



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

LUANA DE SOUZA MARINKE

**ACILAÇÚCARES MEDIADORES DE RESISTÊNCIA AO  
ÁCARO RAJADO EM GENÓTIPOS AVANÇADOS DE  
TOMATEIRO DO CRUZAMENTO *Solanum pennelli* × *S.*  
*lycopersicum***

LUANA DE SOUZA MARINKE

**ACILAÇÚCARES MEDIADORES DE RESISTÊNCIA AO  
ÁCARO RAJADO EM GENÓTIPOS AVANÇADOS DE  
TOMATEIRO DO CRUZAMENTO *Solanum pennelli* × *S.*  
*lycopersicum***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende

Londrina  
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

M339a. Marinke, Luana de Souza.

Acilazúcares mediadores de resistência ao ácaro rajado em genótipos avançados de tomateiro do cruzamento *Solanum pennellii* x *S. lycopersicum* / Luana de Souza Marinke. - Londrina, 2022.  
70 f. : il.

Orientador: Juliano Tadeu Vilela de Resende.

Coorientador: Maurício Ursi Ventura.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.  
Inclui bibliografia.

1. *Solanum lycopersicum* L. - Tese. 2. *Solanum pennellii* Correll - Tese. 3. Tricomas glandulares - Tese. 4. Aleloquímico - Tese. I. Vilela de Resende, Juliano Tadeu . II. Ursi Ventura, Maurício . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

LUANA DE SOUZA MARINKE

**ACILAÇÚCARES MEDIADORES DE RESISTÊNCIA AO  
ÁCARO RAJADO EM GENÓTIPOS AVANÇADOS DE  
TOMATEIRO DO CRUZAMENTO *Solanum pennelli* × *S.  
lycopersicum***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Juliano Tadeu Vilela de  
Resende  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Fernando Teruhiko Hata  
Universidade Estadual de Maringá – UEM

---

Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva  
Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná –  
UNICENTRO

Londrina, 28 de fevereiro de 2022

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela vida e força nos momentos difíceis.

Aos meu pais, Josiane Maria de Souza e Rogério Marinke pelo apoio constante, confiança e amor incondicional.

À minha família pelo incentivo.

Ao meu orientador Professor Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende, pela paciência e ensinamentos durante esse período.

À CAPES, pela bolsa concedida.

Aos colegas do Laboratório de Hortaliças da UEL (LABHOR), pelo auxílio e amizade.

Aos meus amigos, que sempre estão ao meu lado.

Enfim, a todos que, de alguma maneira, contribuíram para que eu chegasse até aqui.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

*Madre Teresa de Calcutá*

MARINKE, Luana de Souza. **Acilaçúcares mediadores de resistência ao ácaro rajado em genótipos avançados de tomateiro do cruzamento *Solanum pennelli* × *S. lycopersicum***. 2022. 70 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2022.

## RESUMO

O tomateiro apresenta suscetibilidade a diversos artrópodes-praga, que causam danos consideráveis a cultura, prejudicando a produção. Alguns programas de melhoramento genético de tomate, buscam por meio de cruzamentos interespecíficos a obtenção de genótipos resistentes a pragas. Objetivou-se avaliar genótipos avançados de tomateiro com elevados teores de acilaçúcares (AAs), quanto à resistência ao ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). Assim, os genótipos selecionados em laboratório para níveis contrastantes de AAs e os parentais *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’ (padrão de suscetibilidade); *Solanum lycopersicum* linhagem M-08 (padrão de suscetibilidade) e *Solanum pennellii* LA-716 (padrão de resistência), foram submetidos à presença da praga, para avaliação da resistência. Foram realizados três experimentos com ácaro rajado: caminhamento do ácaro sobre a superfície abaxial dos folíolos, e os bioensaios com e sem chance de escolha. Nas superfícies foliares foram contabilizados os tricomas glandulares e não glandulares, por meio de quatro repetições a partir de imagens obtidas do Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV. Para auxiliar na seleção foi utilizada a análise assistida por marcadores moleculares Inter Simple Sequence Repeat – ISSR, para obtenção de genótipos com melhores padrões comerciais. Os dados foram submetidos aos preceitos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Atendido os preceitos, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos ao teste de Scott-Knott e quando os pressupostos não foram atendidos, as médias foram analisadas com o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de agrupamento Dunn-Bonferroni. Mediante os resultados gerados nos bioensaios, observou-se influência negativa dos acilaçúcares presentes nos folíolos de tomateiro sobre o comportamento do ácaro rajado. Os tricomas glandulares demonstraram relação direta com o teor de acilaçúcar. Os marcadores ISSR identificaram os genótipos com a maior proporção de recuperação do parental comercial ‘Redenção’ e M-08 e menor similaridade com *S. pennellii*. Entre os genótipos selecionados para alto teor de acilaçúcar, RVTA pl#14, RVTA pl#42 e RVTA pl#427 possuem maior resistência ao ácaro, quando comparados com os parentais suscetíveis e possuem a maior similaridade com o parental recorrente, sendo indicados para avançar no programa de melhoramento genético de tomateiro.

**Palavras-chave:** *Solanum lycopersicum* L. *Solanum pennellii* Correll. Tricomas glandulares. Aleloquímico.

MARINKE, Luana de Souza. **Acylsugars mediators of two-spot mite resistance in advanced tomato genotypes from the cross *Solanum pennelli* × *S. lycopersicum***. 2022. 70 p. Dissertation (Master in Agronomy) - Londrina State University, Londrina. 2022.

## ABSTRACT

Tomatoes are susceptible to several arthropod pests, which cause considerable damage to the crop, impairing production. Some tomato genetic improvement programs seek through interspecific crosses to obtain pest resistant genotypes. The objective was to evaluate advanced tomato genotypes with high levels of acylsugars (AAs) in terms of resistance to spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Thus, the genotypes selected in the laboratory for contrasting levels of AAs and the parental *Solanum lycopersicum* cv. 'Redenção' (susceptibility pattern); *Solanum lycopersicum* lineage M-08 (susceptibility pattern) and *Solanum pennellii* LA-716 (resistance pattern) were subjected to the presence of the pest to evaluate resistance. Three experiments were carried out with two-spotted mite: walking of the mite on the abaxial surface of the leaflets, and bioassays with and without choice. On the leaf surfaces, glandular and non-glandular trichomes were counted, through four replications from images obtained from Scanning Electron Microscopy - SEM. To assist in the selection, analysis assisted by molecular markers Inter Simple Sequence Repeat – ISSR was used to identify genotypes genetically closer to the commercial cultivar. The data were submitted to the precepts of normality and homogeneity of variances. In compliance with the precepts, the data were submitted to analysis of variance and the means of the treatments to the Scott-Knott test and when the assumptions were not met, the means were analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by the Dunn-Bonferroni cluster test. Through the results generated in the bioassays, a negative influence of the acylsugars present in tomato leaflets on the behavior of the two-spotted spider mite was observed. Glandular trichomes showed a direct relationship with the acylsugar content. The ISSR markers identified the genotypes with the highest recovery of the commercial parental 'Redenção' genome and M-08 and the lowest similarity with *S. pennellii*. Among the genotypes selected for high acylsugar content, RVTA pl#14, RVTA pl#42 and RVTA pl#427 have greater resistance to the mite when compared to the susceptible parents and have the greatest similarity with the recurrent parent, being indicated to advance in the tomato genetic improvement program.

**Key words:** *Solanum lycopersicum* L. *Solanum pennellii* Correll. Glandular. Trichomes. Allelochemical.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Análise de componentes principais relacionados à teores de acilaçúcares, similaridade genética entre os parentais (*S. pennellii* LA-716 e *S. lycopersicum* ‘Redenção’) e genótipos da população F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>. ..... 37
- Figura 2** – Análise de componentes principais relacionados à teores de acilaçúcares, similaridade genética entre os parentais (*S. pennellii* x *S. lycopersicum*) e genótipos da população F<sub>2</sub> [ (M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]..... 38
- Figura 3** – Teste com chance de escolha em diferentes genótipos de tomateiro comparado com a ‘Redenção’ ..... 52
- Figura 4** – Teste com chance de escolha em diferentes genótipos de tomateiro comparado com a linhagem M-08 ..... 53
- Figura 5** – Imagem mostrando tricomas foliares na superfície abaxial do folíolo de genótipos avançados de tomateiro sob microscópio eletrônico de varredura. .... 56
- Figura 6** – Análise de componentes principais relacionados à identificação de tricomas, teores de acilaçúcares e os biensaio de resistência ao *T. urticae* em genótipos avançados de tomateiro ..... 59
- Figura 7** – Rede de correlações de Pearson entre características avaliadas em genótipos avançados de tomateiro ..... 61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Primers ISSR ( <i>inter-simple sequence repeat</i> ) utilizados neste estudo com suas sequência e temperatura de pareamento PA (°C).....	27
<b>Tabela 2</b> – Nomenclatura, genealogia, e diferentes teores de acilacúcares (absorbância <sup>1</sup> ) dos genótipos utilizados no trabalho. Londrina-PR, UEL, 2021 .....	30
<b>Tabela 3</b> – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre ‘Redenção’ e RVTA-325 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR).....	31
<b>Tabela 4</b> – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre ‘Redenção’ e RVTA-230 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR).....	32
<b>Tabela 5</b> – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre M-08 e RVTA-325 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR) .....	33
<b>Tabela 6</b> – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre M-08 e RVTA-230 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR) .....	34
<b>Tabela 7</b> – Similaridade genética entre os parentais e genótipos oriundos do cruzamento entre M-08 e RVTA-238 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR).....	35
<b>Tabela 8</b> – Relação dos genótipos avaliados e respectivas classificações quanto aos teores de acilacúcares .....	42
<b>Tabela 9</b> – Teores de acilacúcares (Absorbância <sup>1</sup> ) e distância média percorrida pelo ácaro rajado ( <i>Tetranychus urticae</i> ) após 10, 20, 40 e 60 minutos, em diferentes genótipos de tomateiro .....	48
<b>Tabela 10</b> – Número médio de ovos e adultos de ácaro-rajado ( <i>T. urticae</i> ) nas faces adaxial e abaxial de discos foliares de tomateiro (30 mm de diâmetro) em um bioensaio sem chance de escolha .....	50
<b>Tabela 11</b> – Resultados da análise de tricomas/ $\mu\text{m}^2$ e tricomas/ $\text{mm}^2$ nas faces adaxial e abaxial dos genótipos de tomateiro analisados neste trabalho, os tricomas foram separados por tipo (glandular e não glandular).....	57

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS GERAIS</b> .....	13
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
3.1	IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO TOMATEIRO .....	14
3.2	ASPECTOS BOTÂNICOS .....	15
3.3	TOMATEIROS SILVESTRES .....	15
3.4	TOMATEIRO PARA PROCESSAMENTO INDUSTRIAL.....	16
3.5	ARTRÓPODES-PRAGA DO TOMATEIRO .....	16
3.5.1	Ácaro rajado – <i>Tetranychus urticae</i> Koch (Acari: Tetranychidae).....	16
3.6	MELHORAMENTO DO TOMATEIRO VISANDO RESISTÊNCIA A PRAGAS.....	18
3.7	<i>SOLANUM PENNELLII</i> LA -716.....	19
3.8	<i>SOLANUM GALAPAGENSE</i> LA -1401.....	20
3.9	SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES.....	21
<b>4</b>	<b>ARTIGO A: Seleção de genótipos avançados de tomateiro por meio de marcadores moleculares para teores elevados de acilúcares</b> .....	22
4.1	RESUMO .....	22
4.2	ABSTRACT.....	22
4.3	INTRODUÇÃO.....	23
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.4.1	Local de Realização .....	24
4.4.2	Obtenção dos Genótipos Avançados de Tomateiro e Cultivo das Plantas.....	24
4.4.3	Determinação dos Teores de Acilúcares.....	25
4.4.4	Análise Molecular .....	26
4.4.5	PCR-ISSR.....	27
4.4.6	Análises Estatísticas .....	27
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.5.1	Obtenção dos Genótipos .....	28
4.5.2	Análise de similaridade genética.....	31

4.6	CONCLUSÕES.....	38
<b>5</b>	<b>ARTIGO B: Relação entre quantidade e tipos de tricomas em genótipos de tomateiro na manifestação de aleloquímico de resistência e incidência de <i>Tetranychus urticae</i>.....</b>	<b>39</b>
5.1	RESUMO .....	39
5.2	ABSTRACT.....	39
5.3	INTRODUÇÃO.....	40
5.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
5.4.1	Experimento em casa-de-vegetação .....	42
5.4.2	Criação do ácaro-rajado.....	43
5.4.3	Bioensaio de Caminhamento do Ácaro .....	43
5.4.4	Bioensaio sem Chance de Escolha .....	43
5.4.5	Bioensaio com Chance de Escolha.....	44
5.4.6	Avaliações e identificações de tricomas sob microscopia eletrônica de varredura.....	44
5.4.7	Análises Estatísticas .....	45
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.5.1	Bioensaio de caminhamento do ácaro .....	46
5.5.2	Bioensaio sem Chance de Escolha .....	49
5.5.3	Bioensaio com Chance de Escolha.....	51
5.5.4	Avaliações e identificações de tricomas sob microscopia eletrônica de varredura.....	53
5.6	CONCLUSÕES.....	61
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>62</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda da população por olerícolas que possuem benefícios a saúde aumentam a cada dia, um exemplo é a cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), sendo muito cultivada e apreciada no Brasil e no Mundo, para o consumo *in natura* e para fins industriais, movimentando a economia e gerando empregos diretos e indiretos. Apesar desta hortaliça possuir grande importância, é acometida durante seu cultivo por diversos artrópodes-pragas que causam danos consideráveis, interferindo no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, diminuindo a qualidade dos frutos e por consequência a produtividade da cultura.

Entre as principais pragas que atacam o tomateiro, o *Tetranychus urticae* Koch, também conhecido como ácaro rajado, se alimenta de superfícies foliares e retira a clorofila, ocasionando manchas amarelas-esverdeadas, o que interfere na fotossíntese da planta e por consequência, na produção, em casos severos infestam até os frutos. O método mais utilizado para o controle deste artrópode-praga é o químico, porém com o uso incorreto de produtos fitossanitários esta praga estão se tornando resistentes, assim afetando a eficiência de controle.

O melhoramento genético vem ganhando destaque para esta finalidade, buscando transferir genes de espécies selvagens para o tomateiro cultivado, por meio de cruzamentos interespecíficos. A fim de facilitar e melhorar a eficiência de seleção para obtenção de genótipos elites, marcadores moleculares são utilizados, que permitem identificar os materiais que possuem maior similaridade com o parental recorrente, assim acelerando o processo. O acesso silvestre *Solanum pennellii* LA-716, é comumente utilizado dentro dos programas de melhoramento, esse possui resistência a pragas, mediada por acilaçúcares exsudados por tricomas glandulares presentes na superfície foliar. Este aleloquímico reduz a alimentação e oviposição dos principais artrópodes-pragas que atacam o tomateiro.

Desta maneira, a obtenção de genótipos resistentes com altos teores do aleloquímico acilaçúcar, torna-se alternativa relevante para o manejo integrado de pragas, contribuindo para a obtenção de frutos com alta qualidade e maior produtividade. Além de reduzir as aplicações de agrotóxicos na cultura, gerando um menor impacto ambiental.

## 2 OBJETIVOS GERAIS

Selecionar genótipos avançados de tomateiro com altos teores de acilacúcares, originada do cruzamento entre *Solanum lycopersicum* L. × *Solanum pennellii* Correll acesso LA-716, resistentes ao ácaro rajado e com maior similaridade ao parental recorrente.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (i) determinar os teores de acilacúcares na população segregante F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> e F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>] entre *Solanum pennellii* e *Solanum lycopersicum*;
- (ii) selecionar materiais para resistência ao ácaro rajado na cultura do tomateiro;
- (iii) quantificar as densidades de tricomas foliares nos genótipos selecionados;
- (iv) selecionar genótipos por meio de marcadores moleculares.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO TOMATEIRO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas em todo mundo, atrás somente da cultura da batata. Apresenta relevância socioeconômica e nutricional (FAOSTAT, 2022; ALVARENGA, 2013). Altamente consumido e de elevada importância na dieta, visto que apresenta diversos componentes benéficos à saúde, como compostos nutracêuticos, flavonóides, antioxidantes e carotenoides. O fruto possui também propriedades anti-inflamatórias que ajudam a combater doenças cardiovasculares (HEFFERON, 2016). Dentre os carotenoides, o licopeno apresenta excelentes resultados na prevenção de câncer de próstata, ovário e intestino.

Além do consumo *in natura*, o tomate também é utilizado pelas agroindústrias de alimentos, para fabricação de molhos, sucos, ketchups e demais enlatados. Assim, tornando-se uma das principais hortaliças industrializadas do mundo (ZANIN *et al.*, 2018; MIRONDO; BARRINGER, 2015).

Nos últimos anos o mercado deste setor vem ganhando evidência, com uma estimativa no valor de 200 milhões de dólares no Brasil, além de gerar cerca de 300 mil empregos diretos (ABCSEM, 2019; TREICHEL, 2016). Desse modo, garantindo rentabilidade aos médios e pequenos agricultores (ALVARENGA, 2013).

Amplamente cultivada em todo mundo, em 2020 o tomateiro obteve uma produção mundial de aproximadamente 187 milhões de toneladas de frutos, em uma área de 5 milhões de hectares. Entre os principais países produtores, encontra a China, liderando o ranking, com cerca de 38 milhões de toneladas, seguido pelos Estados Unidos, com 13 milhões de toneladas e pela Índia, com 12 milhões de toneladas. Nesta classificação, o Brasil ocupa a nona posição, com 3,6 milhões de toneladas de frutos (FAOSTAT, 2022).

Na safra de 2020, foi cultivada uma área estimada de 56 mil hectares desta hortaliça, sendo a região do Sudeste, responsável pela maior participação na produção, com 1,8 milhão de toneladas, em segundo lugar o Centro-Oeste com 1,1 milhão de toneladas e em terceiro o Nordeste, com 497 mil toneladas de frutos. Os estados que obtiveram maior produção nacional, destaca-se Goiás, São Paulo e Minas Gerais, atingindo 1,1 milhão de toneladas, 1 milhão de toneladas e 518 mil toneladas de frutos, respectivamente (IBGE, 2021).

### 3.2 ASPECTOS BOTÂNICOS

Pertencente a família das solanáceas, o tomateiro é uma planta considerada semiperene, entretanto, cultivada anualmente, dependendo do clima da região (ALVARENGA, 2013). Morfologicamente apresenta caule flexível com diversas ramificações laterais, assim pode ser classificado como herbáceo-arbustivo, de crescimento ereto, semiereto ou até mesmo rasteiro (ALVARENGA, 2013; FILGUEIRA, 2013).

O hábito de crescimento é relacionado com a existência ou não de dominância apical, podendo ser de crescimento indeterminado e determinado (ALVARENGA, 2013). De acordo com Magaña *et al.* (2013), quando há perda de dominância o broto vegetativo axilar continua crescendo e substitui a função deste.

As folhas do tomateiro são dispostas na planta em pares, opostas e alternadas na maioria das espécies, as flores são compostas por pétalas, sépalas, estames e estigmas, seus frutos são bagas variando a coloração de vermelha a amarela, quando há presença de carotenoides ou verdes a roxas quando há presença de antocianina (MAGAÑA *et al.*, 2013; PERALTA, 2008).

### 3.3 TOMATEIROS SILVESTRES

São reconhecidas e identificadas 12 espécies silvestres, nativas da região Andina e da Ilha de Galápagos, como *S. pimpinellifolium* L., *S. cheesmaniae* (Riley) Fosberg, *S. galapagense* S. Darwin & Peralta, *S. pennelli* Correl, *S. habrochaites* S. Knapp & D. N Spooner, *S. huayalasanse*, *S. chilense* (Dunal) Reiche, *S. arcanum*, *S. peruvianum*, *S. neorickii*, *S. corneliomulleri* (PERALTA, 2008).

Os frutos destes possuem formatos achatados, redondos e a coloração modifica conforme a espécie (PERALTA, 2008). Desse modo, são inviáveis para a comercialização, mas promissoras no melhoramento genético na transferência de genes, que podem conferir resistência a pragas, melhorar a capacidade produtiva e a adaptação a estresses bióticos e abióticos (ROCHA *et al.*, 2010; RESENDE *et al.*, 2009).

De acordo com Freitas *et al.* (2002), acessos silvestres são altamente eficazes na resistência a artrópodes-pragas. Estes acessos produzem substâncias que conferem essa característica de resistência, por meio de tricomas glandulares como, acilaçúcares em *S. pennellii* e zingibereno em *S. habrochaites* var. *hirsutum* (GOMES *et al.*, 2017; LUCINI *et al.*, 2015).

De acordo com Baier *et al.* (2015) e Maluf *et al.* (2010), estes genes oriundos de espécies silvestres podem ser facilmente inseridos em tomateiros cultivados, possuindo alta herdabilidade, permitindo maiores chances de ganhos de seleção quando utilizados nos programas de melhoramento genético. Santos *et al.* (2020), também confirmaram a possibilidade de usar acessos selvagens com fontes de genes para obter híbridos com alta resistência às pragas.

### 3.4 TOMATEIRO PARA PROCESSAMENTO INDUSTRIAL

No Brasil, o tomate cultivado para finalidade industrial teve seu início no estado de Pernambuco no século XX, posteriormente avançando para o estado de São Paulo com a criação de agroindústrias e se expandindo após a década de 90 para região Centro-Oeste (SILVA JUNIOR *et al.*, 2015).

Para esse setor utiliza-se cultivares de hábito de crescimento determinado, que facilitam a colheita mecanizada, visto que possuem maturação concentrada de frutos e porte de planta menor, quando comparado ao indeterminado. Geralmente o ciclo de cultivo varia entre 95 a 125 dias, sendo os frutos colhidos com auxílio de colhedoras automotrizes (LUZ *et al.*, 2016; ALVARENGA, 2012).

Estratégias foram aplicadas a fim de aumentar a qualidade e produtividade dos frutos, visto que este segmento demanda volume significativos de produção. O uso de irrigação, relevos favoráveis para o plantio e o desenvolvimento de híbridos por meio do melhoramento genético, visando maior adaptabilidade e estabilidade fenotípica, bem como resistência as principais pragas e doenças, vem permitindo maior rentabilidade ao produtor (PEIXOTO *et al.*, 2017; SILVA JUNIOR *et al.*, 2015).

### 3.5 ARTRÓPODES-PRAGA DO TOMATEIRO

#### 3.5.1 Ácaro rajado – *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

Ataques de pragas no tomateiro podem reduzir produtividade, causando danos consideráveis, além de modificar o desenvolvimento vegetativo ou reprodutivo da cultura (MOURA *et al.*, 2014).

Entre as principais pragas que atacam o tomateiro, o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch pode causar prejuízos, principalmente em ambiente protegido, visto

que altas temperaturas, maiores que 30°C, e baixa umidade, menores que 60%, são condições ideais para o desenvolvimento deste artrópode (BERNARDI *et al.*, 2015; MOURA, 2015). O seu ciclo biológico pode ser completado passando pelas fases de ovo, larva, proninfa, deutoninfa e adulto em até sete dias, em função da temperatura (BERNARDI *et al.*, 2015).

As fêmeas são ovaladas e apresentam em seu dorso manchas verde-escuras, diferindo dos machos, que possuem opistossoma mais afilado. Elas podem depositar nas superfícies foliares até 170 ovos, que possuem formato esférico e coloração amarelada. Além disso, as fêmeas possuem capacidade de, mesmo não fertilizadas, dar origem a novos indivíduos, chamado de partenogênese, gerando novas populações, obtendo rápido crescimento, o que dificulta ainda mais seu controle (BERNARDI *et al.*, 2015; MOURA, 2015; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Caracterizados por ser um dos ácaros fitófagos mais importantes no mundo, é considerada uma espécie polífaga, possui abrangência a diversos hospedeiros, mais de 1.100 espécies vegetais, referente a mais de 140 famílias (BERNARDI *et al.*, 2015; GRBIC *et al.*, 2011; MORAES; FLECHTMANN, 2008). No Brasil, os primeiros relatos da infestação foram em marmeleiro, girassol, batata-doce, solanáceas e brássicas nas regiões nordeste, sudeste e sul do Brasil (FLECHTMANN; BAKER, 1970).

Geralmente, possuem preferência para se alimentar em plantas jovens, mas podendo ocorrer em qualquer estágio da cultura, se desenvolvendo na superfície abaxial das folhas e produzindo teias para abrigo e proteção (GOMES *et al.*, 2017; MOURA *et al.*, 2014; MECK; KENNEDY; WALGENBACH, 2013). Estas teias também possuem a função de dispersão quando produzidas nas folhas mais altas do dossel da planta, por meio do vento o ácaro é carregado, podendo atingir longas distâncias (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Esta praga se alimenta do conteúdo foliar, causando manchas amarelas-esverdeadas até necróticas e acarretando o desfolhamento, também pode causar danos nos frutos, diminuindo seu tamanho e ocasionando a maturação precoce, o que favorece para a redução do rendimento produtivo (GOMES *et al.*, 2017; MECK; KENNEDY; WALGENBACH, 2013).

Apesar do controle biológico com ácaros predadores ser cada vez mais crescente, o método mais utilizado para o controle é o químico. Porém, com aplicações excessivas e incorretas, estão sendo selecionados indivíduos resistentes a esses acaricidas, obtendo baixa eficácia no controle (SANTOS *et al.*, 2020; GRBIC *et al.*, 2011).

### 3.6 MELHORAMENTO DO TOMATEIRO VISANDO RESISTÊNCIA A PRAGAS

O tomateiro pode ser considerado uma das espécies mais susceptíveis a artrópodes-pragas, devido aos processos de criação e domesticação que tornou a base genética estreita (VILLAND *et al.*, 1998). Desse modo, o melhoramento genético é considerado importante aliado para o controle destas pragas, promovendo o desenvolvimento de cultivares resistentes, com a introgressão de genes de espécies silvestres em genótipos comerciais (OLIVEIRA *et al.*, 2018, LIMA *et al.*, 2016).

Espécies selvagens de tomateiro possuem resistência aos principais artrópodes-praga (MACIEL *et al.*, 2018; GOMES *et al.*, 2017; MALUF *et al.*, 2010; RESENDE *et al.*, 2009; FREITAS *et al.*, 2002). Alguns exemplos são *Solanum pennellii* e *Solanum habrochaites* var. *hirsutum*, os quais possuem tricomas glandulares nas folhas, que exsudam aleloquímicos, conferindo resistência às pragas (RESENDE *et al.*, 2020; GOMES *et al.*, 2017).

Entre os aleloquímicos que podem ser encontrados nos tomateiros silvestres, pode-se citar os acilaçúcares em *S. pennellii* LA-716 e zingibereno em *S. habrochaites* var. *hirsutum* (LUCINI *et al.*, 2015). Estas substâncias tornam as plantas menos danificadas ou preferidas pelas pragas, dificultando a sobrevivência destas, promovendo alterações na biologia e desenvolvimento (LUCINI *et al.*, 2015; RESENDE *et al.*, 2009).

De acordo com Fancelli *et al.* (2005), os mecanismos das plantas associados a resistências estão inseridos em três condições, antibiose, antixenose (ou não preferência) e tolerância. As substâncias que conferem a resistência a pragas, geralmente estão incluídas no grupo antibiose, quando causam alterações no desenvolvimento do artrópode-praga e no grupo antixenose, quando repelem essas pragas dificultando a alimentação, instalação e oviposição (BOIÇA JÚNIOR, 2012).

Desse modo, programas de melhoramento buscando genótipos com altos teores destas substâncias estão em progresso contínuo, a fim de adquirir por meio de cruzamentos interespecíficos, linhagens que possam ser utilizadas na obtenção de híbridos (RESENDE *et al.*, 2009).

### 3.7 *SOLANUM PENNELLII* LA -716

O *Solanum pennellii*, é uma espécie silvestre que foi encontrada pela primeira vez em desertos na encosta da andina ocidental do Peru ao Chile, onde possui um clima extremamente seco e com altitudes variáveis (PERALTA, 2008).

O gênero *Solanum*, possui oito tipos de tricomas foliares, podendo atingir até 30% do peso seco das folhas, sendo quatro do tipo não glandular (II, III, V e VIII), e quatro glandulares (I, IV, VI e VII), estes últimos são considerados excelentes repelentes naturais, capazes de prender insetos, inibir a alimentação ou reprodução de pragas (LIU *et al.*, 2019; PERALTA, 2008; LUCKWILL, 1943). De acordo com Liu *et al.* (2019), os tricomas são capazes de produzir, armazenar, secretar químicos naturais, incluindo diversos tipos de terpenoides, fenólicos e glicerídeos. Estes exercem função tóxica em herbívoros, auxiliando na defesa das plantas contra os ataques. O *S. pennelli* apresenta tricomas glandulares, principalmente do tipo IV, que possuem glândulas unicelulares com formatos ovóides em sua base, produzindo um exsudado pegajoso (PERALTA, 2008) denominado de açilaçúcares.

Segundo Lucini *et al.* (2015), os tricomas glandulares do tipo IV, são responsáveis por liberar aleloquímicos que repelem pragas, principalmente acilaçúcares. Os acilaçúcares (AAs), são ésteres de glicose com grupos acilas, conhecido em acessos de *S. pennellii* LA -716 por conferir a resistência aos ataques de artrópodes-pragas (LUCINI *et al.*, 2015; RESENDE *et al.*, 2008).

Maciel *et al.* (2018), comprovaram que em genótipos de tomateiro com alto teor de acilaçúcares, o deslocamento do ácaro foi reduzido ou completamente paralisado. Os teores contrastantes dos aleloquímicos nas folhas influenciam no controle de pragas, obtendo diversos níveis de resistência (BAIER *et al.*, 2015).

Lucini *et al.* (2015), observaram em seus estudos que os acilaçúcares conferiram resistência do tipo antibiose, reduzindo a oviposição de *T. urticae* e alterando o seu comportamento e biologia, sendo que as fêmeas após colocarem seus ovos nos discos foliares com alto teor de AAs morriam, comprovando a eficiência deste aleloquímico.

Resende *et al.* (2008), observaram também relações entre o teor de acilaçúcar e a resistência ao ácaro, inferindo ser responsável, o mecanismo do tipo antixenose, ou seja, não preferência para alimentação e oviposição, em genótipos provenientes do cruzamento interespecífico de *S. lycopersicum* e *S. pennellii*.

Avaliando genótipos oriundos da seleção F<sub>2</sub> Resende *et al.* (2020), relataram também a presença de mecanismos de resistência por antixenose e antibiose, na presença de altos teores do aleloquímico acilaçúcar nas folhas de tomateiro.

Santos *et al.* (2020), constataram que a transferência de genes de espécies silvestres com alto teores de acilaçúcares para espécies cultivadas são eficientes para encontrar materiais promissores para programas de melhoramento genético, visando obter cultivares resistentes aos principais artrópodes-pragas da cultura do tomateiro.

### 3.8 *SOLANUM GALAPAGENSE* LA -1401

*Solanum galapagense*, recentemente separado da espécie *Solanum cheesmaniae*, possui origem das Ilhas de Galápagos, um arquipélago vulcânico do Oceano Pacífico localizado aproximadamente 1000 km da costa da América do Sul, e apresenta capacidade de desenvolvimento em águas salgadas (STRICKLER *et al.*, 2015; GEIST, 1996; TAYLOR, 1986). Com alto teor de acilaçúcar em suas folhas e tricomas, conferindo resistência a pragas, esta espécie é comumente utilizada também em programas de melhoramento genético na transferência de genes para a espécie comercial (*S. lycopersicum*), por meio de cruzamentos interespecíficos (SILVA *et al.*, 2016).

Lucatti *et al.* (2013), encontraram em diversos acessos de *S. galapagense* resistência a mosca-branca e que foram associados com a presença de tricomas glandulares, especialmente do tipo IV com altos teores de acilaçúcares. De acordo com Firdaus *et al.* (2013), esse tipo de tricomas são os principais que possuem correlação com a resistência a pragas.

Trabalhos como de Andrade *et al.* (2017), demonstram que os genótipos obtidos por meio do cruzamento interespecífico entre o acesso LA-1401 e *S. lycopersicum*, apresentam diferentes densidades de tricomas glandulares nas folhas, e concluíram que as densidades desses tricomas também possuem relação com resistência a pragas.

Vosman *et al.* (2019), relatam que o mecanismo de resistência encontrado em *S. galapagense*, por meio de tricomas, prejudicam a alimentação de diversos insetos, e por consequência, podem ser eficientes no controle. Além disso, segundo os estudos de Mahmoud *et al.* (1986) a espécie também possui tolerância a salinidade. Por isso, torna-se importante o uso de espécies silvestres para introgressão dos genes nas plantas comerciais e assim obter materiais promissores (DIAS *et al.*, 2013).

### 3.9 SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES

Técnicas biotecnológicas são inseridas para a obtenção de cultivares superiores, como por exemplo, a introgressão de genes de resistência. Desse modo, é necessário o reconhecimento do germoplasma com as características morfológicas, moleculares e agronômicas (ALMEIDA *et al.*, 2016).

Marcadores moleculares são utilizados por melhoristas para esta finalidade, inclusive na cultura do tomateiro. São utilizadas técnicas de PCR simples em géis de agarose, em que seu uso melhora a eficiência da seleção, comparado com a seleção fenotípica (ALMEIDA *et al.*, 2016).

Os marcadores são inseridos em dois grupos, um relacionado com hibridação e outro relacionado com a amplificação do DNA, utilizando técnicas do PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (*Polymerase Chain Reaction*), este último sendo constituído pelos marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), SSR (*Single Sequence Repeat*) (AGUILERA *et al.*, 2011).

O uso dos marcadores ISSR é recomendado, pois os resultados são obtidos por eletroforese, sendo eficazes, rápidos e com menor custo (RODRIGUES *et al.*, 2010). O uso de marcadores moleculares em seleção assistida, promove ganhos no processo, pois permite selecionar dentro da população segregante, genótipos com background comerciais, acelerando assim o programa de melhoramento (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

## 4 ARTIGO A: Seleção de genótipos avançados de tomateiro por meio de marcadores moleculares para teores elevados de acilaçúcares

### 4.1 RESUMO

Programas de melhoramento genético buscam alternativas eficazes para melhorar o rendimento da cultura do tomateiro e a qualidade do produto final, por meio de introgressão de genes de resistência de espécies silvestres em genótipos comerciais. Tricomas glandulares presentes no acesso silvestre *S. pennellii* LA-716 exsudam o aleloquímico acilaçúcar, capaz de inferir mecanismos de resistência contra os principais artrópodes-pragas da cultura. Para a transferência desta característica, por meio de retrocruzamentos, técnicas biotecnológicas, como o uso de seleção assistida por marcadores moleculares, podem ser utilizadas para distinguir de forma rápida genótipos com maior similaridade com o parental recorrente. Nesse sentido, esta pesquisa visa selecionar genótipos avançados, com altos teores de acilaçúcares e com maior similaridade com o parental comercial, por meio de marcadores moleculares Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). Para isso, foram selecionados genótipos (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> e F<sub>2</sub> ([M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]) com teores contrastantes de acilaçúcares, juntamente com os parentais ‘Redenção’, M-08 e *S. Pennelli*. Foi realizada análise molecular para similaridade genética e para ganhos de seleção foi utilizada a análise assistida por marcadores moleculares, utilizando 10 primers ISSR, para obtenção de genótipos com maior similaridade com o comercial. Mediante a determinação de acilaçúcares nos folíolos nos genótipos avançados, foram selecionados trinta e quatro genótipos com alto teor de acilaçúcar, além do parental silvestre e dez com baixo teor do aleloquímico, além dos parentais ‘Redenção’ e M-08. Os marcadores moleculares ISSR foram efetivos e altamente polimórficos, identificaram entre os genótipos avançados selecionados para alto teor de acilaçúcar os materiais com as maiores similaridades com o parental ‘Redenção’ e linhagem M-08. Estes genótipos constituem, portanto, potenciais doadores de pólen para a próxima geração de retrocruzamento.

Palavras-chave: *Solanum Pennellii*. *Solanum lycopersicum*. Variabilidade genética. ISSR. Caracterização molecular.

### 4.2 ABSTRACT

Genetic improvement programs seek effective alternatives to improve tomato crop yield and final product quality, through introgression of resistance genes from wild species into commercial genotypes. Glandular trichomes present in the wild accession *S. Pennellii* LA-716 exude the allelochemical acylsugar, capable of infer resistance mechanisms against the main arthropod-pests of the crop. For transferring this characteristic through backcrosses, biotechnological techniques, such as the use of selection assisted by molecular markers, can be used to quickly distinguish genotypes with greater similarity to the recurrent parent. In this sense, this research aims to select advanced genotypes, with high levels of acylsugars and with greater similarity to the commercial parent, using molecular markers Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). For this, genotypes (F<sub>2</sub>BC<sub>4</sub> and F<sub>2</sub> ([M-08 × F<sub>2</sub>BC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]) with contrasting levels of acylsugars were selected, along with the parents

'Redenção', M-08 and *S. Pennellii*. Molecular analysis was performed for genetic similarity and for selection gains, molecular marker-assisted analysis was used, using 10 ISSR primers, to obtain genotypes with better similarity to the commercial one. Through the determination of acylsugars in the leaflets in the advanced genotypes, thirty-four genotypes with high acylsugar content were selected, in addition to the wild parental and ten with low allelochemical content, in addition to the parental 'Redenção' and M-08. The ISSR molecular markers were effective and highly polymorphic, identified among the advanced genotypes selected for high acylsugar content the materials with the greatest similarities with the parental 'Redenção' and M-08 lineage. Then, these genotypes are possible next backcrossgeneration pollen donors.

**Key Words:** *Solanum Pennellii*. *Solanum lycopersicum*. Genetic variation. ISSR. Molecular characterization.

#### 4.3 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a demanda por alimentos mais saudáveis tem aumentado pela população, assim o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), tornou-se uma das principais culturas produzidas e consumidas no Mundo. Rico em antioxidantes, vitaminas, compostos fenólicos e flavonoides presentes em sua composição, auxiliam no combate de certas doenças crônicas, como as cardiovasculares (HEFFERON, 2016; RIAHI AND HDIDER, 2013).

De acordo com a Faostat (2022), a produção mundial de 2020 foi de 187 milhões de toneladas em uma área de 5 milhões de hectares. Diante deste cenário, programas de melhoramento genético buscam alternativas rápidas e eficazes para melhorar o rendimento da cultura e a qualidade do produto final, a fim de satisfazer o consumidor e produtor.

A introgressão de genes de resistência de espécies silvestres de tomateiro em genótipos comerciais tem sido utilizada em programas de melhoramento para essa finalidade (MAHFOUZE; MAHFOUZE, 2021; ZANIN *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Estudos realizados com o acesso *Solanum pennellii* LA-716, mostraram que os tricomas glandulares presentes em seus folíolos, especialmente do tipo IV, exsudam o aleloquímico acilaçúcar, que são capazes de ativar mecanismos de resistência dos tipos antixenose e antibiose contra os principais artrópodes-pragas da cultura (DIAS *et al.*, 2019; GOMES *et al.*, 2017; LUCINI *et al.*, 2015; MALUF *et al.*, 2010).

Para a transferência destas características por meio de retrocruzamentos, técnicas biotecnológicas podem ser empregadas para facilitar o processo de seleção de materiais elites, como o uso de seleção assistida por marcadores moleculares, que permitem distinguir de forma rápida genótipos com maior similaridade com o parental recorrente entre e

dentro de espécies de plantas (HENAREH; ABDOLLAHI, 2016). Os marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) consistem na amplificação do segmento de DNA, utilizando a técnica denominada PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (AGUILERA *et al.*, 2011).

Os marcadores ISSR são recomendados para estudar a diversidade genética, pois são simples, rápidos, possuem baixo custo comparado a outros marcadores e não utilizam materiais radioativos (BRAKE *et al.*, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2010). Al-Shaal; Murshed; Albiski (2021), em seus estudos concluíram que os ISSR com a utilização de primers são eficientes para distinção de genótipos e espécies selvagens ao nível genético, com a possibilidade de relacionar a caracterização morfológica destes. Kiani e Siahchereh (2018), utilizando também estes marcadores encontraram pais apropriados para hibridação de tomate, permitindo avançar no programa de melhoramento genético.

Neste contexto, objetiva-se selecionar genótipos avançados, com altos teores de açúcares e com maior similaridade com o parental comercial, por meio de marcadores moleculares ISSR.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

##### 4.4.1 Local de Realização

Os experimentos foram realizados na Universidade Estadual de Londrina, UEL (latitude 23°11'S, longitude 51°11'O e altitude de 576 m) e na Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, UNICENTRO, Guarapuava, Brasil (25° 23'01"S, 51° 29'46" O, 1.030 m).

As determinações dos teores de açúcares presentes nos folíolos dos genótipos de tomateiro foram realizadas no Laboratório de Horticultura (LABHOR) na Universidade Estadual de Londrina (UEL), e para as análises moleculares foram realizadas nas dependências do Laboratório de Genética e Molecular (DNALab) da UNICENTRO localizado no AMBIOTEC – Centro de Pesquisas Avançadas Ambientais, Bioenergéticas e Biotecnológicas da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

##### 4.4.2 Obtenção dos Genótipos Avançados de Tomateiro e Cultivo das Plantas

Genótipos F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub> derivadas do cruzamento entre *S. lycopersicum* cv. Redenção e *S. pennelli* LA-716 (RVTA-2010-31-177-39-pl#230; RVTA-2010-31-319-214-

pl#238; RVTA-2010-31-177-177-pl#325) selecionados para altos teores de acilaçúcares e resistência a artrópodes-pragas por Lima Filho (2019), definidas como doadores de pólen, foram utilizadas em retrocruzamento para o pai recorrente, cv. Redenção (desenvolvida pelo Instituto Agrônômico de Pernambuco para o processamento industrial, de hábito de crescimento determinado, e resistente a tospovírus, geminivírus e nematoides das galhas (FERRAZ *et al.*, 2003) e para segunda geração Linhagem M-08 (possui características de tomates do grupo salada, baixos teores de aleloquímicos, pertencente ao banco de germoplasma da UEL).

As sementes da população F<sub>2</sub> ([M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*] e F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>, foram obtidas a partir da autofecundação da geração F<sub>1</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>4</sub>. Para isso, cinco plantas de cada genótipo, oriundas de cada cruzamento, de alto teor de acilaçúcar foram mantidas em casa de vegetação.

As sementes da F<sub>2</sub> e F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> foram semeadas em bandejas de poliestireno de 128 células, preenchidas com substrato comercial. Quinhentas plantas (100 de cada cruzamento) e 20 plantas de cada genitor (LA-716, ‘Redenção’ e M-08) foram transplantadas em vasos com capacidade de 2,5 dm<sup>3</sup>, preenchidos com substrato comercial, e mantidas em casa de vegetação, a 25 ± 3 °C, umidade relativa de 80 ± 3% e fotofase de 12 h.

#### 4.4.3 Determinação dos Teores de Acilaçúcares

Os teores de acilaçúcares foram determinados em base da metodologia proposta por Resende *et al.* (2002). Após 45 dias do transplante, seis discos foliares foram coletados de folíolos jovens e expandidos, situados no terço superior da planta, com auxílio de um vazador de 3/8” de diâmetro, totalizando 4,21 cm<sup>2</sup> de área foliar, que foram acondicionados em tubo de ensaio. A extração dos acilaçúcares, ocorreu mediante adição de 1 mL de diclorometano, seguida de agitação em agitador tipo vórtex (30 segundos) e retirada dos discos foliares. Após a evaporação do reagente, foi adicionado 0,5 mL de hidróxido de sódio, dissolvido em metanol. A solução obtida foi colocada em banho-maria a 100 °C para evaporação do solvente. Em seguida, se adicionou 1,0 mL de metanol e colocado novamente em banho-maria para evaporação. Após a evaporação total do metanol, o resíduo foi dissolvido em 0,5 mL de água, e adicionado 0,1 mL de ácido clorídrico 0,04 N, seguido de aquecimento em banho maria por cinco minutos. Foi adicionado 0,5 mL do reagente Somogy-Nelson (reagente A + reagente B; 25:1), aquecido por 10 minutos e resfriado em

água corrente. Ao fim foi adicionado 0,5 mL de arsenomolibdato para a reação colorimétrica do açúcar redutor, e agitadas por 15 segundos em agitador tipo vórtex.

Após a reação as amostras foram submetidas a leitura de absorbância em espectrofotômetro (UV-VIS Cary 100), no comprimento de onda de 540 nm (Nelson, 1944). As concentrações de acilaçúcares são diretamente proporcionais a absorbância, desta forma, as amostras com maiores valores de absorbância possuem maiores teores do aleloquímico. Esse mesmo procedimento foi realizado em triplicata para todas as plantas.

#### 4.4.4 Análise Molecular

Amostras de tecido foliar foram obtidas dos genótipos selecionados para altos teores de acilaçúcares, além dos parentais, para extração do DNA para análise de similaridade genética. Estas foram encaminhadas para análise ao Laboratório de Genética e Molecular (DNALab) da UNICENTRO.

Para extração do DNA foi realizado a coleta de folíolos jovens da região apical da planta, os quais foram armazenados individualmente envolvidos em sílica-gel, para fins de conservação, e envelopes plásticos com fechos. A extração do DNA do material vegetal foi realizada seguindo a metodologia proposta por Sharma, Mishra e Misra (2008). Primeiramente foi realizada a trituração do material vegetal com a utilização de amofariz e pistilo na presença de nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) e separado em microtubo de 100 mg de tecido e mantidos a -20 °C até a extração. O DNA de cada genótipo foi extraído por precipitação utilizando um tampão de extração contendo 20 mM EDTA, 0,1M Tris-HCL (pH 8,0), 2,0M NaCl, 2% CTAB, 2% PVP e 2,0% β-mercaptoethanol). No microtubo contendo 100 mg de tecido foi adicionado 1 mL de tampão, e incubado em banho maria a 65 °C por 30 minutos. Posteriormente, o DNA passou pelo processo de separação por meio da precipitação com fenol: clorofórmio: álcool isoamílico (25:24:1) e centrifugação. Em seguida, foi precipitado com e PEG (*Polyethylene Glycol*) e passou por diversas lavagens em etanol, para alcançar um alto nível de pureza. Ao final da extração o DNA foi ressuspensão em TE (10mM Tris-HCl; pH 8,0; 1mM EDTA), tratado com RNase (10 mg/mL) a 37 °C por 30 min, e armazenado a -20 °C.

A quantificação e confirmação da integridade do DNA foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1,8% corados com brometo de etídio, utilizando como padrão quantidades conhecidas do DNA do fago λ (50; 100; 200 e 400 ng). Após quantificação o DNA foi armazenado a -20 °C até o momento do uso.

#### 4.4.5 PCR-ISSR

O DNA de cada genótipo foi amplificado pela PCR utilizando 10 primers ISSR (Tabela 1). A reação de amplificação para cada genótipo foi preparada utilizando 20 ng de DNA genômico, 0,5 µM de primer, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de cada dNTP, 1 unidade de Taq DNA Polimerase, 1,5 µl de tampão para PCR 1x, e água para completar o volume final de 12,5 µl. Para amplificação o termociclador foi programado para uma desnaturação inicial do DNA a 94 °C por 5 minutos, seguidos de 35 ciclos a 94 °C por 45 segundos, temperatura de pareamento (TP) de cada um dos primers conforme Tabela 1, por 45 segundos e 72° C por 90 segundos. Ao término dos 35 ciclos, foi realizado um passo a 72 °C por 5 minutos para extensão final dos fragmentos.

Os produtos da amplificação via PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,8%, corado com brometo de etídio (0,5 µg mL<sup>-1</sup>), submetido a uma corrente constante de 110V durante 4 horas e visualizados sob luz UV - Ultravioleta. O marcador DNA Ladder 100 pb foi usado como padrão de pares de bases para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados. Os géis foram fotodocumentados com sistema digital.

**Tabela 1** – Primers ISSR (*inter-simple sequence repeat*) utilizados neste estudo com suas sequência e temperatura de pareamento PA (°C).

<i>Primer</i>	<i>Sequência* (5'-3')</i>	<i>TP ( °C)</i>
UBC807	(AG)8T	52°
UBC808	(AG)8C	50°
UBC809	(AG)8G	55°
UBC810	(GA)8T	52°
UBC811	(GA)8C	52°
UBC815	(CT)8G	52°
UBC827	(AC)8G	53°
UBC835	(AG)8YC	52°
UBC836	(AG)8YA	53°
UBC848	(CA)8AGG	55°

\* Y = (C,T). Fonte: o próprio autor.

#### 4.4.6 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos às análises de normalidade e homogeneidade de variâncias, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Hartley, respectivamente. Subsequentemente, se realizaram a análise de variância e o teste F ( $P \leq 0,05$ ). Quando este foi

significativo, as médias foram agrupadas por meio do teste de Scott-Knott, com 5% de significância, com uso do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

As imagens obtidas dos géis de eletroforese foram avaliadas visualmente, por meio da contagem do número de bandas polimórficas, gerando uma matriz binária, sendo observada a presença (1) ou ausência (0). Com a matriz formada foi realizada análise de similaridade entre os genótipos avaliados com ‘Redenção’, M-08 e *S. pennellii* LA-716, estimada pelo coeficiente de Jaccard utilizando o software NTSYS 2.2. Foram realizadas análises de componentes principais, utilizando o software estatístico R 4.1.1 (R CORE TEAM, 2021).

## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.5.1 Obtenção dos Genótipos

A partir da análise em laboratório foi possível determinar o teor de acilaçúcar presente nos folíolos dos diferentes genótipos avançados de tomateiro. Foram definidos como genótipos de alto teor de acilaçúcar os que possuem absorvância média superior a 0,400. Na população, F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>, foram selecionados treze genótipos considerados de alto teor e cinco genótipos de baixo teor para finalidade de comparação. Já para a população F<sub>2</sub> [(M-08 x F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* x *S. lycopersicum*], foram selecionados 21 genótipos considerados de alto teor e cinco genótipos de baixo de teor de acilaçúcar (Tabela 2).

Os valores médios de absorvância encontrados para *S. pennellii* LA-716 foram superiores em relação aos demais tratamentos (0,722), pertencendo ao grupo de altos teores de acilaçúcares. Diversos estudos confirmam que essa espécie silvestre apresenta altos teores do aleloquímico (DIAS *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2016; LUCINI *et al.*, 2015; RESENDE *et al.*, 2008).

Os demais genitores, ‘Redenção’ e M-08, obtiveram absorvância média de 0,239 e 0,217, respectivamente (Tabela 2), pertencendo ao grupo de baixos teores de acilçúcares. De acordo com (RESENDE *et al.*, 2021), os tricomas glandulares são os principais responsáveis por exsudar metabólitos, e como o tomate cultivado (*S. lycopersicum* L.) não possui altas densidades desses tricomas (VENDEMIATTI *et al.*, 2017), por consequência, apresenta baixos teores de aleloquímicos, como observado nesse trabalho.

Os genótipos classificados como ricos em acilaçúcares não diferiram entre si, porém se diferenciaram dos materiais classificados como baixo teor de acilaçúcar. Para os

genótipos de baixo teor, não houve diferença significativa entre si nem mesmo quando comparados à 'Redenção' e M-08 (Tabela 2).

Entre os genótipos avançados de tomateiro selecionados para alto teor, o material RVTA-493M (H) obteve a maior média de absorbância encontrada (0,649) e para os considerados do grupo de baixo teor de acilaçúcar, o genótipo RVTA-187R (L), obteve o menor valor de absorbância média encontrada (0,136) (Tabela 2). Oliveira *et al.* (2020) trabalhando com níveis contrastantes de aleloquímicos nos folíolos de genótipos avançados, identificaram materiais promissores para o prosseguimento do programa de melhoramento genético.

**Tabela 2** – Nomenclatura, genealogia, e diferentes teores de acilaçúcares (absorbância<sup>1</sup>) dos genótipos utilizados no trabalho. Londrina-PR, UEL, 2021. AS: Teor de acilaçúcar; R: Retrocruzados com ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	Dados do Genótipo	AS
LA - 716 (H)	<i>S. pennellii</i> LA-716	0,722 a
RVTA - 493M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#493M	0,649 a
RVTA - 519M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#519M	0,623 a
RVTA - 53R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#53R	0,584 a
RVTA - 485M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#485M	0,584 a
RVTA - 520M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#520M	0,583 a
RVTA - 44R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#44R	0,575 a
RVTA - 408M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#408M	0,575 a
RVTA - 462M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#462M	0,571 a
RVTA - 221M (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#221M	0,570 a
RVTA - 403M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#403M	0,569 a
RVTA - 381M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#381M	0,568 a
RVTA - 404M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#404M	0,566 a
RVTA - 406M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#406M	0,564 a
RVTA - 423M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#423M	0,563 a
RVTA - 3R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#3R	0,560 a
RVTA - 483M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#483M	0,553 a
RVTA - 148R (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#148R	0,553 a
RVTA - 456M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#456M	0,552 a
RVTA - 437M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#437M	0,552 a
RVTA - 429M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#429M	0,552 a
RVTA - 501M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#501M	0,550 a
RVTA - 427M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#427M	0,547 a
RVTA - 442M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#442M	0,536 a
RVTA - 246M (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#246M	0,525 a
RVTA - 46R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#46R	0,522 a
RVTA - 42R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#42R	0,510 a
RVTA - 36R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#36R	0,501 a
RVTA - 08R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#08R	0,490 a
RVTA - 14R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#14R	0,461 a
RVTA - 455M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#455M	0,460 a
RVTA - 114R (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#114R	0,458 a
RVTA - 17R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#17R	0,446 a
RVTA-118R (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#118R	0,444 a
RVTA - 113R (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#113R	0,442 a
RVTA - 279M (L)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#279M	0,285 b
RVTA - 358M (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#358M	0,276 b
RVTA - 374M (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#374M	0,272 b
RVTA - 344M (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#344M	0,251 b
Redenção (L)	cv. Redenção	0,239 b
RVTA - 281M (L)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#281M	0,236 b
RVTA - 190R (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#190R	0,226 b
RVTA - 178R (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#178R	0,225 b
M- 08 (L)	Linhagem M-08	0,217 b
RVTA - 58R (L)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#58R	0,215 b
RVTA - 85R (L)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#85R	0,201 b
RVTA - 187R (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#187R	0,136 b
CV(%)		53,820
p-value		p<0.05

Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. <sup>1</sup> Valores médios de absorbância em 540 nm. Fonte: o próprio autor.

#### 4.5.2 Análise de similaridade genética

Em todos os genótipos foram avaliados 10 primers ISSR (*inter-simple sequence repeat*) (Tabela 1). Nos genótipos oriundos do cruzamento entre ‘Redenção’ e o genótipo RVTA-325 (H), o *primer* UBC815 não apresentou amplificação. Nos genótipos deste cruzamento os nove primers ISSR amplificaram 89 fragmentos e destes, 83,14% foram polimórficos e utilizados nas análises. Segundo Hoffman e Barroso (2006), quanto maior o grau de polimorfismo do marcador molecular melhor a eficácia e confiabilidade dos resultados, pois com a maior segregação mais bandas serão observadas, permitindo agrupar genótipos de acordo com a similaridade.

A similaridade genética entre os genótipos deste cruzamento variou de 5% a 74% (Tabela 3). Os genótipos RVTA-08R (H) e RVTA-44R (H) apresentaram a maior similaridade genética (59%) com a cultivar Redenção e o genótipo RVTA-85R (L) apresentou a menor similaridade, com apenas 10%. De acordo com Kiani e Siahchereh (2018); Martins *et al.* (2011) os marcadores moleculares permitem, em menor tempo, diferenciar os genótipos por meio de coeficientes de similaridade, facilitando o processo de seleção e os avanços no programa de melhoramento genético, principalmente em retrocruzamentos.

**Tabela 3** – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre ‘Redenção’ e RVTA-325 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR). SP: *Solanum pennellii* LA-716; Red: *Solanum lycopersicum* (cv. Redenção); R: Retrocruzados com ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	SP	Red	#325	#3	#8	#14	#17	#36	#42	#44	#46	#53	#58
Redenção (L)	0,40												
RVTA - 325 (H)	0,39	0,38											
RVTA - 3R (H)	0,44	0,58	0,51										
RVTA - 8R (H)	0,40	0,59	0,46	0,67									
RVTA - 14R (H)	0,41	0,56	0,43	0,49	0,58								
RVTA - 17R (H)	0,44	0,47	0,55	0,63	0,60	0,49							
RVTA - 36R (H)	0,47	0,50	0,34	0,57	0,50	0,33	0,51						
RVTA - 42R (H)	0,44	0,55	0,48	0,52	0,55	0,55	0,74	0,51					
RVTA - 44R (H)	0,40	0,59	0,35	0,61	0,49	0,40	0,56	0,63	0,62				
RVTA - 46R (H)	0,22	0,26	0,27	0,43	0,35	0,28	0,33	0,33	0,29	0,28			
RVTA - 53R (H)	0,43	0,57	0,51	0,50	0,57	0,60	0,58	0,40	0,59	0,40	0,41		
RVTA - 58R (L)	0,45	0,58	0,38	0,54	0,44	0,49	0,59	0,42	0,66	0,56	0,29	0,53	
RVTA - 85R (L)	0,09	0,10	0,05	0,14	0,13	0,06	0,10	0,18	0,11	0,14	0,08	0,05	0,12

Fonte: o próprio autor.

Nos indivíduos do cruzamento entre a cultivar Redenção e o genótipo RVTA-230 (H) os 10 *primers* ISSR amplificaram 123 fragmentos e destes, 74,80% foram polimórficos e utilizados nas análises. A similaridade genética entre os genótipos deste cruzamento variou de 17% a 68% (Tabela 4). Os genótipos com maior similaridade com a cultivar Redenção foram os genótipos RVTA-113R (H) e RVTA-178R (L) ambos com 57%, o genótipo RVTA-114R (H) obteve a menor similaridade com o parental recorreconte (35%).

**Tabela 4** – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre ‘Redenção’ e RVTA-230 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR). SP: *Solanum pennellii*; Red: *Solanum lycopersicum* (cv. Redenção). R: Retrocruzados com ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	SP	Red	#230	#113	#114	#118	#148	#178	#187
Redenção (L)	0,40								
RVTA - 230 (H)	0,36	0,56							
RVTA - 113R (H)	0,41	0,57	0,68						
RVTA - 114R (H)	0,17	0,35	0,29	0,34					
RVTA - 118R (H)	0,23	0,53	0,42	0,50	0,49				
RVTA - 148R (H)	0,19	0,40	0,36	0,43	0,54	0,42			
RVTA - 178R (L)	0,30	0,57	0,54	0,62	0,26	0,50	0,38		
RVTA - 187R (L)	0,21	0,39	0,35	0,42	0,32	0,30	0,41	0,44	
RVTA - 190R (L)	0,24	0,46	0,48	0,58	0,35	0,40	0,38	0,44	0,42

Fonte: o próprio autor.

O uso dos marcadores moleculares nos genótipos oriundos do retrocruzamento com ‘Redenção’ permitiu identificar as plantas com alto teor do aleloquímico e com maior proporção do genoma recorrente (Tabela 3 e 4). Estudos realizados por Ozturk (2022) constatou que os marcadores ISSR também foram eficientes e permitiram verificar a divergência genética entre 24 genótipos de tomate dentro de um germoplasma.

Os materiais que indicam maior possibilidade para continuar o programa de melhoramento são, em ordem de prioridade, RVTA-8R (H) ou RVTA-44R (H), RVTA-3R (H), RVTA-113R (H) ou RVTA-53R (H), RVTA-14R (H), RVTA-42R (H), RVTA-118R (H), e RVTA-36R (H). O genótipo RVTA-148R (H) também pode ser considerado um candidato para avançar no programa, o qual obteve apenas 40% de similaridade com o parental recorrente, mas apresentou alto teor do aleloquímico (0,553). Contudo, somente a análise conjunta dos dados de teores de acilaçúcares e dos bioensaios de resistência às pragas poderão indicar o material para ser utilizado em retrocruzamentos futuros.

Nos indivíduos do cruzamento entre os genótipos M-08 e RVTA-325 (H), o *primer* UBC815 também não apresentou amplificação. Nos genótipos deste cruzamento os nove *primers* ISSR amplificaram 91 fragmentos e destes, 64,83% foram polimórficos e utilizados nas análises. A similaridade genética entre os genótipos deste cruzamento variou de 18% a 58% (Tabela 5). O genótipo RVTA-281M (L) apresentou a maior similaridade com a linhagem M-08 (43%), enquanto a menor similaridade foi encontrada no genótipo RVTA-221M (H).

**Tabela 5** – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre M-08 e RVTA-325 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR). SP: *Solanum pennellii*; M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	SP	M-08	#325	#221	#246	#279
M-08 (L)	0,40					
RVTA – 325 (H)	0,26	0,23				
RVTA - 221M (H)	0,20	0,37	0,48			
RVTA - 246M (H)	0,27	0,41	0,40	0,58		
RVTA - 279M (L)	0,18	0,39	0,31	0,33	0,39	
RVTA - 281M (L)	0,18	0,43	0,22	0,26	0,23	0,33

Fonte: o próprio autor.

De acordo com o trabalho realizado por EL-MANSY *et al.* (2021), observaram que marcadores moleculares ISSR -foram eficientes para avaliar a divergência genética entre linhagens de tomateiro, pois geraram várias bandas polimórficas, as quais permitiram diferenciar as linhagens e identificar materiais tolerantes ao stress térmico.

Nos indivíduos originários do cruzamento entre M-08 e RVTA-230 (H), os 10 *primers* ISSR amplificaram 123 fragmentos e destes, 73,98% foram polimórficos e utilizados nas análises. A similaridade genética entre os genótipos deste cruzamento variou de 22% a 70% (Tabela 6). Os genótipos RVTA-404M (H) e RVTA-406M (H) foram os mais similares com a linhagem M-08 (55%), enquanto RVTA - 374M (L) obteve a menor similaridade (37%).

**Tabela 6** – Similaridade genética entre os parentais e genótipos do cruzamento entre M-08 e RVTA-230 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR). SP: *Solanum pennellii* LA-716; M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	SP	M-08	#230	#344	#358	#374	#381	#403	#404	#406
M-08 (L)	0,41									
RVTA – 230 (H)	0,37	0,44								
RVTA - 344M (L)	0,31	0,43	0,53							
RVTA - 358M (L)	0,26	0,42	0,42	0,65						
RVTA - 374M (L)	0,22	0,37	0,43	0,36	0,33					
RVTA - 381M (H)	0,33	0,51	0,41	0,47	0,45	0,39				
RVTA - 403M (H)	0,37	0,50	0,37	0,51	0,56	0,33	0,49			
RVTA - 404M (H)	0,36	0,55	0,47	0,51	0,50	0,43	0,63	0,65		
RVTA - 406M (H)	0,33	0,55	0,52	0,48	0,49	0,45	0,60	0,60	0,70	
RVTA - 408M (H)	0,36	0,47	0,43	0,48	0,48	0,42	0,61	0,60	0,69	0,67

Fonte: o próprio autor.

Nos indivíduos do cruzamento entre os genótipos M-08 e RVTA-238 (H) os 10 *primers* ISSR amplificaram 138 fragmentos e destes, 84,78% foram polimórficos e utilizados nas análises. A similaridade genética entre os genótipos deste cruzamento variou de 24% a 66% (Tabela 7). Os genótipos que apresentaram maior similaridade genética com a linhagem M-08 foram RVTA-427M (H) e RVTA-456M (H), ambos com 54%. O genótipo RVTA-485M (H) obteve a menor similaridade genética, com 34%.

**Tabela 7** – Similaridade genética entre os parentais e genótipos oriundos do cruzamento entre M-08 e RVTA-238 (H), estimado pelo coeficiente de Jaccard com dados dos marcadores inter-simple sequence repeat (ISSR). SP: *Solanum pennellii* LA-716; M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	SP	M-08	#238	#423	#427	#429	#437	#442	#455	#456	#462	#483	#485	#493	#501	#519
M-08 (L)	0,48															
RVTA - 238 (H)	0,38	0,47														
RVTA - 423M (H)	0,35	0,49	0,49													
RVTA - 427M (H)	0,44	0,54	0,57	0,62												
RVTA - 429M (H)	0,25	0,36	0,39	0,53	0,51											
RVTA - 437M (H)	0,40	0,47	0,40	0,52	0,56	0,37										
RVTA - 442M (H)	0,36	0,50	0,46	0,58	0,61	0,46	0,61									
RVTA - 455M (H)	0,40	0,45	0,43	0,46	0,54	0,37	0,58	0,57								
RVTA - 456M (H)	0,42	0,54	0,47	0,55	0,54	0,41	0,57	0,54	0,53							
RVTA - 462M (H)	0,35	0,51	0,42	0,54	0,60	0,39	0,53	0,58	0,62	0,66						
RVTA - 483M (H)	0,40	0,45	0,41	0,42	0,52	0,35	0,36	0,47	0,43	0,54	0,62					
RVTA - 485M (H)	0,38	0,34	0,35	0,44	0,43	0,24	0,60	0,42	0,53	0,47	0,53	0,41				
RVTA - 493M (H)	0,35	0,44	0,39	0,50	0,47	0,32	0,58	0,45	0,52	0,53	0,50	0,43	0,55			
RVTA - 501M (H)	0,46	0,53	0,51	0,50	0,58	0,39	0,57	0,54	0,66	0,66	0,62	0,51	0,58	0,55		
RVTA - 519M (H)	0,42	0,50	0,50	0,43	0,55	0,32	0,59	0,49	0,52	0,48	0,54	0,48	0,59	0,52	0,62	
RVTA - 520M (H)	0,36	0,40	0,42	0,42	0,42	0,33	0,40	0,38	0,53	0,55	0,55	0,45	0,44	0,48	0,59	0,49

Fonte: o próprio autor.

Nesta população, o uso dos marcadores moleculares também foi eficiente, permitindo identificar, dentre os genótipos com alto teor de acilacúcares, aqueles com maior similaridade com o parental M-08 (Tabelas 5, 6 e 7). Dados obtidos por Kiani e Siahchereh (2018); Figueiredo *et al.* (2016), corroboram os resultados descritos nesse trabalho, em que os marcadores moleculares identificaram divergências genéticas entre os parentais de tomateiro permitindo selecionar plantas geneticamente semelhantes ao parental recorrente.

Os materiais que indicam maior possibilidade para continuar o programa de melhoramento são, em ordem de prioridade, RVTA-404M (H) ou RVTA-406M (H), RVTA-427M (H) ou RVTA-456M (H), RVTA-381M (H) ou RVTA-462M (H) e RVTA-403M (H) ou RVTA-442M (H). Os genótipos RVTA-423M (H), RVTA-408M (H) e RVTA-437M (H) obtiveram proporção do parental de 49, 47 e 47%, respectivamente, mas apresentaram alto teor do aleloquímico. Estes genótipos também constituem boas opções para serem utilizados nas etapas subsequentes do programa de melhoramento. Entretanto, somente a análise conjunta dos dados de teores de acilacúcares e os bioensaios de resistência a pragas poderá identificar com precisão os melhores genótipos para esta finalidade.

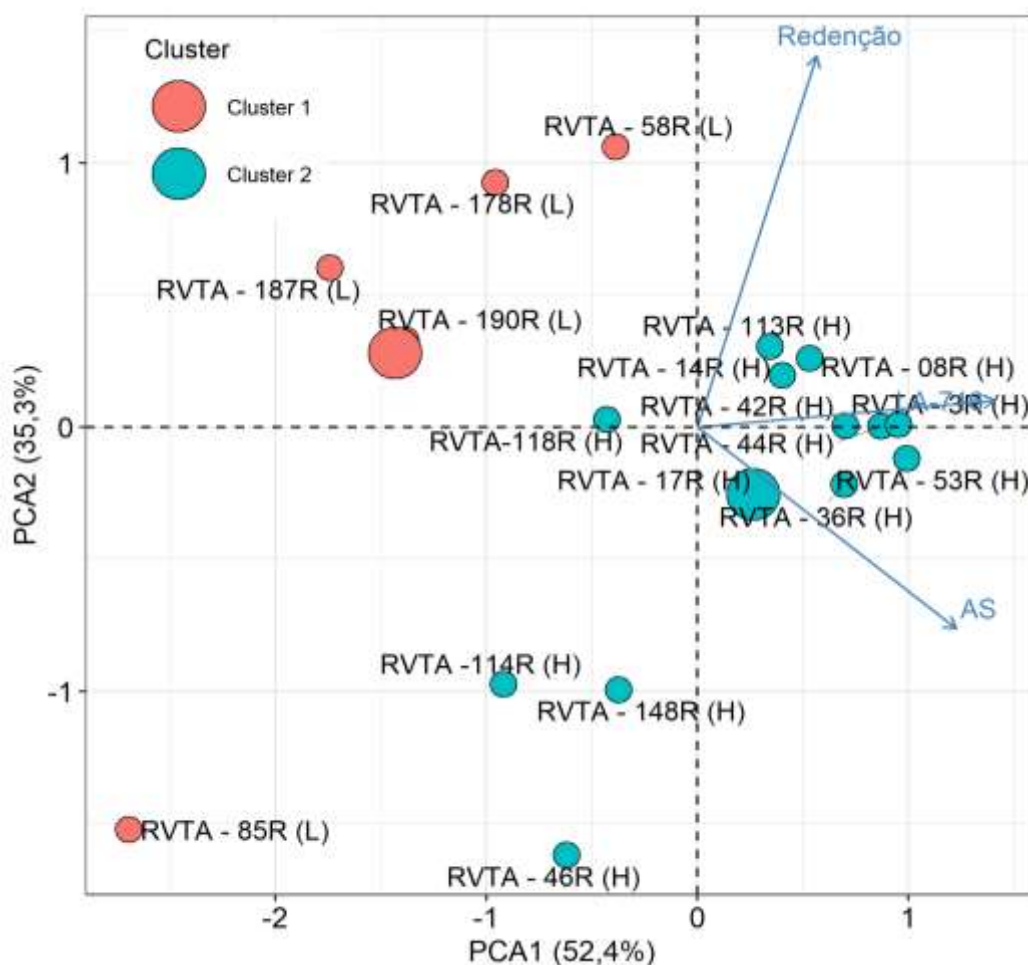
Na análise de componentes principais com a população F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> foi possível observar os genótipos que possuem maiores similaridades com cada parental e a formação de dois grupos, constituídos pelos genótipos com alto e baixo teor de acilacúcares (Figura 1). A ACP1 e ACP2 explicaram, em conjunto, 87,7% da variação dos dados.

O grupo exposto no segundo quadrante, com genótipos de baixos teores de acilacúcares possuem maior proximidade com a ‘Redenção’, padrão de suscetibilidade, comparado com o padrão de resistência, acesso LA-716, em oposição com o vetor referente ao teor de acilacúcar. Em contrapartida, os grupos de genótipos de alto teor de acilacúcar, expostos no quarto quadrante, possuem relação com o vetor relacionado com o teor do aleloquímico e observa-se menor similaridade com o parental ‘Redenção’ (Figura 1).

No primeiro quadrante, observa-se entre os genótipos do grupo de alto teor de acilacúcar RVTA-113R (H), RVTA-08R (H) e RVTA-14R (H) demonstraram maiores proximidades com a cultivar Redenção (Figura 1), e menor com o acesso LA-716, sendo indicados para prosseguir no programa de melhoramento genético. De acordo com Oliveira (2020), por meio da seleção assistida por marcadores moleculares é possível encontrar materiais que possuam maior proporção do genoma do parental recorrente, a fim de selecionar plantas com características comerciais.

Os genótipos apresentados no terceiro quadrante não obtiveram semelhanças significativas com os parentais (Figura 1), indicando nesse estudo que não são materiais promissores para continuar no programa.

**Figura 1** – Análise de componentes principais relacionados à teores de acilaçúcares, similaridade genética entre os parentais (*S. pennellii* LA-716 e *S. lycopersicum* ‘Redenção’) e genótipos da população F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>. AS: Teores de acilaçúcares; R: Retrocruzados com ‘Redenção’; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.



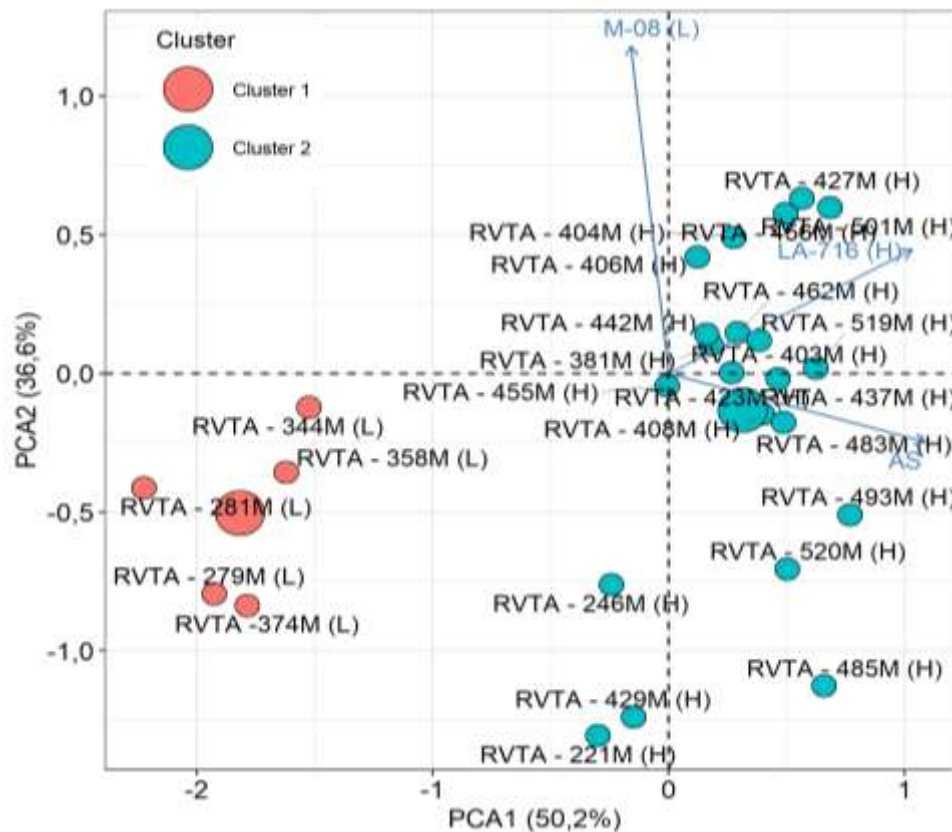
Fonte: o próprio autor.

Pela análise de componentes principais com a população F<sub>2</sub> [(M-08 x F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* x *S. lycopersicum*] foi possível distinguir os genótipos com semelhança com cada parental e o grupo de genótipos de altos teores de acilaçúcares e outro de baixos teores (Fig. 2). A ACP1 e ACP2 explicaram, em conjunto, 86,8% da variância dos dados.

O grupo de genótipos de baixos teores de acilaçúcar expostos no terceiro quadrante (Figura 2) ficou oposto aos vetores relacionados ao acesso silvestre LA-716 e com os teores elevados do aleloquímico. Por outro lado, no quarto quadrante, os genótipos RVTA-493M (H) e RVTA-483 (H), obtiveram a maior relação com a característica de teor de

acilaçúcar. De acordo com a Figura 2, os genótipos RVTA-427M (H), RVTA-456M (H), RVTA-404M (H), RVTA-406M (H) com alto teor do aleloquímico demonstraram maiores proximidades do parental M-08, e menor com o acesso LA-716, sendo indicados para prosseguir no programa de melhoramento.

**Figura 2** – Análise de componentes principais relacionados à teores de acilaçúcares, similaridade genética entre os parentais (*S. pennellii* x *S. lycopersicum*) e genótipos da população F<sub>2</sub> [(M-08 x F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* x *S. lycopersicum*]. AS: Teores de acilaçúcares; M: F<sub>2</sub> [(M-08 x F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* x *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.



Fonte: o próprio autor.

#### 4.6 CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares ISSR foram efetivos e identificaram os genótipos avançados RVTA-pl#113R; RVTA-pl#08R; RVTA-pl#14R; RVTA-pl#427M; RVTA-pl#456M; RVTA-pl#404M, RVTA-pl#406M com as maiores similaridades com o parental 'Redenção' e linhagem M-08 com altos teores de acilaçúcares. Estes genótipos poderão, portanto, serem utilizados como doadores de pólen na próxima geração de retrocruzamentos.

## 5 ARTIGO B: Relação entre quantidade e tipos de tricomas em genótipos de tomateiro na manifestação de aleloquímico de resistência e incidência de *Tetranychus urticae*

### 5.1 RESUMO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) apresenta suscetibilidade a diversos artrópodes-pragas, como o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), que pode reduzir a produtividade desta cultura. Assim, o objetivo foi avaliar a relação do teor do aleloquímico acilaçúcar com as características morfo-anatômicas das folhas de genótipos F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> e F<sub>2</sub> ([M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*] e associá-las a resistência ao ácaro rajado. Para isso, foi realizado avaliações morfo-anatômicas foliares, analisando as densidades de tricomas e bioensaios para analisar a resistência ao ácaro (teste com e sem chance de escolha e o de caminhamento do ácaro). Os tratamentos foram compostos pelos genótipos *Solanum lycopersicum* cv. Redenção e *Solanum lycopersicum* linhagem M-08; genótipos F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> e F<sub>2</sub> ([M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*] com teores contrastantes de acilaçúcares; *Solanum pennellii* – LA-716 e *Solanum galapagense* – LA-1401. No teste de caminhamento, as menores distâncias percorridas pelos ácaros foram obtidas nos genótipos ricos em acilaçúcares RVTA-14R (H), RVTA-42R (H) e no acesso silvestre. Para número de ácaros vivos, os menores valores foram encontrados em LA-716 e RVTA-42R (H). No bioensaio com chance de escolha os ácaros tiveram maior preferência para os genótipos com baixos teores de aleloquímico. Quanto à densidade de tricomas glandulares, os valores mais elevados foram encontrados em LA-716 e RVTA-36R (H), e os menores para RVTA-85R (H), M-08 e 'Redenção'. Os tricomas glandulares presentes nos folíolos possuíam relação direta com o teor de acilaçúcares. A maior tolerância ao ácaro rajado foi encontrada nos genótipos avançados com altos teores de acilaçúcares, indicando que este aleloquímico foi eficiente no controle da praga.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*. *Solanum pennellii*. L. Acilaçúcares. Tricomas.

### 5.2 ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is susceptible to several arthropod-pests, such as the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*), which can drastically reduce the fruit production. Thus, the objective was to evaluate the relationship of the allelochemical acylsugar content with the morfo-anatomical characteristics of the leaves of genotypes F<sub>2</sub>BC<sub>4</sub> and F<sub>2</sub> ([M-08 × F<sub>2</sub>BC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*] and to associate them with spider mite resistance. For this, leaf morfo-anatomical estimates were performed, analyzing trichome densities and bioassays to analyze mite resistance (choice and no-choice test and mite walking test). The treatments were composed by the genotypes *Solanum lycopersicum* cv. Redenção and *Solanum lycopersicum* lineage M-08; genotypes F<sub>2</sub>BC<sub>4</sub> and F<sub>2</sub> ([M-08 × F<sub>2</sub>BC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*] with contrasting levels of acylsugars; *Solanum pennellii* – LA-716 and *Solanum galapagense* – LA-1401. In the walking test, the shortest distances covered by the mites were genotypes rich in acylsugar RVTA-14R (H), RVTA-42R (H) and in wild access. For the number of alive mites, the lowest values were found in LA-716 and RVTA-42R (H). In the free-choice bioassay, mites had greater preference for genotypes with low allelochemical levels. As for trichome density, the highest values were found in LA-716 and RVTA-36R (H) and the lowest for RV-85R (H), M-08 and 'Redenção'. The glandular trichomes present in the leaflets were directly related to the acylsugar content. The highest

tolerance to the two-spotted spider mite was found in advanced genotypes with high levels of acylsugars, indicating that this allelochemical was efficient in controlling the pest.

Key Words: *Solanum pennellii*. *Solanum lycopersicum* L. Acylsugars. Trichomes.

### 5.3 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas no Brasil e no Mundo. Em 2020, a produção mundial foi de 187 milhões de toneladas de frutos em uma área de 5 milhões de hectares. Entre os principais países produtores, o Brasil ocupa a nona posição, com 3,6 milhões de toneladas de frutos (FAOSTAT, 2022).

O tomateiro apresenta suscetibilidade a diversos artrópodos-praga e cerca de 15,6% da produção agrícola no Mundo é perdida por danos causados por pragas (FAO, 2015). Entre as principais pragas que atacam a cultura, o *Tetranychus urticae* Koch, ácaro rajado, se preferem se desenvolver na superfície abaxial das folhas e quando a incidência é muito severa pode causar prejuízos consideráveis. Este artrópode se alimenta do conteúdo foliar, causando manchas e ocasionando o desfolhamento até a morte da planta, o que favorece para a redução do rendimento produtivo do tomateiro (GOMES *et al.*, 2017; MECK; KENNEDY; WALGENBACH, 2013).

Devido ao rápido crescimento populacional do ácaro, o método mais utilizado para o controle é o químico, porém o uso incorreto está selecionando indivíduos resistentes a esses produtos (SANTOS *et al.*, 2020). Assim, o melhoramento genético é um importante aliado para o manejo integrado desta praga, desenvolvendo cultivares resistentes, realizando a introgressão de genes de espécies selvagens em genótipos comerciais, desta forma colaborando para a redução do uso de agrotóxicos e conseqüentemente menor impacto ambiental (OLIVEIRA *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2016; MECK; KENNEDY; WALGENBACH, 2013).

Espécies selvagens, como *Solanum pennellii* Correll possuem aleloquímicos com alta atividade contra diversos artrópodos-praga (DIAS *et al.*, 2019; MALUF *et al.*, 2010). Estes aleloquímicos estão presentes em tricomas glandulares na superfície das folhas do tomateiro e também em bolsas no mesófilo e parênquima foliar (RESENDE *et al.*, 2020; STOUT *et al.*, 2018; GOMES *et al.*, 2017; SEKI, 2016). Os tricomas glandulares, especialmente do tipo IV, exsudam o aleloquímico acilaçúcar em *Solanum pennellii* (DE SOUSA CARDOSO *et al.*, 2021; MALUF *et al.*, 2010). Essa substância dificulta a

sobrevivência da praga na planta, interferindo na sua biologia (LUCINI *et al.*, 2015) em diferentes níveis, dependendo da concentração destes aleloquímicos presentes nas folhas (BAIER *et al.*, 2015).

Embora diversos estudos confirmassem a ação deste aleloquímico na redução dos principais artrópodos-pragas que causam danos a cultura do tomateiro (MARINKE *et al.*, 2022; DIAS *et al.*, 2019; MACIEL *et al.*, 2018; RESENDE *et al.*, 2009; FREITAS *et al.*, 2002;), ainda há poucos relatos em relação as estruturas morfológicas nas folhas destas espécies silvestres quando comparado com o comercial (*S. lycopersicum*).

Neste contexto, objetiva-se avaliar a relação dos teores de açúcares com as características morfo-anatômicas das folhas dos genótipos do tomateiro da geração segregante F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> e F<sub>2</sub> ([M-08 x F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* x *S. lycopersicum*] e associá-las a resistência ao ácaro rajado.

#### 5.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os genótipos foram mantidos em casa-de-vegetação em condições de temperatura de 25±3°C, umidade relativa de 80±3% e fotofase de 12h, em vasos de polipropileno com capacidade de 2,5 dm<sup>3</sup>. Os vasos foram preenchidos com solo de subsuperfície com pH em cloreto de cálcio corrigido para 5,8 e substrato a base de casca de pinus bioestabilizada, na proporção de 1:1. As plantas destes genótipos foram clonadas por meio de enraizamento de brotos axilares, de forma a obter plantas com idades similares.

Os brotos foram transplantados para bandejas de poliestireno de 128 células preenchidas com substrato a base de casca de pinus bioestabilizada. Após enraizamento, as mudas de torrão foram transplantadas para vasos com capacidade de 7 dm<sup>3</sup> com mistura de solo e substrato, conforme descrito acima. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação.

Os tratamentos foram compostos pelos seguintes genótipos: a) *Solanum lycopersicum* cv. Redenção, cultivar de tomateiro com características para processamento industrial, suscetível a artrópodes-praga, com baixos teores de açúcares (Ferraz *et al.*, 2003); b) *Solanum lycopersicum* linhagem M-08, com baixo teor do aleloquímico e características de tomates do grupo salada, pertencente ao banco de germoplasma da UEL; c) genótipos RVTA, grupo de genótipos de tomateiro da geração F<sub>2</sub> ([M-08 x F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* x *S. lycopersicum*] e F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub> com teores contrastantes de açúcares; d) *S. pennellii* LA-716, acesso silvestre, com alto teor de açúcares; e) *S. galapagense* LA-1401, acesso silvestre também rico em açúcares (Tabela 8).

**Tabela 8** – Relação dos genótipos avaliados e respectivas classificações quanto aos teores de acilaçúcares. R: Retrocruzados com a ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	Dados do Genótipo
LA - 716 (H)	<i>S. pennellii</i> LA-716
LA-1401 (H)	<i>S. galapagense</i> LA-1401
RVTA - 493M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#493M
RVTA - 485M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#485M
RVTA - 408M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#408M
RVTA - 221M (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#221M
RVTA - 403M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#403M
RVTA - 381M (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#381M
RVTA - 3R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#3R
RVTA - 423M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#423M
RVTA - 148R (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#148R
RVTA - 437M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#437M
RVTA - 429M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#429M
RVTA - 427M (H)	RVTA-2010-31-319-214-238-pl#427M
RVTA - 246M (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#246M
RVTA - 42R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#42R
RVTA - 36R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#36R
RVTA - 14R (H)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#14R
RVTA - 113R (H)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#113R
RVTA - 344M (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#344M
Redenção (L)	Redenção
RVTA - 281M (L)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#281M
M- 08 (L)	M- 08
RVTA - 85R (L)	RVTA-2010-31-177-177-325-pl#85R
RVTA - 187R (L)	RVTA-2010-31-177-39-230-pl#187R

Fonte: o próprio autor.

#### 5.4.1 Experimento em casa-de-vegetação

As sementes dos genótipos F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>, Redenção, M-08 e *S. pennellii* foram semeadas em bandejas de 128 células preenchidas com substrato bioestabilizado. Vinte dias após, as mudas foram transplantadas para vasos de polipropileno de 2,5 dm<sup>3</sup>, contendo mistura de solo e substrato comercial bioestabilizado. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação com irrigação diária, e adubadas conforme necessário. Após cinquenta dias do transplante as plantas foram utilizadas para os bioensaios e contagem de tricomas, em laboratório.

Foram mantidos oito vasos de cada tratamento para serem utilizados como repetições. Assim, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito repetições e a parcelas constituída por vasos com uma planta cada.

#### 5.4.2 Criação do ácaro-rajado

Ácaros adultos provenientes de criação controlada em gaiolas em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) foram utilizados para realização dos bioensaios. As plantas de feijoeiro infestadas com ácaro foram mantidas em ambiente com temperatura média de  $28\pm 3^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $80\pm 4\%$  e fotofase com 13 h de luz e 11h de escuro.

#### 5.4.3 Bioensaio de Caminhamento do Ácaro

A metodologia seguida foi a adaptada de Weston e Snyder (1990). Para isso, um folíolo de cada tratamento foi fixado no seu centro por um percevejo latonado em uma folha branca sobre uma placa de poliestireno. Sobre cada percevejo, foram liberadas 6 fêmeas de ácaro-rajado. Após 10, 20, 40 e 60 minutos da liberação, as distâncias percorridas pelos ácaros (em milímetros) sobre a superfície de cada folíolo foram medidas com auxílio de uma régua graduada. Para essa avaliação, a distância percorrida pelos ácaros que permaneceram sobre o percevejo latonado (ou seja, sem se movimentar) foi considerada zero, e para os ácaros que saíram da superfície do folíolo foi considerada a distância entre o centro da tachinha e a extremidade do folíolo. O experimento foi realizado em sala climatizada a  $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ , utilizando-se delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Para as análises estatísticas, foi considerada a distância média percorrida pelos ácaros em cada repetição.

#### 5.4.4 Bioensaio sem Chance de Escolha

Este bioensaio foi realizado em caixas gerbox (11 cm  $\times$  11 cm  $\times$  3.5 cm), preenchidas com uma espuma umedecida em água destilada. Sobre esta espuma, foi inserido, individualmente, um disco foliar de cada um dos tratamentos (30 mm de diâmetro), mantendo-se a face abaxial voltada para cima. Sobre cada disco foram transferidas seis fêmeas adultas oriundas da criação, com auxílio de um pincel de cerdas finas e um estereomicroscópio. As fêmeas foram mantidas sobre os discos durante 24 horas, após o qual se contabilizou o número de ácaros vivos e o número de ovos depositados sobre cada disco

foliar, em cada face (abaxial e adaxial). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições, sendo que o conjunto de caixas foram mantidas em câmara climatizada do tipo BOD (temperatura  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , umidade de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas).

#### 5.4.5 Bioensaio com Chance de Escolha

Os genótipos mais resistentes identificados pelo teste de Weston e Snyder (1990) e sem chance de escolha foram utilizados para realizar os bioensaios com chance de escolha. Para isso, foram realizados utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com nove repetições. As arenas foram constituídas de caixas gerbox ( $11\text{ cm} \times 11\text{ cm} \times 3.5\text{ cm}$ ), contendo uma camada de algodão sobre uma esponja saturada de água. Sobre essa camada foram inseridos discos foliares de 30 mm de diâmetro de dois tratamentos distintos: *S. lycopersicum* cv. Redenção e um dos demais tratamentos e *S. lycopersicum* linhagem M-08 e um dos demais tratamentos.

Os discos foliares foram dispostos com a face abaxial voltada para cima e conectados utilizando uma lamínula plástica de  $18 \times 18\text{ mm}$ . Após montadas as arenas, seis fêmeas adultas de *T. urticae* foram liberadas na porção mediana da lamínula, permitindo a livre passagem e o acesso dos ácaros aos folíolos de ambas as extremidades. A liberação dos indivíduos foi realizada por meio de pincel de cerdas finas com auxílio de estereomicroscópio (NIKON 1510). As arenas foram mantidas durante 24 h em câmara climatizada com temperatura ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $70\pm 10\%$ ) e fotofase (12h). Após esse período, foi realizada a contagem dos ácaros presentes em cada um dos discos foliares.

#### 5.4.6 Avaliações e identificações de tricomas sob microscopia eletrônica de varredura

Para a quantificação e identificação de tricomas glandulares e não glandulares foi feita uma caracterização morfo-anatômica foliar de tomateiros de diferentes tratamentos (genótipos com diferentes teores de açúcares) com uso de microscopia eletrônica de varredura.

Para isso, dois discos foliares foram cortados de folíolos jovens totalmente expandidos, com o auxílio de um vazador de 7 mm de diâmetro, no terço superior de duas plantas de cada tratamento. Os discos foram então transferidos para tubos de ensaio contendo uma solução de glutaraldeído 2,5% (v/v) em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH

7,2, por 12 horas, a 4 °C. Após este processo, os discos foram lavados três vezes em tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2 e desidratados em gradiente crescente de etanol (50%, 70%, 90%, 100% e 100% novamente) por 10 minutos em cada passo, seguido de secagem em ponto crítico Bal-Tec CPD 030 com CO<sub>2</sub>. Posteriormente os discos foram aderidos em “stubs” de metal com fita dupla face de carbono, um com a face adaxial e outro com a face abaxial voltada para cima para cada tratamento, sendo recobertas com ouro em metalizador Bal-Tec SCD 050. As análises foram feitas em um microscópio eletrônico de varredura FEI - Quanta 200, com 20 kV de tensão, sendo obtidas 4 micrografias de diferentes áreas de cada disco.

A identificação e contagem de tricomas foram feitas através da presença ou não da glândula na extremidade apical do tricoma, a partir da delimitação de um quadrante (100 vezes com área de 1 mm<sup>2</sup> e 200 vezes com área de 500 μm<sup>2</sup> da superfície foliar) em cada uma das micrografias obtidas, realizada por meio das quatro repetições das imagens das faces abaxial e adaxial.

#### 5.4.7 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste F por meio da análise de variância ( $P \leq 0,05$ ), após verificados os pressupostos de normalidade e homocedasticidade, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Hartley, respectivamente. Quando o teste F foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott com 5% de significância. Alternativamente, quando os pressupostos da análise de variância não foram atendidos, as médias dos tratamentos foram analisadas por meio do teste de Kruskal-Wallis, e do teste de Dunn, para comparação entre os tratamentos ( $P \leq 0,05$ ). Contrastes ortogonais entre ‘Redenção’, LA-716 e grupos de genótipos com conteúdos contrastantes (alto e baixo) de açúcares foram estimados por meio do teste de Scheffé, usando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

Foram também estimadas correlações de Pearson ( $P \leq 0,05$ ) entre tipos de tricomas, conteúdos de açúcares, números de ovos e de ácaros atraídos nos diferentes testes. A rede de correlação foi utilizada para expressar graficamente os resultados, nos quais a proximidade entre os nós (traços) é proporcional aos valores de correlação absoluta entre os parâmetros avaliados. Para uma análise exploratória dos dados relacionados à identificação de tricomas, teores de açúcares e os bioensaios de resistência ao ácaro rajado nos folíolos, foram realizadas análises de componentes principais (ACP) e análise de agrupamento não hierárquico via algoritmo de k-means.

Para a correlação e ACP foi utilizado o software estatístico R 4.1.1 (R CORE TEAM, 2021).

## 5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.5.1 Bioensaio de caminhamento do ácaro

Houve diferença significativa para as distâncias médias percorridas pelos ácaros nos folíolos entre os genótipos avaliados (Tabela 9). Quanto à resistência ao ácaro rajado, *S. pennellii* LA-716 e *S. galapagense* LA-1401 obtiveram as menores médias em todos os tempos. Teores elevados de acilalúcares estão presentes nestes acessos e a presença desse composto na planta reduz o ataque de diversas pragas (RESENDE *et al.*, 2021; DIAS *et al.*, 2019; VOSMAN *et al.*, 2019; ANDRADE *et al.*, 2017). Apesar destas evidências, o exato modo de ação de acilalúcares em pragas ainda não foi totalmente elucidado (LECKIE *et al.*, 2012).

No teste de caminhamento (Tabela 9), para o tempo de 10 minutos após a liberação dos ácaros-fêmea, os genótipos RVTA-281M (L) e RVTA-187R (L) não diferiram estatisticamente do parental suscetível *S. lycopersicum* M-08 (L), com maior deslocamento dos ácaros, diferindo estatisticamente dos genótipos RVTA-344M (L), RVTA-85R (L) e parental *S. lycopersicum* cv. Redenção. Os genótipos ricos em acilalúcares RVTA-42R (H), RVTA-3R (H), RVTA-14R (H) e RVTA-429M (H) destacaram-se por apresentar menor caminhamento no tempo de 10 minutos, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 9).

Aos 20 minutos após a liberação, os genótipos com teor baixo de acilalúcar apresentaram aumento expressivo nas distâncias médias percorridas pelo artrópode, comparando com o tempo de 10 minutos, não diferindo estatisticamente do parental comercial ‘Redenção’ e da linhagem M-08. O tomateiro comercial (*S. lycopersicum*) possui glicose e sacarose, porém não aciladas. Desse modo, contribuindo para a menor tolerância aos ácaros nos parentais suscetíveis.

Os genótipos de alto teor RVTA-42R (H), RVTA-14R (H), RVTA-429M (H), RVTA-3R (H) e RVTA-221M (H) mantiveram-se com médias baixas de caminhamento, comparado aos de baixos teores do aleloquímico e diferindo dos demais genótipos.

Aos quarenta minutos após a liberação dos ácaros, os genótipos de baixo teor mantiveram-se com médias altas. Entre os genótipos de alto teor destacam-se RVTA-14R

(H) e RVTA-42R (H) com menor deslocamento dos ácaros, comparados aos demais, diferindo estatisticamente. O material de alto teor RVTA-403M (H), apesar de demonstrar caminhamento maior que os genótipos citados acima, obteve menor caminhamento pelos ácaros quando comparados aos genótipos de baixo teor (Tabela 9).

Na última avaliação com sessenta minutos, entre os genótipos de alto teor, RVTA-14R (H), RVTA-429M (H) e RVTA-42R (H) apresentaram as menores distâncias médias percorridas, em comparação com os genótipos de baixo teor e os parentais suscetíveis ('Redenção' e M-08).

Em geral, a média de caminhamento dos ácaros nas quatro avaliações realizadas as plantas RVTA-14R (H) e RVTA-42R (H), se aproximaram estatisticamente do parental silvestre (*S. pennellii* LA-716), e diferiram da testemunha de suscetibilidade e do grupo de baixos teores do aleloquímico. Os genótipos RVTA-429M (H), RVTA-3R (H), RVTA-403M (H) e RVTA-246M (H), também obtiveram destaque, com baixas distâncias percorridas pelos ácaros, diferindo estatisticamente dos demais genótipos (Tabela 9). Similarmente, para o *T. urticae* e *T. evansi*, menores deslocamentos nos genótipos com alto conteúdo de acilacúcar nos folíolos foram encontrados (MARINKE *et al.*, 2022; MACIEL *et al.*, 2018). Durante seu deslocamento sobre o limbo foliar, os ácaros podem entrar em contato com tricomas glandulares, fazendo com que haja a liberação de acilacúcares, acúmulo destes sobre o corpo do ácaro e possível imobilização e morte (MARINKE *et al.*, 2022; PASPATI *et al.*, 2021).

O contraste C1 (Tabela 9) observa-se pela correlação negativa, a diferença significativa entre o grupo de genótipos com elevado teor de acilacúcar e o grupo com teores baixos do aleloquímico, mostra que os genótipos de alto teor foram responsáveis pelas menores distâncias percorridas pelo ácaro rajado nos folíolos de tomateiro. O contraste C2 e C3 demonstram, quando comparado *S. pennellii* LA-716 com os genótipos de alto teor e baixo teor, respectivamente, a efetividade da espécie silvestre em impedir o deslocamento do ácaro rajado.

**Tabela 9** – Teores de acilaçúcares (Absorbância<sup>1</sup>) e distância média percorrida pelo ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) após 10, 20, 40 e 60 minutos, em diferentes genótipos de tomateiro. AS: Teor de acilaçúcar. R: Retrocruzados com a ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	AS	Distância média percorrida (mm)				Média caminhamento <sup>o</sup>
		10 min <sup>o</sup>	20 min <sup>o</sup>	40 min <sup>o</sup>	60 min <sup>□</sup>	
LA-716 (H)	0,723 a	0,58 d	1,58 d	2,00 d	2,00 b	1,54 e
LA-1401 (H)	0,689 a	1,41 d	1,59 d	1,66 d	2,06 b	1,68 e
RVTA - 493M (H)	0,650 a	22,17 a	21,92 a	23,96 a	22,42 ab	22,61 a
RVTA - 485M (H)	0,584 a	20,29 b	22,96 a	24,58 a	23,46 ab	22,83 a
RVTA - 408M (H)	0,575 a	23,88 a	23,13 a	23,33 a	23,96 ab	23,57 a
RVTA - 221M (H)	0,570 a	22,67 a	23,63 b	24,25 a	25,00 a	23,88 a
RVTA - 403M (H)	0,569 a	18,88 b	21,62 a	19,17 a	21,79 ab	20,36 b
RVTA - 381M (H)	0,568 a	23,33 a	24,04 a	24,58 a	23,96 ab	23,98 a
RVTA - 3R (H)	0,560 a	11,04 c	16,67 b	22,71 a	22,63 ab	18,26 c
RVTA - 423M (H)	0,563 a	19,75 b	21,58 a	24,13 a	24,42 ab	22,47 a
RVTA - 148R (H)	0,554 a	24,00 a	25,00 a	25,00 a	25,00 a	24,75 a
RVTA - 437M (H)	0,552 a	15,96 b	22,67 a	23,42 a	23,79 ab	21,46 a
RVTA - 429M (H)	0,552 a	12,92 c	15,08 b	20,04 a	17,25 ab	16,33 c
RVTA - 427M (H)	0,547 a	18,96 b	25,00 a	25,00 a	24,58 ab	23,38 a
RVTA - 246M (H)	0,525 a	18,13 b	18,96 a	24,04 a	22,21 ab	20,83 b
RVTA - 42R (H)	0,510 a	8,13 c	11,00 c	16,17 b	17,46 ab	13,19 d
RVTA - 36R (H)	0,501 a	21,17 a	22,88 a	24,38 a	25,00 a	23,35 a
RVTA - 14R (H)	0,461 a	11,54 c	11,71 c	11,42 c	12,83 ab	11,87 d
RVTA - 113R (H)	0,442 a	22,04 a	24,08 a	24,33 a	24,33 ab	23,7 a
RVTA - 344M (L)	0,251 b	18,75 b	23,25 a	24,67 a	25,00 a	22,91 a
Redenção (L)	0,239 b	19,42 b	21,42 a	25,00 a	22,83 ab	22,17 a
RVTA - 281M (L)	0,236 b	22,75 a	22,71 a	24,67 a	25,00 a	23,78 a
M- 08 (L)	0,217 b	25,00 a	21,08 a	25,00 a	24,79 ab	23,96 a
RVTA - 85R (L)	0,201 b	19,04 b	21,46 a	23,04 a	23,58 ab	21,78 a
RVTA - 187R (L)	0,136 b	21,08 a	23,21 a	22,58 a	24,63 ab	22,87 a
<b>CV (%)</b>	40,58	18,26	15,26	9,58	11,88	9,55
<b>p-value</b>	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
<b>C1 – Genótipos de alto AAs × baixo AAs</b>	-	-3,75**	-2,70**	-2,76**	-3,37**	-3,14**
<b>C2 – Genótipos de alto AAs × <i>S. pennellii</i></b>	-	16,9**	18,0**	19,2**	19,2**	18,37**
<b>C3 – Genótipos de baixo AAs × <i>S. pennellii</i></b>	-	20,74**	20,75**	21,9**	22,6**	21,37**
<b>C4 – Genótipos de alto AAs × Redenção</b>	-	-1,84	-1,77	-3,76*	-1,6	-1,18

<sup>o</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. <sup>□</sup>Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente por meio do teste de Kruskal - Wallis seguido do teste de agrupamento Dunn-Bonferroni, p<0,01. \*Contraste significativo a 5% de probabilidade. \*\*Contraste significativo a 1% de probabilidade.<sup>1</sup> Valores médios de absorbância em 540 nm. Fonte: o próprio autor.

No contraste C4 comparam os resultados obtidos para os genótipos de alto teor do aleloquímico com ‘Redenção’ (Tabela 9). Observa-se que os genótipos de alto teor tiveram distâncias percorridas pelo ácaro rajado inferiores ao parental comercial. Comprovando que o alto conteúdo de acilaçúcares promovem a maior tolerância das plantas ao ácaro rajado, apresentando as menores médias de caminhamento nos folíolos.

Diante dos resultados obtidos nesse bioensaio, podemos reforçar o atributo dos genótipos avançados com altos teores do aleloquímico acilaçúcar, em atuarem como fontes de resistência ao ácaro-rajado em programas de melhoramento de tomateiro.

### 5.5.2 Bioensaio sem Chance de Escolha

Quanto ao bioensaio sem chance de escolha observa-se diferenças entre os tratamentos utilizados. Constatou-se que os ácaros liberados sobre a face abaxial de discos foliares de *S. pennellii* LA-716 (padrão de resistência) obtiveram mortalidade superior em comparação àqueles liberados sobre folíolos dos demais genótipos (Tabela 10).

A espécie silvestre *S. galapagense* LA-1401 também apresentou menor número de ácaros vivos, na face abaxial dos folíolos, juntamente com os genótipos de alto teor de acilaçúcar RVTA-42R (H), RVTA-429M, RVTA-36R (H) e RVTA-427M (H), quando comparados aos genótipos de baixo teor e ao padrão de suscetibilidade (Tabela 10). Esse aleloquímico influencia negativamente no comportamento das pragas, afetando seu desenvolvimento e biologia (RESENDE *et al.*, 2020; LUCINI *et al.*, 2015). Li *et al.* (2019) revelaram que a presença do acilaçúcar nos folíolos de tomateiro contribuíram para a maior mortalidade de psíldeos, o que corrobora com os dados apresentados nesse trabalho.

Na face adaxial foram encontrados menores números de ácaros vivos, comparado à face abaxial. O maior número de adultos sobreviventes por disco, na face adaxial, foi encontrado no genótipo de baixo teor de acilaçúcar RVTA-187R (L) (Tabela 10).

Dias *et al.* (2019), encontraram menor oviposição da traça em genótipos de tomateiro com alto teor de acilaçúcar. Entretanto, no presente trabalho, não houve diferença significativa na oviposição do acaro rajado, nas duas faces do folíolo dos genótipos avaliados.

Ao verificar o contraste C1 entre o grupo de genótipos classificados como alto teor de acilaçúcar e genótipos de baixo teor (Tabela 10), observou-se influência negativa para número de ácaros sobreviventes por disco, na face abaxial (-0,46) e adaxial (-0,45). Este fato sugere a existência de mecanismo de resistência do tipo antibiose, mediada pelo aleloquímico, corroborando com os dados encontrados por Silva *et al.* (2016).

**Tabela 10** – Número médio de ovos e adultos de ácaro-rajado (*T. urticae*) nas faces adaxial e abaxial de discos foliares de tomateiro (30 mm de diâmetro) em um bioensaio sem chance de escolha. AB: Face abaxial; AD: Face adaxial; R: Retrocruzados com a ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	Número de ovos por disco foliar		Número de adultos sobreviventes por disco	
	AB <sup>□</sup>	AD <sup>□</sup>	AB <sup>•</sup>	AD <sup>•</sup>
LA-716 (H)	0,3	0,0	1,0 c	0,2 b
LA-1401 (H)	0,0	0,0	2,8 b	0,0 b
RVTA - 493M (H)	0,5	0,0	4,7 a	1,2 a
RVTA - 485M (H)	0,3	0,0	4,3 a	1,3 a
RVTA - 408M (H)	0,0	0,0	5,0 a	0,2 b
RVTA - 221M (H)	0,0	0,3	4,3 a	1,3 a
RVTA - 403M (H)	2,0	0,0	5,0 a	0,7 b
RVTA- 381M (H)	3,3	0,0	4,8 a	0,8 b
RVTA - 3R (H)	0,8	0,0	4,5 a	0,2 b
RVTA - 423M (H)	4,3	0,2	5,0 a	0,8 b
RVTA - 148R (H)	0,3	0,0	4,8 a	0,7 b
RVTA - 437M (H)	0,5	0,0	5,0 a	0,7 b
RVTA - 429M (H)	0,2	0,2	3,3 b	2,0 a
RVTA - 427M (H)	0,2	0,0	3,7 b	0,7 b
RVTA - 246M (H)	0,0	0,0	5,0 a	0,0 b
RVTA - 42R (H)	0,3	0,0	2,7 b	0,7 b
RVTA - 36R (H)	0,3	0,0	3,7 b	0,3 b
RVTA - 14R (H)	0,0	0,0	4,0 a	0,2 b
RVTA - 113R (H)	2,8	0,0	4,7 a	1,2 a
RVTA - 344M (L)	0,8	0,0	4,8 a	1,3 a
Redenção (L)	0,3	0,0	4,7 a	1,0 a
RVTA - 281M (L)	0,5	0,0	4,8 a	0,8 b
M- 08 (L)	0,7	0,0	5,7 a	0,3 b
RVTA - 85R (L)	1,7	0,0	4,5 a	1,0 a
RVTA - 187R (L)	0,5	0,0	4,6 a	1,7 a
<b>CV (%)</b>	296,40	750,00	31,07	113,96
<b>p-value</b>	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
<b>C1 – Genótipos de alto AAs × baixo AAs</b>	0,08	0,03	-0,46	-0,45
<b>C2 – Genótipos de alto AAs × <i>S. pennellii</i></b>	1,39	0,03	3,25**	0,58
<b>C3 – Genótipos de baixo AAs × <i>S. pennellii</i></b>	0,5	0,0	3,13**	0,86*
<b>C4 – Genótipos de alto AAs × Redenção</b>	0,58	0,03	-0,42	-0,25

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. <sup>□</sup>Médias não diferem estatisticamente por meio do teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de agrupamento Dunn-Bonferroni, p<0,01. \*Contraste significativo a 5% de probabilidade. \*\*Contraste significativo a 1% de probabilidade. Fonte: o próprio autor.

Por meio dos contrastes C2 e C3, com os quais se compararam os genótipos de alto e baixo teores de acilacúcares com o acesso LA-716, se verificaram maior presença de adultos sobreviventes na face abaxial dos discos foliares. Na comparação número de ovos, observam-se valores positivos para genótipos de alto e baixo teor de acilacúcar (Tabela 10). Esses resultados confirmam o alto grau de resistência deste acesso.

No contraste C4 (Tabela 10), observa-se pela correlação negativa que o grupo de genótipos com elevado teor de acilacúcar apresentam maior mortalidade de artrópodes nos discos foliares comparado com o parental comercial ('Redenção'), indicando que há influência negativa do alequímico na sobrevivência do ácaro.

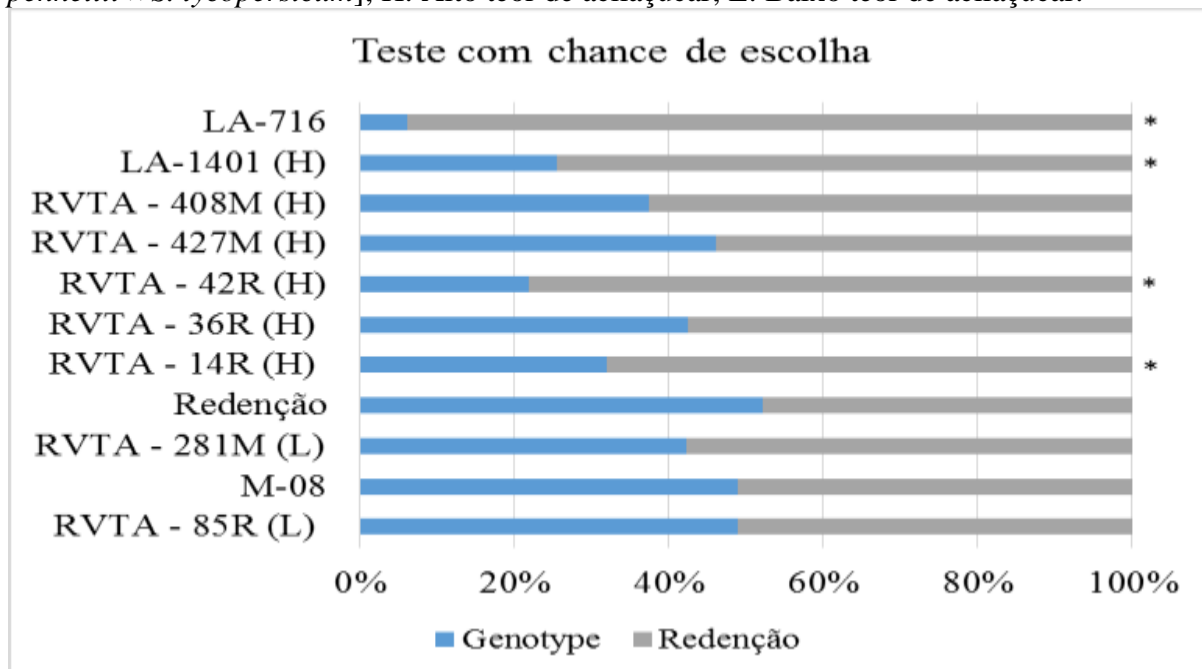
### 5.5.3 Bioensaio com Chance de Escolha

Neste bioensaio de preferência alimentar comparado com a cv. Redenção, houve diferença significativa na combinação LA-716 × 'Redenção', as fêmeas migraram para o parental comercial (94% dos ácaros) 24 horas após a liberação (Figura 3). Trabalhos relatam que as pragas possuem maior atratividade em espécies comerciais para alimentação (RESENDE *et al.*, 2021; DIAS *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2018; MALUF *et al.*, 2010).

Entre as combinações com o grupo de alto teor de acilacúcar, no acesso silvestre LA-1401 foram encontrados apenas 26% dos ácaros e os genótipos RVTA-42R (H) e RVTA-14R (H) destacaram-se e tiveram diferenças significativas (Figura 3), os ácaros escolheram o parental suscetível (78% e 68%, respectivamente). Confirmando que está presente o mecanismo de resistência do tipo antixenose ou não preferência. Estudos também revelaram os efeitos de antixenose quando as pragas entram em contato com o aleloquímico presente no folíolo (RESENDE *et al.* 2020; RESENDE *et al.* 2008; SILVA *et al.* 2016).

Não houve diferença significativa na avaliação considerando as combinações com os genótipos de baixo teor de acilacúcar, esses resultados indicam que esses genótipos foram favoráveis na atratividade dos ácaros.

**Figura 3** – Teste com chance de escolha em diferentes genótipos de tomateiro comparado com a ‘Redenção’. R: Retrocruzados com a ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.



\*Significativo a 5% por meio do teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de agrupamento Dunn-Bonferroni. Fonte: o próprio autor.

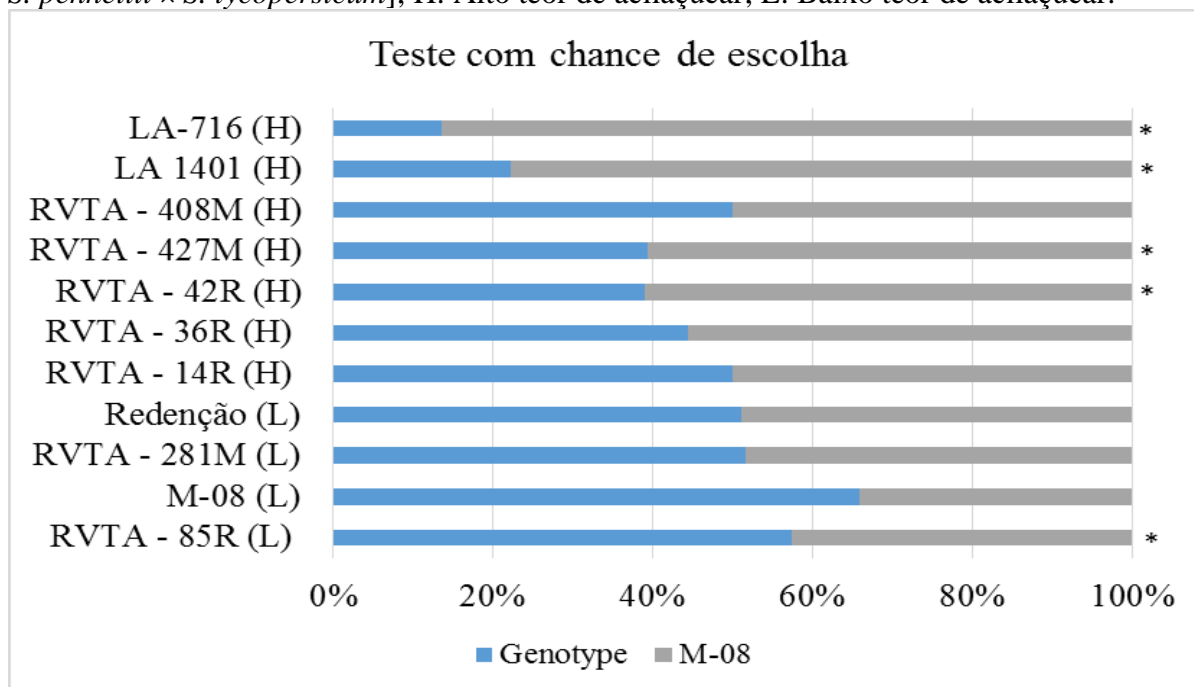
No teste com chance de escolha comparado com a linhagem M-08, na combinação LA-716 × M-08, houve diferença significativa, foram encontrados os menores números de ácaros no parental silvestre, apenas 14%. Com o acesso LA-1401, 74% dos ácaros preferiram o parental suscetível (Figura 4). Marchant *et al.* (2020), trabalhando com genótipos avançados de tomateiro obtidos do cruzamento entre *S. pennellii* × *S. lycopersicum*, observaram que a mosca branca possui preferência por linhagens comerciais comparado a genótipos com teores de acilaçúcares.

Entre as combinações com o grupo de alto teor de acilaçúcar (Figura 4), RVTA-42R (H) × M-08, obteve diferenças significativas, somente 39% dos ácaros foram encontrados no genótipo de alto teor, corroborando com o resultado anterior comparado com a ‘Redenção’. Na combinação RVTA-427M (H) × M-08, também tiveram diferenças significativas, a mesma porcentagem de ácaros foi encontrada no genótipo de alto teor de acilaçúcar (39%).

Nas combinações com os genótipos de baixo teor, somente RVTA-85R (L) × M-08 apresentaram diferenças significativas (Figura 4), sendo que 57% dos ácaros migraram para o genótipo de baixo teor. Esse resultado permite verificar a influência do aleloquímico na suscetibilidade ao ácaro rajado, sendo que o genótipo RVTA-85R (L) possui

menor teor de acilaçúcar comparado aos parentais suscetíveis ('Redenção' e M-08) (Tabela 9).

**Figura 4** – Teste com chance de escolha em diferentes genótipos de tomateiro comparado com a linhagem M-08. R: Retrocruzados com a 'Redenção' ( $F_2RC_4$ ); M:  $F_2 [(M-08 \times F_2RC_3) S. pennellii \times S. lycopersicum]$ ; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.



\*Significativo a 5% por meio do teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de agrupamento Dunn-Bonferroni. Fonte: o próprio autor.

#### 5.5.4 Avaliações e identificações de tricomas sob microscopia eletrônica de varredura

Na avaliação de tricomas presentes nos folíolos dos genótipos avançados de tomateiro para a contagem de tricomas glandulares, a espécie silvestre *S. pennellii* LA-716 foi a que apresentou a maior densidade (Figura 5A), tanto nas superfícies abaxial como adaxial (Tabela 11). O genótipo RVTA-36R (H), foi o que mais se aproximou do parental silvestre na face abaxial ( $4,0 \mu m^2$ ) (Figura 5B), seguido pelo genótipo RVTA-427M (H) ( $3,7 \mu m^2$ ). Esse resultado comprova que essas características são hereditárias em cada geração de retrocruzamento. Corroborando com os dados obtidos por Vosman *et al.* (2019), estudando a herança de densidades de tricomas glandulares verificou que essa característica possui alta herdabilidade e herança não complexa.

Para a variável tricomas glandulares totais (TTG), além do parental silvestre, os genótipos classificados como alto teor de acilaçúcar RVTA-36R (H) seguido por RVTA-427M (H), apresentaram maiores densidades desse tipo de tricoma ( $5,5$  e  $3,7 \mu m^2$ ),

diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 11), exceto do genótipo de baixo teor de acilaçúcar RVTA-281M (L), o qual foram identificadas altas densidades desse tricoma ( $3,7 \mu\text{m}^2$ ). Essa condição pode ser explicada pela possibilidade dos tricomas glandulares de produzir, secretar e armazenar, químicos naturais, incluindo diversos tipos de terpenoides, fenólicos e glicérides (LIU *et al.*, 2019). Para as solanáceas, os tricomas do tipo I e IV possuem a capacidade de produzir e exudar acilaçúcares (VENDEMIATTI *et al.*, 2021; FAN *et al.*, 2019; SCHUURINK; TISSIER, 2020), a principal substância responsável pela resistência de genótipos ao ácaro vermelho e mosca branca em tomateiro (MARINKE *et al.*, 2022; DIAS *et al.*, 2021).

Com relação aos tricomas não glandulares ou tectores (TNG), foram identificados na face abaxial em maior proporção nos genótipos RVTA-281M (L), RVTA-408M (H), RVTA-42R (H) e RVTA-14R (H). Na face adaxial, o genótipo RVTA-281M (L) diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, com a maior densidade desse tricoma ( $53,2 \text{ mm}^2$ ). No total de tricomas tectores (TTNG), a menor densidade foi identificada no acesso LA-716 ( $4,7 \text{ mm}^2$ ). Enquanto no genótipo RVTA-281M (L) com baixo teor de acilaçúcar, foram registradas altas densidades ( $171,7 \text{ mm}^2$ ), seguido dos genótipos RVTA-408M (H), RVTA-42R (H) e RVTA-14R (H). Os tricomas tectores são responsáveis pela barreira física contra as pragas. Entretanto, conforme relatado por Vendemiatti *et al.* (2017), os tricomas glandulares permitem a maior resistência da planta contra a herbivoria.

As maiores densidades de tricomas totais na face abaxial (TTAB) foram encontrados nos genótipos RVTA-408M (H), RVTA-281M (L) e RVTA-42R (H) e as menores densidades foram identificadas no parental comercial ‘Redenção’ (Tabela 11). Na face adaxial (TTAD), o parental comercial (‘Redenção’), obteve também menores densidades.

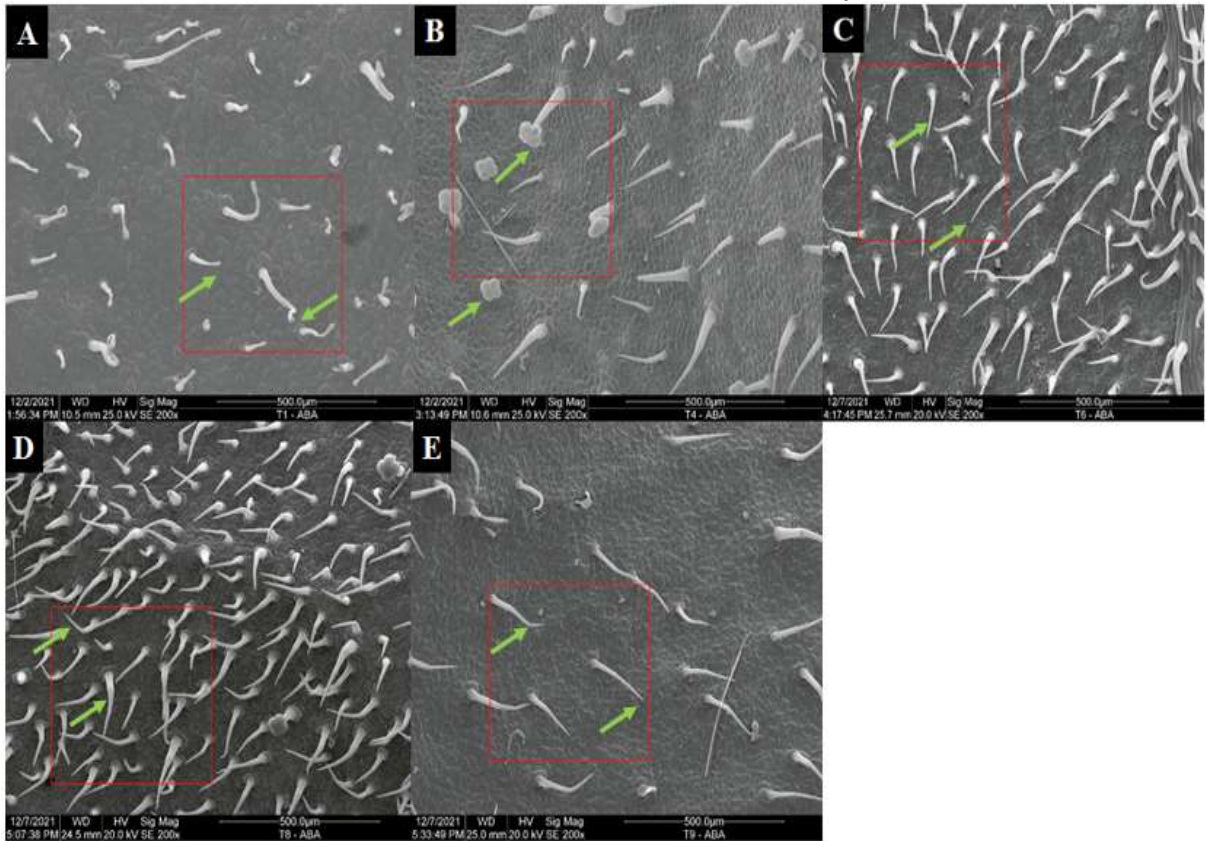
Considerando a variável totais de tricomas (TT), o genótipo RVTA-281M (L), mostrou a maior densidade, diferindo dos demais tratamentos, pois apresentou a maior proporção de tricomas não glandulares (Tabela 11, Figura 5D). Em seguida, destacaram os genótipos com alto teor de acilaçúcar RVTA-408M (H), RVTA-42R (H) e RVTA-14R (H), com altas densidades de tricomas.

O contraste C1, mostra pelo resultado negativo significativo que os genótipos classificados como baixo teor de acilaçúcar apresentaram maiores densidades de tricomas não glandulares (TTNG). Enquanto para a variável tricomas glandulares (TTG) observa-se valores positivos (Tabela 11), indicando que há relação com o teor de acilaçúcares com os tricomas glandulares.

Os contrastes C2 e C3 (Tabela 11), demonstram quando comparado com acesso LA-716, com os genótipos de alto e baixo teor, respectivamente, verifica-se para tricomas glandulares (TTG) valores negativos e significativos, e para tricomas não glandulares (TTNG) valores positivos e significativos, mostrando que a espécie silvestre possui maior densidade de tricomas glandulares em relação aos demais genótipos. De acordo com Vendemiatti *et al.* (2017); Andrade *et al.* (2017) as maiores densidades de tricomas glandulares, refletem na maior resistência das plantas a pragas. O que não foi possível verificar nesse trabalho, o genótipo RVTA-36 (H), classificado como alto teor de acilaçúcar apresentou altas densidades de tricomas glandulares (Tabela 11), porém não apresentou melhores resultados nos testes de resistência ao ácaro rajado. De acordo com Leckie *et al.* (2014), diferenças nas proporções de acilaçúcares totais (acilglicosés ou acilsacarídeos), permitem diferentes níveis de resistência a pragas.

No contraste C4 comparam os resultados obtidos para os genótipos de alto teor do aleloquímico com 'Redenção' (Tabela 11). Verifica-se que os genótipos de alto teor obtiveram densidades de tricomas glandulares e tectores superiores ao parental comercial (Figura 5E). A espécie comercial sofreu erosão gênica durante a domesticação, e apenas 5% da variabilidade genética permaneceram na espécie *S. lycopersicum* (NICK; BORÉM, 2016), o que contribui para a suscetibilidade do tomate cultivado. Desse modo, torna-se importante a introgressão de genes de espécies silvestres em genótipos comerciais (OLIVEIRA *et al.*, 2018), permitindo repassar características de defesa contra pragas para a espécie comercial, como tricomas glandulares que exsudam acilaçúcares.

**Figura 5** – Imagem mostrando tricomas foliares na superfície abaxial do folíolo de genótipos avançados de tomateiro sob microscópio eletrônico de varredura. *Solanum pennellii* LA-716 – A. RVTA-36R (H) – B. M-08 – C. RVTA-281M (L) – D. ‘Redenção’ – E.



Setas indicam tricomas glandulares do tipo I e VI nas figuras A e B, respectivamente. Setas indicam tricomas não glandulares nas figuras C, D e E. Fonte: o próprio autor.

**Tabela 11** – Resultados da análise de tricomas/ $\mu\text{m}^2$  e tricomas/ $\text{mm}^2$  nas faces adaxial e abaxial dos genótipos de tomateiro analisados neste trabalho, os tricomas foram separados por tipo (glandular e não glandular). TG: Tricoma glandular; TNG: Tricoma não glandular; TTG: Total tricoma glandular; TTNG: Total tricoma não glandular; TTAB: Total tricoma na face abaxial; TTAD: Total tricoma face adaxial; TT: Total tricoma; AB: Face abaxial; AD: Face adaxial; R: Retrocruzados com a ‘Redenção’ (F<sub>2</sub>RC<sub>4</sub>); M: F<sub>2</sub> [(M-08 × F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>) *S. pennellii* × *S. lycopersicum*]; H: Alto teor de acilaçúcar; L: Baixo teor de acilaçúcar.

Genótipo	TG		TNG		TTG	TTNG	TTAB	TTAD	TT TG +TNG
	AB	AD	AB	AD					
LA-716 (H)	7,5 a	6,7 a	2,3 e	2,7 c	14,2 a	4,7 e	9,5 e	9,5 c	19,0 e
RVTA - 408M (H)	1,0 c	1,0 b	12,1 a	11,5 c	2,0 c	134,7b	124,2 a	12,5 c	136,7 b
RVTA - 427M (H)	0,5 d	3,2 b	9,1 c	27,7 b	3,7 b	93,5 c	66,2 c	31,0 b	97,2 c
RVTA - 42R (H)	1,2 c	1,2 b	10,3 b	37,0 b	2,5 c	124,7b	89,0 b	38,2 b	127,2 b
RVTA - 36R (H)	4,0 b	1,5 b	5,4 d	33,5 b	5,5 b	53,5 d	24,0 d	35,0 b	59,0 d
RVTA - 14R (H)	0,2 d	2,2 b	9,6 c	34,7 b	2,5 c	110,0c	75,5 c	37,0 b	112,5 c
Redenção (L)	0,2 d	0,2 b	5,2 d	3,7 c	0,5 c	21,7 e	18,2 d	4,0 b	22,25 e
RVTA - 281M (L)	1,0 c	2,7 b	11,8 a	53,2 a	3,7 b	171,7a	119,5 a	56,0 a	175,5 a
M- 08 (L)	0,5 d	0,2 b	9,3 c	24,5 b	0,7 c	94,2 c	70,2 c	24,7 b	95,0 c
RVTA - 85R (L)	0,0 d	1,5 b	8,6 c	31,2 b	1,5 c	89,7 c	58,5 c	32,7 b	91,2 c
<b>CV (%)</b>	22,4	78,3	7,76	23,24	50,8	14,68	7,62	20,63	13,89
<b>C1 – Genótipos de alto AAs × baixo AAs</b>	0,9**	0,35	-7,8*	-7,4**	1,2*	-15,2*	-6,9*	-7,1**	-14,0**
<b>C2 – Genótipos de alto AAs × <i>S. pennellii</i></b>	-6,1**	-4,9**	72,4**	26,1**	-11,0**	98,5**	66,3**	21,25**	87,5**
<b>C3 – Genótipos de baixo AAs × <i>S. pennellii</i></b>	-7,0**	-5,25**	80,2**	33,5**	-12,2**	113,8**	73,2**	28,3**	101,5**
<b>C4 – Genótipos de alto AAs × Redenção</b>	1,15*	1,6	56,4**	25,1**	2,75*	81,5**	57,5**	26,7**	84,3**

Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. \*Contraste significativo a 5% de probabilidade.

\*\*Contraste significativo a 1% de probabilidade. Fonte: o próprio autor.

Pela análise de componentes principais foi possível distinguir os grupos de genótipos de altos teores de acilaçúcares com maior similaridade com o acesso LA-716, padrão de resistência, em oposição com os grupos de genótipos de baixos teores de açilaçúcares, com similaridade com os parentais de suscetibilidade, cultivar Redenção e linhagem M-08 (Figura 6). A ACP1 e ACP2 explicaram, em conjunto, 73,70% da variância dos dados.

O grupo exposto no segundo quadrante, formado somente pela espécie *S. pennellii* LA-716 (Figura 6), juntamente com os vetores relacionados a teores de acilaçúcares e densidades de tricomas glandulares totais no folíolo, indicam que essas características possuem maior similaridade com o acesso silvestre comparado aos demais genótipos. Esses tricomas presentes em maior densidade na espécie silvestre dificultam a movimentação dos ácaros, devido à liberação do exsudado pegajoso, acilaçúcar, que ajudam no controle de ácaros (SAVI *et al.*, 2019; RAKHA *et al.*, 2017), inclusive, podendo ficar aprisionados entre os tricomas (MARINKE *et al.*, 2022).

Os genótipos RVTA-42R (H), RVTA-14R (H), RVTA-408M (H), RVTA-427M (H), RVTA-36R (H) com alto teor de acilaçúcar compõem o mesmo grupo, expostos no primeiro quadrante, possuem relação com os vetores relacionados à identificação de tricomas totais e tricomas não glandulares nas superfícies dos folíolos, sendo inversamente correlacionados com os vetores referentes aos parâmetros de suscetibilidade ao ácaro, exceto o genótipo RVTA-36R (H), demonstrado no terceiro quadrante. Assim possuem maior tolerância ao ácaro comparado com o padrão de suscetibilidade.

O genótipo RVTA-281M (L), também exposto no primeiro quadrante, possui relação com as características descritas acima e com maior tolerância ao ácaro comparado aos parentais suscetíveis (Figura 6). Entretanto, possui baixo teor de acilaçúcar, assim ocupando um grupo distinto. Esse resultado permite confirmar a hipótese de que altas densidades de tricomas tectores contribuem no controle de pragas. Contudo, estudos futuros com esse genótipo são necessários para averiguar a interferência de algum outro aleloquímico.

Em contrapartida, o último grupo apresentado no quarto quadrante obteve relação com os vetores relacionados a suscetibilidade ao ácaro rajado, sendo oposto aos vetores relacionados a densidades de tricomas glandulares e teores do aleloquímico. O genótipo RVTA-85R (L) possui maior semelhança com os parentais suscetíveis M-08 e ‘Redenção’, devido não alterar o comportamento da praga nos bioensaios realizados.

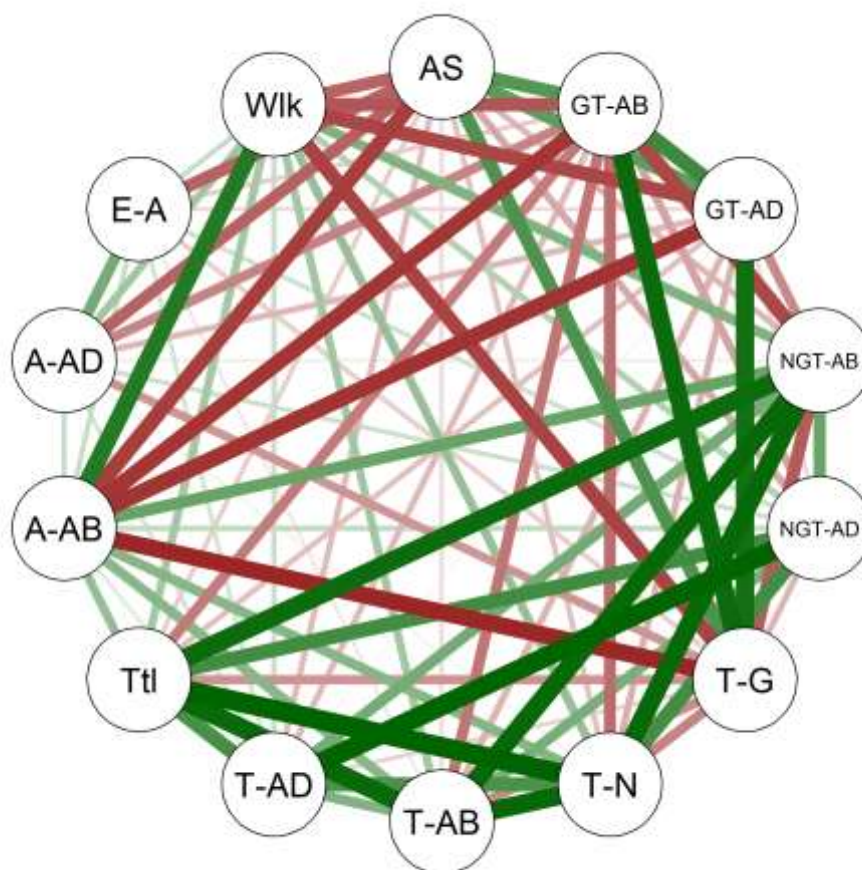


apresentaram correlação negativa com os dados referentes à resistência ao ácaro rajado A-AB; A-AD; Wlk e E-A. Os resultados permitem verificar que os níveis de acilaçúcares nos folíolos do tomateiro influenciaram negativamente no comportamento da praga, como também foi observado por Resende *et al.* (2021); Dias *et al.* (2019) e Maluf *et al.* (2010). Permitindo inferir os mecanismos de resistência do tipo antixenose e antibiose (LUCINI *et al.*, 2015).

A densidade de tricomas não glandulares totais (T-N) teve correlação positiva com NGT-AB; NGT-AD; Ttl; T-AB; T-AD; A-AB e Wlk, demonstrando que esse tricoma não influenciou negativamente no comportamento da praga nos folíolos, quando comparado com tricomas glandulares totais (T-G). Além disso, o número total de tricomas teve correlação fraca com caminhamento do ácaro, indicando que os tricomas glandulares são os que apresentam maior potencial para controle de pragas.

Nesse contexto, encontrar genótipos com tolerância maior ao ácaro rajado é necessário para evitar ou diminuir as aplicações de fitossanitários, colaborando para um sistema mais sustentável. Os genótipos avançados selecionados com alto teor de acilaçúcar RVTA-2010-31-177-177-325-pl#42R; RVTA-2010-31-319-214-238-pl#427M e RVTA-2010-31-177-177-325-pl#14R demonstraram melhores resultados na incidência de *T. urticae*, demonstrando potencial para avançar no programa de melhoramento de tomate para obtenção de cultivares.

**Figura 7** – Rede de correlações de Pearson entre características avaliadas em genótipos avançados de tomateiro. Linhas vermelhas representam correlações negativas e as verdes positivas. A espessura da linha é proporcional à magnitude da correlação. AS: Teor de acilaçúcar; T-G: Total de tricomas glandulares; GT-AB: Tricomas glandulares na face abaxial; GT-AD: Tricomas glandulares na face adaxial; T-N: Total de tricomas não glandulares; NGT-AB: Tricomas não glandulares na face abaxial; NGT-AD: Tricomas não glandulares na face adaxial; T-AB: Total de tricomas na face abaxial; T-AD: Total de tricomas na face adaxial; Ttl: Total de tricomas (GT+NGT); A-AB: Ácaros adultos sobreviventes por disco foliar na face abaxial; A-AD: Ácaros adultos sobreviventes por disco foliar na face adaxial; E-A: Ovos de ácaros encontrados na face abaxial dos folíolos; Wlk: Média do caminhamento de ácaros.



Fonte: o próprio autor.

## 5.6 CONCLUSÕES

Os tricomas glandulares presentes nos folíolos de genótipos avançados de tomateiro, possuem relação direta com o teor do aleloquímico acilaçúcar e permitem a maior tolerância ao *T. urticae*. O RVTA-2010-31-177-177-325-pl#42R; RVTA-2010-31-319-214-238-pl#427M e RVTA-2010-31-177-177-325-pl#14R se destacaram por apresentarem maior resistência ao ácaro-rajado.

## 6 CONCLUSÕES GERAIS

Os genótipos avançados de tomateiro RVTA-2010-31-177-177-325-pl#42R; RVTA-2010-31-319-214-238-pl#427M e RVTA-2010-31-177-177-325-pl#14R com altos teores de acilacúcares e derivados de *S. lycopersicum* L. × *S. pennellii* LA-716 são resistentes ao ácaro rajado.

Entre os genótipos resistentes RVTA pl#14R possui a maior similaridade com o parental recorrente, seguido por RVTA pl#42R e RVTA pl#427M. Sendo assim, os mais indicados para dar continuidade ao programa de melhoramento, visando a obtenção de uma linhagem isogênica.

O acesso LA-716 foi o mais resistente em todos os experimentos realizados, mesmo comparado com *S. galapagense* LA-1401. Foi observada que os genótipos de alto teor prejudicam o comportamento do ácaro rajado, possuindo tolerância maior que os genótipos de baixo teor e os parentais suscetíveis, 'Redenção' e M-08.

A correlação foi negativa para o teor de acilacúcares e os parâmetros de resistência realizados com o ácaro rajado, demonstrando que esse aleloquímico influencia negativamente no comportamento da praga nos folíolos de tomateiro.

Os tricomas glandulares presentes nos folíolos de genótipos avançados de tomateiro, possuem relação direta com o teor de acilacúcar e permitem a maior tolerância ao ácaro rajado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCSEM, Associação Brasileira do Comercio de Sementes e Mudanças. **Tomicultura: valioso segmento do agronegócio nacional**. 2019. Disponível em: <<http://www.abcsem.com.br/releases/2420/tomicultura-valioso-segmen-to-do-agronegocio-nacional>>. Acesso em: 20 de jun. 2020.

AGUILERA, J. G.; PESSONI, L. A.; RODRIGUES, G. B.; ELSAYED, A. Y.; DA SILVA, D. J.; DE BARROS, E. G. Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicon Mill.*). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 2, p. 243-252, 2011.

ALMEIDA, I. P.; ASTUDILLO, M. R.; LITARDO, R.M.; ROSALES, G. S.; DASCON, A. F.; CASTILLO, T.S. Evaluación molecular de genotipos de tomate por su resistencia a meloidogyne incognita, fusarium oxysporum y ralstonia solanacearum con fines de mejoramiento. **Bioagro**, v. 28, n. 2, p. 107–116, 2016.

AL-SHAAL, A.; MURSHED, R. A.; ALBISKI, F. A. Molecular characterization of some tomato genotypes using inter simple sequence repeats (ISSR) technique. **Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation**, v. 9, n. 1, p. 134-142, 2021.

ALVARENGA, M.A.R. Origem, botânica e descrição da planta. In: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras, MG - 2ª Ed. Lavras. Editora Universitária de Lavras, 455p, 2012.

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. 2. ed. Lavras: UFLA, 457 p., 2013.

ANDRADE, M. C.; SILVA, A. A. da; NEIVA, I. P. Inheritance of type IV glandular trichome density and its association with whitefly resistance from *Solanum galapagense* accession LA1401. **Euphytica**, v. 213, n. 2, p. 52, 2017.

BAIER, J.E.; RESENDE, J.T.V.; FARIA, M.V.; SCHWARZ, K; MEERT, L. Indirect selection of industrial tomato genotypes that are resistant to spider mites (*Tetranychus urticae*). **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 1, p. 244–252, 2015. <https://doi.org/10.4238/2015.January.16.8>.

BERNARDI, D.; BOTTON, M.; NAVA, D.E.; ZAWADNEAK, M.A.C. Guia para a identificação e monitoramento de pragas e seus inimigos naturais em morangueiro. **Embrapa Uva e Vinho-Livro científico** (ALICE), 2015.

BOIÇA JÚNIOR, A.L.; BOTTEGA, D.B.; LOURENÇÃO, A.L.; RODRIGUES, N.E.L. Não preferência para oviposição e alimentação por *Tuta absoluta* (Meyrick) em genótipos de tomateiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 4, p. 541-548, 2012.

BRAKE, Mohammad H. *et al.* Assessment of genetic variability among Jordanian tomato landrace using inter-simple sequence repeats markers. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 1, 2021.

DE SOUSA CARDOSO, Thaís Cunha *et al.* Genome-wide identification and characterization of genes involved in the acylsugar pathway in tomato. **Plant Gene**, v. 28, p. 100322, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2021.100322>.

DIAS, D. M., CORTE, L. E. D., RESENDE, J. T. V., ZEFFA, D. M., RESENDE, N. C. V., ZANIN, D. S., & LIMA FILHO, R. B. D. Acylsugars in tomato varieties confer resistance to the whitefly and reduce the spread of fumagine. **Bragantia**, v. 80, 2021.

DIAS, D. M.; RESENDE, J. T. V.; FARIA, M. V.; CAMARGO, L. K. P.; CHAGAS, R. R.; LIMA, I. P. Selection of processing tomato genotypes with high acyl sugar content that are resistant to the tomato pinworm. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 1, p. 381–389, 2013.

DIAS, D. M.; de RESENDE, J. T.; ZEIST, A. R.; GABRIEL, A.; Santos, M. H.; Vilela, N. C. Resistance of processing tomato genotypes to leafminer (*Tuta absoluta*). **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 1, p. 40-46, 2019. <https://doi.org/10.1590/S0102-053620190106>.

EL-MANSY, A. B.; EL-MONEIM, A.; ALSHAMRANI, S. M.; ALSAFHI, F. A.; ABDEIN, M. A. & IBRAHIM, A. A. Genetic diversity analysis of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) with morphological, cytological, and molecular markers under heat stress. **Horticulturae**, v. 7, n. 4, p. 65, 2021.

FAN, P., LEONG, B. J., & LAST, R. L. Tip of the trichome: evolution of acylsugar metabolic diversity in Solanaceae. **Current opinion in plant biology**, v. 49, p. 8-16, 2019.

FANCELLI M.; VENDRAMIM J.D.; FRIGHETTO R.T.S.; LOURENÇÃO A.L. Exsudato glandular de genótipos de tomateiro e desenvolvimento de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Sternorrhyncha: Aleyrodidae) biotipo B [Glandular exudate of tomato genotypes and development of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Sternorrhyncha: Aleyrodidae) biotype B]. **Neotrop Entomol**, v. 34, p. 659–665, 2005.

FAO - FAOSTAT – The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical on the United Nations. **Database Results** of 2020. 2022. Disponível em: <<http://fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 17 jan. 2022.

FAO - The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical on the United Nations Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas. **Resultados do banco de dados**. 2015. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.

FERRAZ, E.; RESENDE, L.V.; LIMA, G.S.A.; SILVA, M.C.L.; FRANÇA, J.G.E.; SILVA, D.J. Redenção: nova cultivar de tomate para a indústria resistente a geminivírus e tospovírus. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 578-580, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FIGUEIREDO, A.S.T.; RESENDE, J.T.V.; FARIA, M.V.; Da-SILVA, P.R.; FAGUNDES, B.S.; MORALES, R.G.F.; Prediction of industrial tomato hybrids from agronomic traits and ISSR molecular markers. **Genetic Molecular Research**, v.15, 2016.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. ed. 3. Viçosa, MG, UFV, 2013. p. 421. 2013.

FIRDAUS, S., VAN HEUSDEN, AW, HIDAYATI, N., SUPENA, EDJ, MUMM, R., DE VOS, RC, ... & VOSMAN, B. Identificação e mapeamento de QTL de componentes de resistência à mosca branca em *Solanum galapagense* **Genética Teórica e Aplicada**, v. 126, n. 6, p. 1487-1501, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2067-z>.

FLECHTMANN, C. H.; BAKER, E. W. A preliminary report on the Tetranychidae (Acarina) of Brazil. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 63, n. 1, p. 156-163, 1970.

FREITAS, J.A.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; GOMES, L.A.A.; BEARZOTTI, E. Inheritance of foliar zingiberene contents and their relationship to trichome densities and whitefly resistance in tomatoes. **Euphytica**, Wageningen, v. 127, n. 2, p. 275-287, 2002.

GEIST, D. On the emergence and subemergence of the Galápagos Islands. Notícias de Galápagos, **Galápagos**, v. 56, p. 5-9, 1996.

GOMES, A.C.S.; CARDOSO, M.G.; RESENDE, J.V.; THOMASI, S.S.; SOARES, L.I.; FERREIRA, A.G. Acilaçúcares sintéticos e seu efeito no controle de artrópodes-praga. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 2, 201–208, 2017. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017412031416>.

GRBIC, M.; VAN LEEUWEN, T.; CLARK, R. M.; ROMBAUTS, S.; ROUZÉ, P.; GRBIĆ, V.; OSBORNE, E. J.; DERMAUW, W.; NGOC, P. C. T.; ORTEGO, F.; HERNÁNDEZ-CRESPO, P.; DIAZ, I.; MARTINEZ, M.; NAVAJAS, M.; SUCENA, É.; MAGALHÃES, S.; NAGY, L.; PACE, R. M.; DJURANOVIĆ, S.; ... VAN DE PEER, Y. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. **Nature**, v. 479, n. 7374, 487–492. 2011. <https://doi.org/10.1038/nature10640>.

HEFFERON, K. L. Can Biofortified Crops Help Attain Food Security? **Current Molecular Biology Reports**, v. 2, n. 4, p. 180–185, 2016. <https://doi.org/10.1007/s40610-016-0048-0>.

HENAREH, M.B; ABDOLLAHI, H.K. Assessment of genetic diversity in tomato landraces using ISSR markers. **Genetika**, v. 48, n. 1, p. 25-35. 2016.

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.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Safra 2020, Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: < [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag\\_2021\\_jan.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2021_jan.pdf) >. Acesso em: 18 jul. 2021.

KIANI, Ghaffar; SIAHCHEHREH, Mohammad. Genetic diversity in tomato varieties assessed by ISSR markers. **International Journal of Vegetable Science**, v. 24, n. 4, p. 353-360, 2018.

LECKIE, B. M.; DE JONG, D. M.; & MUTSCHLER, M. A. Quantitative trait loci increasing acylsugars in tomato breeding lines and their impacts on silverleaf whiteflies. **Molecular Breeding**, v. 30, n. 4, p. 1621-1634, 2012.

LECKIE, B. M., HALITSCHKE, R., DE JONG, D. M., SMEDA, J. R., KESSLER, A., & MUTSCHLER, M. A. Quantitative trait loci regulating the fatty acid profile of acylsugars in tomato. **Molecular Breeding**, v. 34, n. 3, p. 1201-1213, 2014.

LI, Z.; KUND, G.; DE JONG, D. M.; FENG, X.; MUTSCHLER, M. A.; TRUMBLE, J. T. Effects of High-Level Acylsugar-Producing Tomato Lines on the Development of Tomato Psyllids (Hemiptera: Trioziidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 20, n. 20, p. 6, 2019.

LIMA FILHO, R. B. de. **Seleção de genótipos F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub> de tomateiro para processamento com altos teores de acilaçúcares e resistentes a artrópodes-praga**. Guarapuava: UNICENTRO, 2019. 55p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

LIMA, I.P.; RESENDE, J.T.; OLIVEIRA, J.R.; FARIA, M.V.; DIAS, D.M.; RESENDE, N.C. Selection of tomato genotypes for processing with high zingiberene content, resistant to pests. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 387–391, 2016. <https://doi.org/10.1590/s0102-05362016003013>.

LIU, Y.; JING, S. X.; LUO, S. H.; LI, S. H. Non-volatile natural products in plant glandular trichomes: chemistry, biological activities and biosynthesis. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 4, p. 626-665, 2019.

LUCATTI, A. F.; HEUSDEN, A.-W. van. VOS, RCH de; VISSER, RGF; VOSMAN, B. Differences in insect resistance between tomato species endemic to the Galapagos Islands. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, p. 75, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-175>.

LUCINI, T.; FARIA, M. V.; ROHDE, C.; RESENDE, J. T. V.; DE OLIVEIRA, J. R. F. Acylsugar and the role of trichomes in tomato genotypes resistance to *Tetranychus urticae*. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 45-53, 2015.

LUCKWILL, L.C. The genus *Lycopersicon*: an historical, biological, and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes. Aberdeen: **Aberdeen University Press**, 44. 1943.

LUZ, J. M.; BITTAR, C. A.; OLIVEIRA, R. C.; NASCIMENTO, A. R.; NOGUEIRA, A. P. Desempenho e divergência genética de genótipos de tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 483–490, 2016. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620160406>.

MACIEL, G. M.; MARQUEZ, G. R.; DA SILVA, E. C.; ANDALÓ, V.; BELLOTI, I. F. Tomato genotypes with determinate growth and high acylsugar content presenting resistance to spider mite. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 1–8, 2018. <https://doi.org/10.1590/1984-70332018v18n1a1>.

MAGAÑA, E. C.; POZOS, H. A.; ARREOLA J. A.; DEL-CASTILLO, F.S.; PÉREZ, E. C. M. Caracterización morfológica de la diferenciación floral en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Revista Chapingo, **Serie Horticultura**, v. 19, n. 4, p. 59–70, 2013. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.02.010>.

MAHFOUZE, Heba; MAHFOUZE, Sherin. Gene Based Markers in Marker-Assisted Selection to Screen Tomato Genotypes Resistant to Fusarium Wilt, Late Blight, Verticillium Wilt, Leaf Mold, Bacterial Spot and Bacterial Speck. **Research Square**. 2021.

MAHMOUD, M.H.; JONES, R.A.; EL-BELTAGY, A.S. Comparative responses to high salinity between salt-sensitive and salt-tolerant genotypes of the tomato. **Acta Hort**, v. 190, p. 533–544, 1986. doi:10.17660/ActaHortic.1986.190.62.

MALUF W.R.; MACIEL G.M.; GOMES L.A.A.; CARDOSO M.G.; GONÇALVES L.D.; SILVA E.C.; KNAPP M. Broad-spectrum Arthropod resistance in hybrids between high- and low-acylsugar tomato lines. **Crop Science**, v. 50, p. 439–450, 2010.

MARCHANT, W. G.; LEGARREA, S.; SMEDA, J. R.; MUTSCHLER, M. A.; & SRINIVASAN, R. Evaluating Acylsugars-Mediated Resistance in Tomato against *Bemisia tabaci* and Transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Virus. **Insects**, v. 11, n. 12, pág. 842, 2020.

MARINKE, L.S.; DE RESENDE; J.T.V.; HATA, F.T. *et al.* Selection of tomato genotypes with high resistance to *Tetranychus evansi* mediated by glandular trichomes. **Phytoparasitica**, p. 1-15, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12600-022-00984-6>.

MARTINS, K.; CHAVES, L.; VENCOVSKY, R.; & KAGEYAMA, P. Y. Genetic structure based on nuclear and chloroplast microsatellite loci of *Solanum lycocarpum* A. St. Hil. (Solanaceae) in Central Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, p. 665-677, 2011. doi: <https://doi.org/10.4238/vol10-2gmr1046>.

MECK, E.D.; KENNEDY, G.G.; WALGENBACH, J.F. Effect of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on yield, quality, and economics of tomato production. **Crop Protection**, v. 52, p. 84–90, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.05.011>.

MIRONDO, R.; BARRINGER, S. Improvement of Flavor and Viscosity in Hot and Cold Break Tomato Juice and Sauce by Peel Removal. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 1, p. 171-179, 2015.

MOURA, A. P. Manejo do Ácaro-rajado e de Tripes em Morangueiro no Distrito Federal. **Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico** (INFOTECA-E), 2015.

MOURA, A.P.; MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J.A.; LIZ, R.S. Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial. **Embrapa Hortaliças**, 129, 2-6. 2014.

MORAES, G.J; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de acarologia**. Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos Editora, 308 p. 2008.

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

OLIVEIRA, J. R. F.; RESENDE, J. T. V.; FILHO, R. B. L.; ROBERTO, S. R.; SILVA, P. R.; RECH, C.; NARDI, C. Tomato breeding for sustainable crop systems: High levels of zingiberene providing resistance to multiple arthropods. **Horticulturae**, v. 6, n. 2, p. 1–14. 2020. <https://doi.org/10.3390/horticulturae6020034>.

OLIVEIRA, J.R.F.; RESENDE, J.T.V.; MALUF, W.R.; LUCINI, T.; LIMA FILHO, R.B.; LIMA, I.P.; NARDI, C. Trichomes and allelochemicals in tomato genotypes have antagonistic effects upon behavior and biology of *Tetranychus urticae*. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1–9. 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01132>.

OZTURK, HALIL IBRAHIM. Morphological and Molecular Characterization of Some Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Genotypes Collected From Erzincan Province of Turkey. **Molecular Biology Reports**. 2022.

PASPATI, A.; RAMBLA, J. L.; GRESA, M. P. L.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A.; GRANELL, A.; ... & URBANEJA, A. Tomato trichomes are deadly hurdles limiting the establishment of *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). **Biological Control**, v. 157, p. 104572, 2021.

PEIXOTO, J. M. V.; CARDOSO, A. F.; LANA, R. M. Q.; NASCIMENTO, A. R. Establishing diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) for industrial use of tomato. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 2, p. 193–198, 2017. <https://doi.org/10.21475/ajcs.17.11.02.p249>.

PERALTA, I. E.; SPOONER, D. M.; KNAPP, S. **Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (Solanum sect. Lycopersicoides, sect. Juglandifolia, sect. Lycopersicon; Solanaceae)**. Systematic botany monographs, v. 84, 2008.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. 2021. Disponível em <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 21 jan. 2022.

RAKHA, M.; BOUBA, N.; RAMASAMY, S.; REGNARD, J-L.; HANSON, P. Evaluation of wild tomato accessions (*Solanum* spp.) for resistance to two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) based on trichome type and acylsugar content. **Genetic Research Crop Evolution**, v. 64, p. 1011–1022, 2017.

RESENDE, J. T. V.; CARDOSO, M. G.; MALUF, W. R.; SANTOS, C. D.; GONÇALVES, L. D.; RESENDE, L. V.; NAVES, F. O. Método colorimétrico para quantificação de acilaçúcar em genótipos de tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6, p. 1204-1208, 2002.

RESENDE, J. T. V.; DIAS, D. M.; CORTE, E. D.; CONSTANTINO, L. V.; VENTURA, M. U.; DE LIMA FILHO, R. B., ... & DA-SILVA, P. R. The introgression of resistance to *Tuta absoluta* in tomato based on glandular trichomes. **Arthropod-Plant Interactions**, p. 1-13, 2021.

RESENDE, J.T.V.; MALUF W.R.; CARDOSO M.G.; FARIA M.V.; GONÇALVES L.D.; NASCIMENTO I.R. Resistance of tomato genotypes with high level of acylsugars to *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard. **Scientia Agricola**, v. 65, p. 31–35, 2008.

RESENDE, J.T.V.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; GONÇALVES, L.D.; FARIA, M.V.; NASCIMENTO, I.R. DO. Resistance of tomato genotypes to the silverleaf whitefly mediated by acylsugars. **Horticultura brasileira**, v. 27, n. 3, p. 345-348, 2009.

RESENDE, N.C.V.; SILVA, A.A.; MALUF, W.R.; RESENDE, J.T.V.; ZEIST, A.R.; GABRIEL, A. Selection of tomato lines and populations for fruit shape and resistance to tomato leafminer. **Horticultura Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 117–125, 2020. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620200202>.

RIAHI, A.; HDIDER C.. Bioactive compounds and antioxidant activity of organically grown tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars as affected by fertilization. **Scientia Horticulturae**, v. 151, p. 90-96, 2013.

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

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.

SANTOS, N.C.; MARQUEZ, G.R.; MACIEL, G.M.; PEREIRA, L.M.; PERES, H.G. PEIXOTO, J.V.M. Resistance of round tomato genotypes with determinate growth habit to two-spotted spider mites and silverleaf whitefly. **Bioagro**, v. 32, n. 1, p. 15–22, 2020.

SAVI, P. J., DE MORAES, G. J., MELVILLE, C. C., & ANDRADE, D. J. Population performance of *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae) on African tomato varieties and wild tomato genotypes. **Experimental and Applied Acarology**, v. 77, n. 4, pág. 555-570, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10493-019-00364-6>. 2019.

SCHUURINK, R., & TISSIER, A. Glandular trichomes: micro-organs with model status?. **New Phytologist**, v. 225, n. 6, p. 2251-2266, 2020.

SEKI, Kousuke. Leaf-morphology-assisted selection for resistance to two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in carnations (*Dianthus caryophyllus* L). **Pest Management Science**, v. 72, n. 10, p. 1926-1933, 2016.

SHARMA, K.; MISHRA, A. K.; MISRA, R. S. A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 8, 2008.

SILVA, A. A. DA; ANDRADE, M. C.; CARVALHO, R. DE C.; NEIVA, I. P.; SANTOS, D. C.; MALUF, W. R. Resistência à *Helicoverpa armigera* em genótipos de tomateiro obtidos do cruzamento de *Solanum lycopersicum* com *Solanum galapagense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 801–808, 2016.

SILVA JUNIOR, A. R.; RIBEIRO, W. M.; NASCIMENTO, A. D. R.; SOUZA, C. B. D. Cultivo do tomate industrial no estado de Goiás: evolução das áreas de plantio e produção. **Conjuntura Econômica Goiana**, v. 34, n. 1, p. 97-109, 2015.

- STRICKLER, SUSAN R.; BOMBARELY, A.; MUNKVOLD, J. D.; YORK, T.; MENDA, N.; MARTIN, G. B.; MUELLER, L. A. Comparative genomics and phylogenetic discordance of cultivated tomato and close wild. **PEERJ**, v. 3, p. e793, 2015.
- STOUT, Michael J.; KURABCHEW, Henok; LEITE, Germano Leão Demolin. Host-plant resistance in tomato. In: **Sustainable Management of Arthropod Pests of Tomato**. Academic Press, p. 217-236. 2018.
- TAYLOR, I.B. Biosystematics of the tomato. In: ATHERTON, J.G.; RUDICH, J. (Ed.). **The tomato crop**. New York: Chapman and Hall, v. 1, p. 1-34, 1986.
- TREICHEL, M.; CARVALHO, C.; FILTER, C.F.; BELING, R.R. **Anuário Brasileiro do Tomate**. Editora Gazeta, Cruz, Santa do Sul. 84 p. 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents>>. Acesso em: 22 jul. 2020.
- VENDEMIATTI, E., THEREZAN, R., VICENTE, M. H., DE SIQUEIRAPINTO, M., BERGAU, N., YANG, L., ...& PERES, L. Introgression of type-IV glandular trichomes from *Solanum galapagense* to cultivated tomato reveals genetic complexity for the development of acylsugar-based insect resistance. **BioRxiv**, 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.06.18.448858>.
- VENDEMIATTI, E.; ZSÖGÖNB, A.; SILVA, G. F. F. e; *et al.* Loss of type-IV glandular trichomes is a heterochronic trait in tomato and can be reverted by promoting juvenility. **Plant Science**, n. 259 p. 35–47, 2017.
- VILLAND, J. P.W.; SKROCH, T.; LAI, P.; HANSON, C.G.; KUO, J.; NIENHUIS. Genetic variation among tomato accessions from primary and secondary centers of diversity. **Crop Science**. v. 38, n. 5, p. 1339-1347, 1998.
- VOSMAN, Ben *et al.* QTL mapping of insect resistance components of *Solanum galapagense*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, n. 2, p. 531-541, 2019.
- WESTON, P. A.; SNYDER, J. C. Thumbtack Bioassay: A Quick Method for Measuring Plant Resistance to Twospotted Spider Mites (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 2, p. 500-504, 1990.
- ZANIN, D. S., DE RESENDE, J. T. V., ZEIST, A. R., DE LIMA FILHO, R. B., GABRIEL, A., DINIZ, F. C. P., & MORALES, R. G. F. Selection of F<sub>2</sub>BC<sub>1</sub> tomato genotypes for processing containing high levels of zingiberene and resistant to tomato pinworms. **Phytoparasitica**, v. 49, n. 2, p. 265-274, 2021. <https://doi.org/10.1007/s12600-020-00852-1>.
- ZANIN, D. S.; RESENDE, J. T.; ZEIST, A. R.; OLIVEIRA, J. R.; HENSCHER, J. M.; LIMA FILHO, R. B. Selection of processing tomato genotypes resistant to two spotted spider mite. **Horticultura Brasileira**, v. 36, n. 1, p. 271-275, 2018.