	1	1	2
RVTC-07	2	2	1	7	2	2	1	4	1	2
RVTC-08	2	3	1	3	2	2	2	1	1	6
RVTC-09	4	3	2	3	2	2	1	3	1	2
RVTC-10	3	2	1	5	3	2	1	1	1	6
RVTC-11	2	2	1	3	3	2	2	1	1	6
RVTC-12	2	1	1	1	3	2	1	1	1	6
RVTC-13	1	2	1	3	2	2	2	3	1	2
RVTC-14	1	3	1	3	5	2	2	1	1	6
RVTC-15	2	1	1	3	2	2	1	1	1	2
RVTC-16	1	2	1	1	4	2	2	2	1	6
RVTC-17	1	3	1	1	3	2	2	1	1	6
RVTC-18	1	3	3	3	2	2	2	1	1	6
RVTC-19	3	2	1	1	2	2	2	1	2	6
RVTC-20	6	2	1	3	4	2	2	4	1	4
RVTC-21	2	3	2	3	1	2	2	1	1	2
RVTC-22	1	2	1	5	2	2	2	1	2	3
RVTC-23	4	2	1	5	2	2	2	1	1	3
RVTC-24	1	2	1	3	2	2	1	4	1	6
RVTC-25	1	2	1	1	4	2	1	1	1	3
RVTC-26	2	2	1	3	2	2	2	2	1	2
RVTC-27	3	3	1	3	2	2	1	1	1	6
SG	2	2	1	3	6	2	1	1	3	2
RVTC-29	1	3	2	3	1	2	2	3	2	6
RVTC-30	1	2	3	1	2	2	2	1	1	3
RVTC-31	2	3	1	1	4	2	2	1	1	3
RVTC-32	1	1	3	3	2	2	1	1	2	6
RVTC-33	1	2	1	3	2	2	1	3	1	3
RVTC-34	1	1	1	5	2	2	1	1	1	6
RVTC-35	4	3	1	3	1	2	3	3	1	2
RVTC-36	1	2	1	3	2	2	2	1	1	2
RVTC-37	1	2	3	3	3	2	1	1	1	2
RVTC-38	2	2	1	3	2	2	1	2	1	3
RVTC-39	1	2	1	3	3	2	1	2	2	6

Anexo XI...										Continuação...
RVTC-40	1	2	1	3	2	2	1	2	1	3
RVTC-41	2	2	1	3	2	2	1	2	1	2
2212-42	1	2	2	3	1	2	1	1	2	2
2318-43	1	1	1	1	5	2	1	4	1	2
2091-44	1	2	1	1	4	2	2	5	1	2
2298-45	2	2	1	3	3	2	1	1	1	6
0988-46	2	2	1	1	2	2	1	2	1	2
1254-47	1	2	1	3	2	2	2	3	1	3
1258-48	1	3	2	3	2	2	1	3	1	3
6878-49	2	2	1	1	4	3	2	1	1	4
6889-50	6	3	1	1	3	2	1	1	3	2
4474-51	4	2	1	3	2	2	1	1	1	6
4346-52	4	2	1	5	1	2	1	1	2	2
0224-53	6	2	1	1	5	2	2	1	1	3
0489-54	2	3	1	3	2	2	1	1	2	2
RVTC-55	1	2	1	1	4	2	2	1	1	3
RVTC-56	4	3	1	1	2	2	1	3	2	2
RVTC-57	2	2	1	3	3	2	1	4	1	2
RVTC-58	2	2	1	3	2	2	1	2	1	2
IAC392-59	4	2	1	7	2	2	2	1	1	3
IAC404-60	4	2	1	1	3	2	3	1	1	3
IAC415-61	4	3	1	3	2	2	1	2	2	2
IAC420-62	1	2	1	3	4	2	1	3	3	2
IAC1498-63	1	1	1	1	7	1	2	3	2	2
IAC1622-64	5	1	1	1	4	2	6	4	1	4
RVTC-65	3	2	2	3	2	2	1	3	1	3

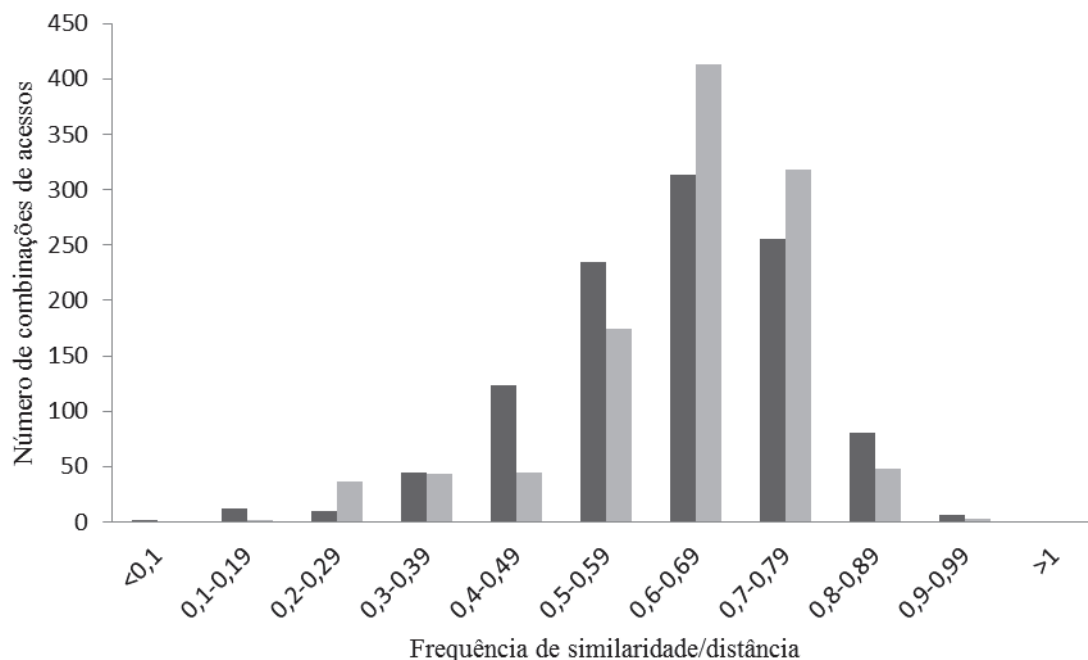
ANEXO XII

Cidade	UF	Código	Cidade	UF	Código
Passos (1)	MG	RVTC-01	Turvo	PR	RVTC-35
Jardim Alegre	PR	RVTC-02	Mariópolis	PR	RVTC-36
Capanema	PR	RVTC-03	Prudentópolis (10)	PR	RVTC-37
Ipiranga	PR	RVTC-04	Itumirim (1)	MG	RVTC-38
Mandirituba	PR	RVTC-05	Itumirim (2)	MG	RVTC-39
Bituruna	PR	RVTC-06	Itumirim (3)	MG	RVTC-40
Palmital	PR	RVTC-07	Itumirim (4)	MG	RVTC-41
Santa Maria do Oeste	PR	RVTC-08	Viçosa (1)	MG	2212-42
Irati	PR	RVTC-09	Viçosa (2)	MG	2318-43
Chopinzinho	PR	RVTC-10	Viçosa (3)	MG	2091-44
Rebouças	PR	RVTC-11	Viçosa (4)	MG	2298-45
Ponta Grossa (1)	PR	RVTC-12	Viçosa (5)	MG	0988-46
Ponta Grossa (2)	PR	RVTC-13	Viçosa (6)	MG	1254-47
Ivaiporã (1)	PR	RVTC-14	Viçosa (7)	MG	1258-48

Anexo XII...			Continuação...		
Ivaiporã (2)	PR	RVTC-15	Viçosa (8)	MG	6878-49
Ivaiporã (3)	PR	RVTC-16	Viçosa (9)	MG	6889-50
Lapa (1)	PR	RVTC-17	Viçosa (10)	MG	4474-51
Lapa (2)	PR	RVTC-18	Viçosa (11)	MG	4346-52
Guarapuava (1)	PR	RVTC-19	Viçosa (12)	MG	0224-53
Guarapuava (2)	PR	RVTC-20	Viçosa (13)	MG	0489-54
Passos (2)	MG	RVTC-21	Teixeira	MG	RVTC-55
Guarapuava (3)	PR	RVTC-22	Passos (4)	MG	RVTC-56
Prudentópolis (1)	PR	RVTC-23	Gurupí	TO	RVTC-57
Prudentópolis (2)	PR	RVTC-24	Guaraciaba	SC	RVTC-58
Prudentópolis (3)	PR	RVTC-25	Sta Cruz do Rio Pardo	SP	IAC392-59
Prudentópolis (4)	PR	RVTC-26	Assis	SP	IAC404-60
Prudentópolis (5)	PR	RVTC-27	Itapeva	SP	IAC415-61
Prudentópolis (6)	PR	RVTC-29	Campinas	SP	IAC420-62
Prudentópolis (7)	PR	RVTC-30	Artur Nogueira	SP	IAC1498-63
Prudentópolis (8)	PR	RVTC-31	Jacutinga	MG	IAC1622-64
Prudentópolis (9)	PR	RVTC-32	Passos (3)	MG	RVTC-65
Palotina	PR	RVTC-33	Sweet Grape		Testemunha
Marialva	PR	RVTC-34			

Relação dos 64 acessos de mini-tomates (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) do banco de germoplasma da UNICENTRO e a cultivar Sweet Grape. Os acessos em destaque foram utilizados para as análises com o marcador molecular.

ANEXO XIII



Frequência de similaridade e distância em relação ao número de combinações entre 47 materiais de mini-tomate provenientes do banco de germoplasma da UNICENTRO, quanto a análises moleculares (cinza claro) e morfológicas (cinza escuro).

ANEXO XIV

Características morfológicas quantitativas avaliadas em 65 acessos de mini-tomate, comprimento do fruto (CD), diâmetro do fruto (DF), massa média dos frutos (MMF), frutos por planta (FPP), produção por planta (PPP), diâmetro do caule (DC), inserção do cacho (IC), largura da folha (LF), flores por cacho (FLC), ciclo dos frutos (CDF) e sólidos solúveis (SS).

Genótipo	CF	DF	FPC	MMF	FPP	DC	IC	LF	FLC	CDF	SS
RVTC-01	21,67 e	26,23 c	6 d	10,26 c	57,33 b	13,21 b	15,78 d	26,67 e	7,33 d	51,33 a	6,3 c
RVTC-02	22,11 e	26,7 c	10,67 c	16,74 c	74,08 b	14,5 b	16,33 d	29,67 d	12,33 c	49,67 a	6,4 c
RVTC-03	22,06 e	25,69 c	16 b	10,32 c	89,17 a	13,39 b	15,79 d	21 f	14 c	47,67 a	5,97 d
RVTC-04	26,62 d	30,16 b	9 d	19,33 b	86,5 a	16,75 b	18,88 c	34,33 c	10 d	50 a	6,67 b
RVTC-05	21,8 e	23,87 d	8 d	9,87 c	78,92 b	14,88 b	15,64 d	21 f	9 d	49,33 a	5,83 d
RVTC-06	26,23 d	27,83 c	7,67 d	19,49 b	72,25 b	16,24 b	18,07 c	26,67 e	8,67 d	48,67 a	6,07 d
RVTC-07	26,46 d	29,48 b	8,33 d	21,05 b	93,25 a	17,33 b	18,8 c	31 d	10 d	50,33 a	5,37 f
RVTC-08	31,74 c	32,66 a	8,33 d	25,41 b	89,67 a	18,02 b	21,1 b	23,67 e	9,67 d	51 a	5,33 f
RVTC-09	21,28 e	22,81 d	7 d	7,19 c	116,17 a	14,98 b	15,27 d	25 e	11,33 c	50,67 a	5,63 e
RVTC-10	23,96 d	25,17 c	6,33 d	15,76 c	85,37 a	17,47 b	17,15 d	41 b	8,33 d	48,33 a	6 d
RVTC-11	27,95 d	30,97 b	8 d	23,85 b	53,87 b	16,81 b	19,43 c	37,33 b	8,33 d	50,33 a	6,03 d
RVTC-12	32,96 c	32,87 a	9 d	30,12 a	78,58 b	18,55 b	21,59 b	12,33 g	10 d	49,33 a	5,43 f
RVTC-13	20,47 e	22,08 d	9 d	8,73 c	92,33 a	15,51 b	15,02 d	24,33 e	10,33 d	50 a	5,93 d
RVTC-14	32,57 c	33,09 a	6,67 d	34,19 a	63,75 b	20,15 b	21,95 b	25,33 e	7,33 d	51,33 a	6,2 c
RVTC-15	28,76 d	31,22 b	6,67 d	18,38 b	98,67 a	19,1 b	20,27 c	37,67 b	7,67 d	51,33 a	6,13 d
RVTC-16	32,31 c	29,46 b	7,33 d	22,29 b	71,92 b	18,24 b	20,06 c	24,67 e	9,33 d	49,67 a	6,1 d
RVTC-17	25,58 d	25,47 c	11,67 c	13,2 c	63,58 b	17,76 b	17,51 d	29 d	13 c	50,33 a	6,67 b
RVTC-18	25,65 d	26,42 c	13 c	13,23 c	87,67 a	17,89 b	17,99 c	26,33 e	14,33 c	51,67 a	6,73 b
RVTC-19	28,01 d	27,24 c	10 c	15,59 c	109,17 a	17,86 b	18,78 c	32,33 c	11,67 c	50,67 a	6,03 d
RVTC-20	32,35 c	29,48 b	10,67 c	21,44 b	56 b	19,91 b	20,94 b	50,67 a	13,33 c	51,67 a	6,1 d
RVTC-21	21,88 e	27,12 c	5,33 d	13,97 c	98,25 a	17,88 b	17,22 d	38 b	5,67 d	51,33 a	6,17 c
RVTC-22	26,48 d	29,22 b	7,33 d	21,03 b	94,67 a	19,11 b	19,2 c	29,67 d	10 d	48 a	7,17 a
RVTC-23	24,97 d	26,04 c	7,67 d	12,45 c	97,08 a	17,74 b	17,69 c	23,67 e	10 d	50,67 a	6,3 c
RVTC-24	27,13 d	29,15 b	6,33 d	19,26 b	81,08 b	18,35 b	19,11 c	26 e	7 d	46,67 b	5,17 g
RVTC-25	29,31 c	39,88 a	9 d	23,27 b	50,5 b	19,64 b	25,54 a	38,33 b	10,33 d	49,67 a	6,23 c
RVTC-26	24,08 d	25,06 c	8,67 d	10,59 c	96,25 a	18,66 b	17,45 d	29,33 d	10 d	48,33 a	6,13 d
RVTC-27	25,27 d	26,57 c	8,67 d	10,77 c	99,5 a	19,94 b	18,44 c	27,33 d	10,67 d	48,67 a	6,13 d
RVTC-29	33,45 c	34,4 a	10 c	17,28 c	111,08 a	23,84 a	23,42 b	21,67 f	10,33 d	48,33 a	5,3 f
RVTC-30	25,66 d	27,29 c	8 d	11,92 c	102,92 a	20,46 b	18,85 c	29,67 d	9 d	48,67 a	6,03 d
RVTC-31	32,6 c	32,65 a	6,67 d	25,72 b	60,5 b	21,87 a	22,28 b	26 e	9,33 d	46,67 b	5,8 e
RVTC-32	24,85 d	27,34 c	15,33 b	12,98 c	104,83 a	20,2 b	18,6 c	15,33 g	17,33 b	47 b	6,27 c
RVTC-33	22,35 e	26,32 c	7 d	13,6 c	78,33 b	18,79 b	17,43 d	29 d	8 d	46,67 b	5,97 d
RVTC-34	22,54 e	26,94 c	11 c	13,68 c	69 b	20,57 b	18,02 c	21,67 f	12,67 c	52,67 a	5,57 e
RVTC-35	18,62 e	21,44 d	13,33 c	7,61 c	128,42 a	18,04 b	15,02 d	29,33 d	15 c	45 b	6,57 b
RVTC-36	27,3 d	24,92 c	10,67 c	9,37 c	99,5 a	20,76 b	18,75 c	30 d	11,33 c	48,67 a	6,23 c
RVTC-37	25,1 d	25,69 c	7,67 d	13,59 c	97,58 a	20,39 b	18,29 c	20,33 f	8 d	50,67 a	6,23 c
RVTC-38	20,72 e	22,01 d	8 d	7,55 c	77,33 b	18,72 b	15,86 d	40 b	9,67 d	49 a	5,3 f
RVTC-39	20,67 e	22,15 d	6,33 d	6,95 c	70 b	19,1 b	15,98 d	26,67 e	7,67 d	49,67 a	5,87 d
RVTC-40	20,2 e	22,32 d	8,67 d	7,13 c	114,37 a	19,18 b	15,93 d	32 c	10,33 d	44 c	6,37 c
RVTC-41	19,16 e	21,25 d	13 c	8,71 c	98,58 a	18,76 b	15,29 d	36,67 b	14,33 c	43,33 c	6,77 b
2212-42	30,02 c	35,87 a	7,33 d	22,63 b	38 b	24 a	22,97 b	35,33 c	9 d	48,33 a	5,57 e
2318-43	34,75 c	34,49 a	9 d	37,75 a	60,42 b	27,09 a	24,58 a	24,67 e	11,33 c	48,33 a	5 g
2091-44	38,86 b	29,96 b	7 d	19,39 b	101,75 a	25,18 a	24,01 a	27,33 d	9 d	51,67 a	5,9 d
2298-45	34,92 c	34,99 a	7,67 d	26,47 b	44,25 b	22,06 a	23,81 a	15 g	8 d	51,33 a	4,77 h
0988-46	24,63 d	26,22 c	7 d	16,71 c	51 b	22 a	20,25 c	17,67 f	9,33 d	52,33 a	4,47 i
1254-47	23,91 d	26,46 c	7 d	18,54 b	82,58 b	22,44 a	18,7 c	23,33 e	7,33 d	51 a	6,03 d
1258-48	25,98 d	29,05 b	6 d	19,23 b	96,58 a	22,76 a	19,95 c	19,67 f	7,33 d	50,33 a	5,73 e
6878-49	29,99 c	25,68 c	6,67 d	11,54 c	59,5 b	22,41 a	20,02 c	27,67 d	6,67 d	41 c	7,13 a
6889-50	23,87 d	24,78 c	17,67 b	8,8 c	78,5 b	23,31 a	19,98 c	48,67 a	20,67 b	45 b	5,5 f
4474-51	25,68 d	28,57 c	11,67 c	15,65 c	114,75 a	24,36 a	20,16 c	35 c	13 c	51,67 a	5,53 e
4346-52	23,78 d	27,64 c	7 d	29,42 a	62,08 b	24,54 a	19,49 c	26,67 e	7,67 d	48 a	6,27 c
0224-53	44,43 a	27,51 c	9,33 d	22,1 b	97,25 a	27,99 a	25,48 a	37 b	10,33 d	54 a	5,2 g
0489-54	33,75 c	36,39 a	12,33 c	37,01 a	53,75 b	28,47 a	27,05 a	35,33 c	14,33 c	48 a	6 d
RVTC-55	33,65 c	26,89 c	7,33 d	17,12 c	53,25 b	25,84 a	24,19 a	29,67 d	8,67 d	47 b	6,43 c
RVTC-56	22,87 e	22,97 d	14,33 b	9,48 c	113,5 a	23,94 a	17,95 c	28,33 d	16 c	47 b	5,83 d
RVTC-57	24,69 d	25,8 c	9 d	13,24 c	120,67 a	25,2 a	19,42 c	32 c	10 d	49,33 a	5,73 e
RVTC-58	26,82 d	28,5 c	10,33 c	12,4 c	99,67 a	25,22 a	21,96 b	30,33 d	12 c	50,33 a	6,1 d
IAC392-59	36,78 b	30,7 b	9 d	18,08 b	77,5 b	25,76 a	24,1 a	29 d	9,33 d	50 a	6,07 d
IAC404-60	30,68 c	30,14 b	10 c	14,84 c	79,5 b	26,54 a	22,34 b	35,33 c	12,33 c	43,33 c	6,3 c
IAC415-61	19,02 e	20,54 d	24 a	6,63 c	105,83 a	23,11 a	17,74 c	23 e	27,33 a	43 c	6,03 d
IAC420-62	32,17 c	30,29 b	26,33 a	12,76 c	114,17 a	27,75 a	23,06 b	18,33 f	28,33 a	47 b	5,6 e
IAC1498-63	33,73 c	23,02 d	19 b	9,76 c	87,58 a	25,27 a	21 b	17,67 f	20,67 b	50 a	7,37 a
IAC1622-64	38,39 b	33,96 a	8 d	23,88 b	55,83 b	29,35 a	25,92 a	28,67 d	9 d	50 a	4,8 h
RVTC-65	20,98 e	23,77 d	7,67 d	12,53 c	64,42 b	24,84 a	19,41 c	36,67 b	9,67 d	48,67 a	5,67 e
SG	40,11 b	26,14 c	22,67 a	14,48 c	145 a	19,9 b	21,91 b	35,33 c	21,67 b	49,67 a	5,8 e

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em estudos de divergência genética muitos trabalhos vêm demonstrado a importância de análises conjuntas do genótipo e fenótipo, como seu desempenho agrônomo, análises com marcadores morfológicos e moleculares. Em nosso trabalho foram observadas divergência entre os resultados para cada uma das análises realizadas.

O número de agrupamentos para as análises morfológicas e moleculares apresentou padrão de agrupamento similar. O número de grupos apresentou pouca variação, sendo formados 6 grupos para o dendrograma com os dados moleculares e 8 grupos para os dados morfológicos, porém, a distribuição dos acessos não foi a mesma. No entanto, podemos destacar que o agrupamento gerado pelos dados moleculares foram os que apresentarem alguma relação com os locais de coleta. Segundo Gomes (2007), a formação do mesmo número de grupos com uma distribuição diferenciada dos acessos nos grupos, indica uma discordância entre os procedimentos de agrupamento realizados. Assim, estes dados não podem ser extrapolados às de outros conjuntos de caracteres, uma vez que as análises sofrem de controle genético diferenciado para os caracteres analisados.

As combinações dos acessos mais similares (dados moleculares) apresentaram uma distância perto da média, em comparação com os dados da matriz morfoagronômica. Ao observar os acessos mais próximos e os mais discrepantes em relação a todos os outros, os dados moleculares e morfoagronômicos apresentaram resultados conflitantes. Os acessos mais próximos para com os outros, segundo os dados moleculares (RVTC-36 (72%); RVTC-33 (71%), RVTC-58 (70%), RVTC-21 (60%)), foram os mais distantes pelos dados morfoagronômicos (RVTC-36 (0,72), RVTC-33, RVTC-58, RVTC-21 (0,71)), sendo válido o contrário.

A similaridade média e a distância média entre os dados das matrizes molecular (0,64) e morfológica (0,60) não corroboram. Assim, como esperado não houve correlação significativa entre as matrizes morfológica e molecular ($R^2 = 0,16 (\geq 0,05)$), concordando com outros trabalhos que encontraram correlações bastante baixas para tomate ($R^2 = 0,28$; Kamada, 2006) e outras solanáceas cultivadas como berinjela ($R^2 = 0,38$; HURTADO et al., 2012), pimentas (GELETA et al., 2005) e batata (VETELAINEN, et al., 2005). O que justifica que a diversidade genética obtida com base em um conjunto de caracteres não explica a diversidade com base em outro conjunto, ainda valores abaixo de 0,70 são considerados inconsistentes para explicar esta diversidade (ROHLF, 2000). Assim, ambos os tipos de dados amostram diferentes níveis de diversidade (BRETTING, et al., 1995). Wendel e Doyle (2008) sugerem que a

diferença entre os dados moleculares e morfológicos pode ser consequência das regiões amostradas no genoma são diferentes em cada tipo de marcador e seguem caminhos evolutivos diferentes. Esta diferença pode ser atribuída a variabilidade acessada por cada técnica. A técnica dos marcadores moleculares acessa a variabilidade diretamente no genoma da espécie, incluindo regiões expressas e não expressas. O que diferencia os marcadores morfológicos, que avaliam a variabilidade a partir de regiões expressas (GONÇALVES et al., 2008).

No caso do tomate, que é uma espécie autógama sendo possível a obtenção de novas cultivares, assim como explorar agronomicamente o híbrido F₁ é muito importante não só conhecer a diversidade genética mas também conhecer suas características morfológicas e seu desempenho agrônomo, para uma caracterização mais abrangente da coleção do banco de germoplasma. Assim, materiais como o híbrido Sweet Grape, mini-tomate muito bem aceito pelo consumidor, podem ser considerados modelos de desempenho agrônomo. Neste sentido, os acessos RVTC-22, IAC1622-64 e IAC392-59 que apresentaram boas características agrônomicas e de qualidade dos frutos, também podem ser promissores em programas de melhoramento que visem estas características. Uma vez que, estas características estão diretamente relacionadas com os atributos que se busca em cultivares superiores de interesse para a produção agrícola (GONÇALVES et al., 2008).

Os resultados obtidos neste estudo confirmaram a base genética estreita do tomateiro, no entanto, há acessos com potencial a serem utilizados em programas de melhoramento. A escolha dos acessos a serem utilizados depende das análises de pré-melhoramento bem realizadas, do objetivo do programa de melhoramento e das características a serem enaltecidas.

REFERÊNCIAS

- BRETTING, P.K.; WIDRLECHNER, M.P. Genetic markers and plant genetic resources management. **Plant Breeding Rev**, vol. 13, pag. 11–86. 1995.
- GELETA, L.F.; LABUSCHAGNE, M.T.; VILJOEN, C.D. Genetic variability in pepper (*Capsicum annum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. **Biodivers Conserv** 14: 2361–2375. 2005.
- GOMES, D.M. **Variabilidade fenotípica de caracteres vegetativos e reprodutivos em população de pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth)**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas,

2007. 72f.

GONÇALVES L.S.A.; RODRIGUES R.; SUDRÉ C.P.; BENTO C.S. Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultura Brasileira**. Vol. 26, pag. 364-370. 2008.

HURTADO, M.; VILANOVA, S.; PLAZAS, M.; GRAMAZIO, P.; FONSEKA, H.H.; FONSEKA, R.; PROHENS, J. Diversity and relationships of eggplants from three geographically distant secondary centers of diversity. **Plus One**, núm. 7, vol. 7, pag. 1-14. 2012.

KAMADA T. Avaliação da diversidade genética de populações de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) por RAPD, caracteres morfológicos e teor de beta-ecdisona. Tese Doutorado. Viçosa: UFV. 106p. 2006.

MARTINS, F.A.; CARNEIRO, P.C.S.C.; SILVA, D.J.H.; CRUZ, C.D.; CARNEIRO, J.E.S. Integração de dados em estudos de diversidade genética de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.11, p.1496-1502. 2011.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. Exeter Software: New York, 2000. 83p.

VETELA, I.N.E.N.M.; GAMMELGARD, E.; VALKONEN, J.P.T. Diversity of Nordic landrace potatoes (*Solanum tuberosum* L.) revealed by AFLPs and morphological characters. **Genetic Research Crop Evol**, vol. 52, pag. 999–1010. 2005.

WENDEL, J.F.; DOYLE, J.J. **Phylogenetic incongruence: window into genome history and molecular evolution**. In: Soltis D, Soltis P, Doyle J, editors. *Molecular systematics of plants II: DNA sequencing*. Norwell, MA: Kluwer Academic Publishers. 265–296. 2008.