

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS**  
**PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**ERIKA BELOTTI MERÍSIO**

**ESTUDO ANATÔMICO DAS RACHADURAS EM TOMATE TIPO  
GRAPE E OS EFEITOS DE SUPLEMENTAÇÃO COM CÁLCIO E  
BORO EM ATRIBUTOS LIGADOS À FIRMEZA**

VITÓRIA-ES

2022

ERIKA BELOTTI MERÍSIO

**ESTUDO ANATÔMICO DAS RACHADURAS EM TOMATE TIPO  
GRAPE E OS EFEITOS DE SUPLEMENTAÇÃO COM CÁLCIO E  
BORO EM ATRIBUTOS LIGADOS À FIRMEZA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre/Doutor em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Camilla Rozindo Dias Milanez

Coorientador: Dr. Leonardo Valandro Zanetti

VITÓRIA – ES

2022

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

M561 e Merísio, Erika Belotti, 1993-  
Estudo anatômico das rachaduras em tomate tipo grape e os efeitos de suplementação com cálcio e boro em atributos ligados à firmeza / Erika Belotti Merísio. - 2022.  
86 f. : il.

Orientadora: Camilla Rozindo Dias  
Milanez. Coorientador: Leonardo  
Valandro Zanetti.  
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) -  
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de  
Ciências Humanas e Naturais.

1. Tomate. 2. Qualidade. 3. Pesquisa agrícola. 4. Agronomia.  
5. Tecidos vegetais. I. Milanez, Camilla Rozindo Dias.  
II. Zanetti, Leonardo Valandro. III. Universidade  
Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências  
Humanas e Naturais. IV. Título.

---

CDU: 5

**ERIKA BELOTTI MERÍSIO**

**“Estudo anatômico das rachaduras em tomate tipo grape e os efeitos de suplementação com cálcio e boro em atributos ligados à firmeza”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Aprovada em 25 de agosto de 2022.

Comissão Examinadora:

**Profª Drª Camilla Rozindo Dias Milanez – (PPGBV- UFES)**

Orientadora e Presidente da Comissão Examinadora

**Dr. Leonardo Valandro Zanetti**

Coorientador

**Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto – (PPGBV- UFES)**

Examinador Titular Interno

**Prof. Dr. Luiz Fernando Ganassali de Oliveira Júnior – (UFS)**

Examinador Titular Externo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo



Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
CAMILLA ROZINDO DIAS MILANEZ - SIAPE 2578589  
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN  
Em 23/09/2022 às 11:52

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/567276?tipoArquivo=O>



Documento assinado digitalmente

LUIZ FERNANDO GANASSALI DE OLIVEIRA J

Data: 23/09/2022 18:01:32-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>



Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
ANTELMO RALPH FALQUETO - SIAPE 1648734  
Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas - DCAB/CEUNES  
Em 26/09/2022 às 11:09

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/568512?tipoArquivo=O>



Documento assinado digitalmente

LEONARDO VALANDRO ZANETTI

Data: 26/09/2022 11:32:10-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), pela oportunidade do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal (LABAV), onde conduzi a maior parte do trabalho. E aos demais laboratórios do Campus UFES-Goiabeiras, que foram utilizados: Laboratório de Fisiologia Vegetal, Núcleo de Estudos da Fotossíntese (NEF) e Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC).

Agradeço aos laboratórios Multiusuário de Histotécnicas (LTH) e de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR), do Campus UFES-Maruípe, pelas imagens de microscopia óptica e eletrônica, respectivamente.

Agradeço a minha orientadora, a Dra. Camilla Rozindo Dias Milanez, pelas muitas horas de dedicação, incentivo e credibilidade. Ao meu coorientador, Dr. Leonardo Valandro Zanetti, por deixar que eu utilizasse sua estufa e tomateiros para o experimento, e por fornecer todos os frutos necessários para a coleta de dados. Ao Dr. Jehová Lourenço Júnior, pela grande contribuição na análise de dados, por ser tão gentil e prestativo.

Aos alunos Harrison, Mariella, Gislane, Cecília e Breno, pelo apoio com as análises químicas (que eu não conseguiria fazer sozinha). Também agradeço aos meus colegas do LABAV pela parceria e companhia.

Por fim, agradeço a minha mãe ao João Vítor, pelo amor e apoio durante o mestrado. Agradeço a minha psicóloga, Marcelle, por me ajudar com a saúde mental. E agradeço a Prof. Solange Zanotti Schneider, por ser minha grande inspiração.

Enfim, a todos que de forma direta e indiretamente contribuíram nessa caminhada.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Área experimental. A: Localização da estufa urbana. B: Estrutura interna da estufa (acervo próprio). ..... 23

Figura 2: Tomate tipo grape (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) no estágio de maturação “pink”. A: Tomate selecionado para a coleta (seta branca) (acervo próprio). B: Identificação visual dos estágios de maturação com estágio “pink” selecionado (quadrado azul) (adaptado; THENGANE; GAWANDE, 2018). ..... 27

Figura 3: Fotomicrografias de secções transversais do pericarpo de tomate tipo grape (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*), coradas com azul de toluidina. A: Exocarpo (Exo) composto por epiderme externa unisseriada (Epiex) com cutícula (triângulo vermelho), e camadas subepidérmicas (Cs1). Prega anticlinal de material cuticular (asterisco preto), que alcança o estrato externo de Cs1 (seta vermelha). Lamela média (seta preta) entre as paredes radiais de células epidérmicas vizinhas. Aspecto do mesocarpo inicial (Mes'), porção externa do mesocarpo diferenciada por Cs1. B: Mesocarpo central (Mes) formado por células parenquimáticas (asterisco), que circundam feixes vasculares (Fv). C: Endocarpo (End), composto por epiderme interna unisseriada (Epien) e camada subepidérmica (Cs2). A: 50 µm, B-C: 200 µm. .... 40

Figura 4: Anatomia do tomate tipo grape (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) com rachadura. A: Fruto com rachadura no ramo do tomateiro. B: Fruto com rachadura cicatrizada e camada contenção. C: Fruto com rachadura não cicatrizada. D: Ultraestrutura da camada de contenção, em vista frontal, observados por meio de microscopia eletrônica de varredura. E: Reação positiva ao sudan IV na rachadura. F-I: Fotomicrografias de secções transversais do pericarpo de tomate tipo grape, coradas com azul de toluidina. F: Aspecto geral do pericarpo com rachadura ao nível do mesocarpo inicial (Mes') e contenção local (seta preta). O mesocarpo central (Mes), endocarpo (End) e cavidade locular (CL) não foram comprometidos pela rachadura. G: Detalhe da rachadura, mostrando a contenção (seta preta) formada pelo espessamento de parede das células mesocárpicas (asterisco preto) e espessamento de parede das células epicárpicas próximas à região de ruptura (asterisco vermelho). H: Aspecto compacto do exocarpo (seta dupla) localizado próximo à rachadura. I: Exocarpo de fruto intacto (seta dupla). D = 100; µm E = 200 µm; F = 500 µm; G= 200 µm; H-I = 50 µm. .... 41

Figura 5: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza, variáveis morfológicas e anatômicas do tomate tipo grape (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) (p-valor=1, AIC=50), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas

por setas que partem da variável preditora (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações preditor-resposta ( $p$ -valor  $<0,05$ ) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável preditora e uma resposta. .... 45

Figura 6: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza, teor de cálcio e variáveis anatômicas (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) ( $p$ -valor= 1; AIC = 50), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas pelas setas que partem da variável preditora (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações preditor-resposta ( $p$ -valor  $<0,05$ ) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável preditora e uma resposta..... 46

Figura 7: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza, teor de sólidos solúveis e variáveis anatômicas (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) ( $p$ -valor=1, AIC=36), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas pelas setas que partem da variável preditora (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações preditor-resposta ( $p$ -valor  $<0,05$ ) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável preditora e uma resposta..... 47

Figura 8: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza e variáveis físico-químicas (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) ( $p$ -valor=1, AIC=36), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas pelas setas que partem da variável preditora (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações preditor-resposta ( $p$ -valor  $<0,05$ ) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam

efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável preditora e uma resposta..... 48

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Estágios de maturação do tomate a partir da antese floral. Adaptado de Padrões dos Estados Unidos para Graus de Tomates Frescos (USDA, 1991). DAP = dias após antese..... 20
- Tabela 2: Dados climáticos mensais do período experimental. Temperatura instantânea média (Temp.; °C), Umidade relativa do ar instantânea média (Umi.; %), Pressão atmosférica instantânea média (Pressão; hPa), Radiação (Rad; KJ/mÂ²) e Pluviosidade média (Chuva; mm)..... 24
- Tabela 3: Variáveis do fruto e pericarpo, abreviaturas, breve descrição e unidades. As variáveis destacadas com asterisco foram utilizadas nas análises de equações estruturais. .... 31
- Tabela 4: Características gerais do tomate tipo grape. Os valores correspondem às médias das variáveis nos tratamentos boro (B), cálcio (Ca) e controle (Ctr); e a média total (Total) nos três tratamentos. .... 38
- Tabela 5: Resumo dos testes Kruskal Wallis de comparações múltiplas entre os tratamentos de suplementação nutricional boro (B), cálcio (Ca) e controle (Ctr). Os valores correspondem às médias das variáveis por tratamento, e a média total (Total) nos três tratamentos..... 42
- Tabela 6: Correlações de Spearman entre firmeza do fruto e variáveis fenotípicas.  $\rho$  = coeficiente de correlação de Spearman..... 44
- Tabela 7: Resumo das correlações de Spearman significativas entre variáveis fenotípicas (P-valor <0,05).  $\rho$  = coeficiente de correlação de Spearman. .... 82

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AIC:** Critério de informação de Akaike

**ATT:** Acidez total titulável

**B:** Teor de boro no pericarpo de tomate

**°Brix** = grau Brix

**Ca:** Teor de cálcio no pericarpo de tomate

**Celulose:** Teor de celulose no pericarpo do tomate

**d1:** Diâmetro equatorial do fruto

**d2:** Diâmetro longitudinal do fruto

**DAT:** Dias após transplântio

**DPA:** Dias após antese

**EspCs1:** Espessura das camadas subepidérmicas externas

**EspCs2:** Espessura da camada subepidérmica interna

**EspCut:** Espessura cutícula

**EspEnd:** Espessura endocarpo

**EspEpien:** Espessura epiderme interna

**EspEpiex:** Espessura epiderme externa

**EspExo:** Espessura do exocarpo

**EspMes:** Espessura mesocarpo

**EspPer:** Espessura pericarpo

**Firmeza:** Força necessária para romper o pericarpo

**Hemicelulose:** Massa de hemicelulose no pericarpo do tomate

**Lignina:** Massa de lignina no pericarpo do tomate

**Massafresca:** Massa fresca do fruto

**TSS:** Teor de sólidos solúveis

## RESUMO

O tomate tipo *grape* é uma linhagem híbrida de minitomate, muito apreciado pelo consumidor pelo sabor doce e versatilidade culinária. A firmeza é um importante parâmetro de qualidade do tomate, sendo determinante para sua comercialização e vida pós-colheita. Um dos principais problemas relacionados à baixa firmeza são as rachaduras do fruto, que podem ser prevenidas através de manejo específico com tratamentos de suplementação nutricional à base de cálcio e boro. A rachadura consiste em uma fissura do pericarpo, e pode ser contida através de tecidos de cicatrização produzidos no local da lesão. A literatura especializada considera a firmeza uma propriedade multifatorial, a qual é influenciada por um conjunto de variáveis fenotípicas. Sendo assim, esse trabalho avaliou os efeitos das inter-relações entre 15 atributos físico-químicos, anatômicos e morfológicos do fruto (variáveis preditoras) com a firmeza (variável resposta) do tomate tipo *grape*. As seguintes características foram mensuradas: diâmetro (d1, d2), massa fresca (Massafresca), teor de sólidos solúveis (TSS), acidez total titulável (ATT), teores de cálcio e boro (Ca e B), teores de carboidratos estruturais (Celulose, Hemicelulose, Lignina), espessura de tecidos do exocarpo. Foram aplicados tratamentos de suplementação nutricional com cálcio e boro (grupo Ca, 3 mmol/L; grupo B, 2,5 µmol/L; e controle), via substrato, para avaliar o efeito nos atributos fenotípicos dos frutos. Utilizou-se 30 tomateiros (10 indivíduos por grupo). A anatomia do pericarpo do fruto intacto e com rachadura foram descritas, e a natureza química da contenção foi verificada por meio de testes histoquímicos. O estudo das inter-relações da firmeza com as variáveis fenotípicas analisadas apontou que Ca e TSS são as variáveis mais influentes, mas possuem efeitos antagônicos. Variações positivas de Ca estão diretamente associadas ao aumento da firmeza; enquanto o TSS promove o inverso. O Ca influencia positivamente a espessura do exocarpo e a espessura da cutícula, mas não gera efeitos na firmeza por meio das variáveis anatômicas. Observou-se também que Ca não promove a firmeza através dos efeitos nos teores de carboidratos estruturais. Dentre as variáveis morfológicas, diâmetro equatorial se destacou pelo efeito direto e negativo em firmeza. Verificou-se também que o aumento da espessura da epiderme está relacionado à baixa firmeza; mas o exocarpo de forma integral desempenha efeito positivo. Os

tratamentos de suplementação nutricional não promoveram maior firmeza do fruto, possivelmente devido à aplicação via substrato e baixa mobilidade dos nutrientes. As rachaduras do tomate tipo *grape* possuem padrão longitudinal e são contidas através do desenvolvimento local de um tênue tecido de cicatrização, que consiste no espessamento da parede celular das células expostas pela lesão. A natureza química desse tecido é lipídica, verificada pelo teste do sudan IV. O tomate tipo *grape* não desenvolve a periderme de cicatrização, comum em cultivares de tomate-salada.

**Palavras-chave:** Anatomia • cicatrização • fruto • qualidade • *Solanum lycopersicum*

## ABSTRACT

The *grape* tomato is a minitomato hibryd strain, much appreciated by the consumer for its sweet taste and culinary versatility. Firmness is an important parameter of tomato quality, being crucial for its commercialization and post-harvest life. One of the main problems related to low firmness is fruit cracking, which can be prevented through specific nutritional calcium and boron manegment. The tomato crack it´s a pericarp fissure that can be healing at injury site through scar tissue development. Specialized literature considers firmness a multifactorial property, which is influenced by a set of phenotypic variables. Therefore, this work evaluated the effects of the interrelationships between 15 physicochemical, anatomical and morphological fruit´s attributes (predictor variables) and *grape* tomato´s firmness (response variable). The following characteristics were assessed: diameter (d1, d2), fresh mass (Massafresca), total soluble solids (TSS), total titratable acidity (TTA), calcium and boron contents (Ca and B), structural carbohydrates (Cellulose, Hemicellulose, Lignin) and exocarp tissue thickness. Calcium and boron nutritional supplementation treatments (group Ca, 3 mmol/L; group B, 2.5 µmol/L; and control) were applied through substrate and the effects on phenotypic attributes of the fruits were evaluate. The anatomy of the intact and cracked pericarp was described, and the healing tissue chemical containment was verified by histochemical tests. The interrelationships among firmness and phenotypic variables showed that Ca and TSS are the most influential variables, but they have antagonistic effects in firmness. Positive changes in Ca are directly associated with increased firmness; while TSS promotes the oposite. Ca positively influences exocarp thickness and cuticle thickness, but does not promotes the firmness through anatomical variables. Also, Ca does not promote firmness through effects on structural carbohydrate contents. Among the morphological variables, equatorial diameter stood out for its direct and negative effect on firmness. It was also verified that the increase in the epidermis thickness is related to low firmness; but the exocarp (set of exocarpo tissues) has a positive effect. Nutritional supplementation treatments did increase fruit firmness, possibly due to via substrate intake and low nutrient mobility. The *grape* tomato´s cracks has longitudinal pattern, and the lesion is local contained through a tenuous healing tissue, which consists in cell wall

thickening process developed by injured cell. The chemical content of healing tissue is lipid, verified by the sudan IV test. The *grape* tomato do not develop the healing periderm common in salad tomato cultivars.

**Keywords:** Anatomy • healing • fruit • quality • *Solanum lycopersicum*

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	15
2	OBJETIVO GERAL .....	17
3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
4.1	<i>Características gerais do tomateiro tipo grape</i> .....	17
4.2	<i>Estágios de desenvolvimento do tomate-cereja</i> .....	18
4.3	<i>Fatores que influenciam a Firmeza e a formação de rachaduras do tomate</i> .....	21
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
5.1	<i>Área experimental</i> .....	23
5.2	<i>Material vegetal e condições de crescimento</i> .....	24
5.3	<i>Delineamento experimental e Tratamentos de Suplementação</i> .....	25
5.4	<i>Colheita e processamento das amostras</i> .....	26
5.5	<i>Anatomia do pericarpo</i> .....	27
5.5.1	Análise histoquímica .....	28
5.5.2	Mensuração das variáveis anatômicas quantitativas .....	28
5.5.3	Análise ultra-estrutural .....	29
5.6	<i>Estimativas das variáveis</i> .....	30
5.6.1	Determinação da massa e dimensões do fruto .....	33
5.6.2	Determinação da Firmeza .....	33
5.6.3	Determinação da acidez total titulável e pH .....	33
5.6.5	Determinação do teor de cálcio e boro .....	34
5.6.6	Determinação do teor de celulose.....	34
5.6.7	Determinação do teor de hemicelulose .....	34
5.6.8	Determinação do teor de lignina .....	35
6.7	<i>Análise de dados</i> .....	35
6.7.1	Comparações entre Tratamentos de Suplementação .....	35
6.7.2	Estudo das inter-relações entre Firmeza e variáveis fenotípicas .....	36
7	RESULTADOS.....	37
7.1	<i>Características gerais do fruto</i> .....	37
7.2	<i>Anatomia do pericarpo</i> .....	38
7.2.1	Anatomia do pericarpo intacto.....	38
7.1.2	Anatomia do pericarpo com rachadura .....	40

7.2	<i>Suplementação Nutricional com Cálcio e Boro</i> .....	42
7.3	<i>Inter-relações entre Firmeza e variáveis fenotípicas</i> .....	43
7.3.1	<i>Correlações</i> .....	43
7.3.2	<i>Equações de modelagem estruturais</i> .....	44
8	<b>DISCUSSÃO</b> .....	48
8.1	<i>Características gerais do fruto</i> .....	48
8.2	<i>Anatomia do pericarpo com rachadura</i> .....	50
8.3	<i>Suplementação Nutricional com Cálcio e Boro</i> .....	53
8.4	<i>Inter relações entre Firmeza variáveis fenotípicas</i> .....	53
8.4.1	<i>Análise das inter-relações entre Firmeza, variáveis morfológicas e anatômicas</i> .....	53
8.4.2	<i>Análise das inter-relações entre Firmeza, teores de cálcio e boro, e variáveis anatômicas</i> .....	55
8.4.3	<i>Análise das inter-relações entre Firmeza, teor de sólidos solúveis e variáveis anatômicas</i> .....	59
9	<b>CONCLUSÕES</b> .....	63
10	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	64
10	<b>ANEXOS</b> .....	82

## 1. INTRODUÇÃO

O tomate tipo *grape* (*Solanum lycopersicum* L.) é uma linhagem híbrida derivada da variedade cereja (JUNQUEIRA; PEETZ; ONODA, 2007), e destaca-se no segmento de minitomates pelo sabor doce e pouco ácido, sendo amplamente utilizado na gastronomia *gourmet* como aperitivos ou *couvert* (ALVARENGA, 2013). São considerados alimentos funcionais, ricos em vitaminas A e C, ácido fólico, potássio, licopeno e beta caroteno (JUNQUEIRA; PEETZ; ONODA, 2007).

A firmeza é um importante parâmetro de qualidade do tomate, sendo determinante para sua comercialização e vida pós-colheita; uma vez que um fruto mais firme é mais resistente ao transporte, armazenamento, manuseio e pode ter seu tempo de prateleira estendido (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Essa propriedade física é comumente avaliada pelo consumidor através do toque e aspecto externo do tomate: frutos amolecidos são pouco firmes, e podem apresentar a superfície enrugada ou com rachaduras; enquanto frutos firmes são considerados rígidos ao toque, possuem a superfície lisa e sem rugas (BATU, 2004).

A literatura científica descreve algumas relações entre variáveis físico-químicas, anatômicas e morfológicas do fruto (variáveis fenotípicas) que possivelmente geram efeitos na variação da firmeza do fruto. A estrutura e composição das paredes celulares (JIANG et al., 2019), influenciadas pelos teores de cálcio e boro (LIU et al., 2013; YANG et al., 2016; JIANG et al., 2019) são positivamente associadas à firmeza, devido aos seus efeitos na estabilidade dos tecidos anatômicos (DOMÍNGUEZ et al., 2012; VELA-HINOJOSA et al., 2018; ZHANG et al., 2020). Consequentemente, os tecidos desenvolvem maior força e elasticidade necessárias à variação de volume celular que ocorre durante o amadurecimento. Decorrente disso, são observados aumento da espessura dos tecidos pericárpicos, massa fresca e diâmetro equatorial do fruto; variáveis correlacionadas negativamente à firmeza (DOMÍNGUEZ et al., 2012; VELA-HINOJOSA et al., 2018). Apenas o exocarpo, camada mais externa do pericarpo, tende a ficar mais estratificado, em resposta ao aumento da pressão interna do fruto (YANG et al., 2016; ZHANG et al., 2020). Dessa forma, a espessura do exocarpo é negativamente associada à firmeza, e sua redução traduz-se como

susceptibilidade à ruptura do fruto e conseqüentemente, à formação de rachaduras (YANG et al., 2016; ZHANG et al., 2020). Dentre os fatores associados a esse fenômeno, está a elevação do teor de sólidos solúveis, que aumenta à medida que o tomate amadurece, e influencia as propriedades de turgescência dos tecidos (CORREIA et al., 2018). Da mesma forma, o pH aumenta à medida que o fruto atinge os estágios finais de maturação, promovendo a redução da acidez total titulável (ALMEIDA; HUBER, 2001).

As variáveis fenotípicas, descritas pela literatura como possíveis preditoras, são intimamente inter-relacionadas, seja por relações causa e efeito ou por correlação (ZHENHUA, 1995). Devido a isso, é possível que as repostas que modulam e firmeza do tomate sejam determinadas de forma sistêmica, por meio de relações diretas e indiretas entre as variáveis apontadas. Apesar disso, a maior parte dos estudos aborda apenas efeitos isolados de uma variável preditora sob a resposta, desconsiderando a influência de múltiplas variáveis associadas.

A fim de verificar como são estabelecidas as relações entre variáveis fenotípicas que promovem a variação da firmeza e quais são as variáveis mais determinantes para esse atributo, foram avaliadas características morfológicas (diâmetros e massa fresca), físico-químicas (teores de cálcio, boro, teor de sólidos solúveis, pH, acidez total titulável, celulose, hemicelulose e lignina), e anatômicas (espessura de tecidos pericápicos) dos frutos do tomate tipo *grape*.

A suplementação nutricional à base dos elementos cálcio e boro é um tipo de manejo muito utilizado na cultura do tomate para aumentar a firmeza do fruto; tendo em vista que esses elementos possuem papel estrutural e aumentam a resistência da parede e junções intercelulares (KHADIVI-KHUB, 2015; YANG et al., 2016). Muitos trabalhos correlacionam o aumento da firmeza com a redução da taxa de frutos com rachaduras e sua severidade (HUANG et al., 2008; LIEBISCH et al., 2009; KHADIVI-KHUB, 2015; DAVARPANAH et al., 2018).

Dessa forma, hipotetiza-se que a firmeza do tomate seja determinada de forma sistêmica, por meio de relações diretas e indiretas entre as variáveis fenotípicas relacionadas por correlação ou causa-efeito. É esperado que as variáveis anatômicas e morfológicas promovam efeitos diretos na firmeza, e que sejam influenciadas por atributos físico-químicos. Sendo assim, é possível que TSS desempenhe efeito negativo na firmeza, devido à sua influência no potencial

osmóticos dos tecidos e, indiretamente, na espessura dos tecidos pericárpicos. Espera-se que Ca e B estejam positivamente associados à firmeza, devido aos seus efeitos na composição da parede celulósica e anatomia do exocarpo. Além disso, hipotetiza-se que os tratamentos de suplementação com cálcio e boro incrementem a firmeza do fruto, e que possam ser utilizados como manejo nutricional específico para o tomate tipo *grape*.

## **2 OBJETIVO GERAL**

O objetivo do trabalho é realizar o estudo anatômico do pericarpo intacto e com rachadura do tomate tipo *grape*, e avaliar os efeitos de tratamentos de suplementação com cálcio e boro em atributos do fruto relacionados à firmeza.

## **3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar a anatomia do pericarpo intacto e com rachaduras do tomate *grape*.
- Investigar os efeitos de tratamentos de suplementação com cálcio e boro na firmeza e em atributos fenotípicos no tomate tipo *grape*.
- Avaliar como os atributos fenotípicos do tomate tipo *grape* se relacionam e promovem efeito na firmeza do fruto, e quais são as variáveis mais determinantes do processo.

## **4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### ***4.1 Características gerais do tomate tipo grape***

O tomateiro tipo *grape* é uma eudicotiledônea, pertencente à família Solanaceae, espécie *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*. Trata-se de uma linhagem híbrida, derivada da variedade cereja, e desenvolvida por empresas especializadas na produção de sementes (JUNQUEIRA; PEETZ; ONODA, 2007). O ciclo de vida da planta é anual e precoce, levando 60 dias da semeadura ao início da colheita. A frutificação ocorre durante seis meses. Quando cultivado em ambiente protegido, o tomateiro apresenta potencial produtivo de 6 a 8 kg (JUNQUEIRA; PEETZ; ONODA, 2007).

O mini tomate tipo *grape*, conhecido como tomate-uva, foi introduzido no Brasil em 2007, e vem se destacando no mercado por ser uma variedade altamente produtiva que se adaptou bem às condições climáticas da região Sul, Sudeste e Centro Oeste do Brasil (DE MELLO, 2022).

O tomate tipo *grape* possui tamanho pequeno, formato alongado (cerca de três e dois centímetros de diâmetros longitudinal e transversal, respectivamente), peso médio entre 10 e 20g, dois lóculos, casca fina e lisa de coloração vermelho intenso (ALVARENGA, 2013). Seu grande diferencial é o sabor suave e doce; devido aos altos níveis de teor de sólidos solúveis que a variedade pode alcançar (entre 9 e 12 °Brix) e o baixo índice de acidez (pH médio 4,69) (HEATH, 2012). O conteúdo de açúcar, ácidos e compostos voláteis determina o sabor do tomate (JUNQUEIRA; PEETZ; ONODA, 2007), e frutos que apresentam baixa acidez titulável, alto conteúdo de açúcares totais, sólidos solúveis e conteúdo intermediário de compostos voláteis são qualificados como aqueles de melhor sabor (TANDO et al., 2003).

Apresenta grande versatilidade culinária, sendo muito utilizado como adorno, acompanhamento e na confecção de pratos diversos (GUSMÃO et al., 2000). Este tipo de tomate tem mercado diferenciado, sendo amplamente utilizado na gastronomia gourmet, como aperitivos ou couvert (ALVARENGA, 2013). Além disso, os frutos são ricos em ácidos orgânicos, vitaminas A, B e C, e carotenoides, além de auxiliar na prevenção de doenças cardíacas já que é a fonte alimentar mais rica em antioxidantes (CARVALHO, 2006).

#### **4.2 Estágios de desenvolvimento do tomate-cereja**

De acordo com Gillaspay et al. (1993), o desenvolvimento do tomate-cereja pode ser subdividido em quatro fases que abordam os processos de divisão celular, crescimento e amadurecimento do fruto.

A primeira fase ocorre antes e durante a antese floral, e consiste no desenvolvimento do ovário e fertilização. Imediatamente após esse evento, a segunda fase tem início no ovário; iniciando com divisões celulares (sete a dez dias de duração), seguidas de diferenciação tecidual, desenvolvimento das sementes e crescimento inicial do embrião (GILLASPY et al., 1993).

Durante a segunda fase, até 9 DPA, a epiderme externa divide-se, e produz cerca de 30 trinta vezes sua quantidade inicial de células. Esse número de células é constante até o final do desenvolvimento do tomate-cereja (RENAUDIN et al., 2017). Os processos de formação da cutícula (cuticularização) e de cutinização (impregnação com cutina), que ocorrem na epiderme em 11-12 DPA, limitam o aumento de volume celular, que cessa nesse período (DOMÍNGUEZ; HEREDIA-GUERRERO; HEREDIA, 2017; RENAUDIN et al., 2017).

A maior parte das divisões celulares nas camadas subepidérmicas e do mesocarpo inicial ocorrem entre 4-9 DAP (RENAUDIN et al., 2017). As divisões celulares do mesocarpo central são limitadas ao período do ovário pré-antese, não ocorrendo no fruto. As células endocárpicas (epiderme interna e camada subepidérmica) dividem-se e sofrem expansão entre 3-9 DPA (RENAUDIN et al., 2017).

Após o término da maior parte das divisões celulares, começa a terceira fase, em que ocorre o crescimento do fruto devido à expansão celular. A terceira fase tem duração variável de seis a sete semanas, e finaliza quando o fruto atinge seu tamanho definitivo (GILLASPY et al., 1993). Tratando-se do tomate-cereja, o volume dos tecidos da placenta, locular e mesocarpo podem aumentar mais de dez vezes devido à expansão celular (GILLASPY et al., 1993). A área superficial do tomate acompanha o aumento de volume, devido ao alongamento das células epicárpicas e da cutícula. Como os processos dos processos de divisão e crescimento das células epicárpicas termina precocemente (RENAUDIN et al., 2017), o aumento de área superficial ocorre devido às propriedades elásticas dos tecidos; que tendem a reduzir de espessura nesse processo ((DOMÍNGUEZ; HEREDIA-GUERRERO; HEREDIA, 2017).

De acordo com Renaudin et al. (2017) o mesocarpo é a camada do pericarpo que mais se desenvolve nesse período, podendo alcançar até 1550 vezes o volume celular inicial em 20 DAP. O aumento de volume celular prossegue até o final do desenvolvimento do fruto (36 DAP), mas em taxas menos elevadas) (RENAUDIN et al., 2017). Na fase em que atingem seu tamanho final, os frutos ainda são verdes e têm a maior parte do seu peso final (GILLASPY et al., 1993).

A quarta fase começa após o tomate-cereja atingir o tamanho final, e seu desenvolvimento continua com o amadurecimento quando o influxo de

carboidratos para o fruto cessa (RANČIĆ; QUARRIE; PEĆINAR, 2010) e ocorre a mudança de cor de verde para laranja (estágio “Breaker”), e finalmente vermelho (estágio “Red”) (CARRARI; FERNIE, 2006). A mudança de cor é consequência da transformação de cloroplastos em cromoplastos, e diminuição da concentração de clorofila, seguido de aumento na concentração de beta caroteno que dá a cor laranja. A cor vermelha final deve-se à alta concentração de licopeno (RANČIĆ; QUARRIE; PEĆINAR, 2010). Simultaneamente com as mudanças de cor, ocorrem mudanças no metabolismo. Nesta fase, ocorre a desintegração da camada interna e central das paredes do carpelo; e como consequência da degradação enzimática, o tecido placentário torna-se gelatinoso (RANČIĆ; QUARRIE; PEĆINAR, 2010). Os principais eventos bioquímicos nesta fase são: aumento da síntese de etileno, aumento da respiração, aumento rápido da acidez, redução do teor de amido e aumento do teor de sólidos solúveis (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008).

O estágio de desenvolvimento pode ser classificado de acordo com a cor de sua superfície. A Tabela 1 relaciona o estágio de desenvolvimento com a cor, de acordo com Padrões dos Estados Unidos para Graus de Tomates Frescos (USDA, 1991). Essa classificação é geral, sendo amplamente adotada para diferentes cultivares (SHINOZAKI et al., 2018; THENGANE; GAWANDE, 2018; LIU et al., 2020).

Tabela 1: Estágios de maturação do tomate a partir da antese floral. Adaptado de Padrões dos Estados Unidos para Graus de Tomates Frescos (USDA, 1991). DAP = dias após antese.

Estágio	DPA	Descrição visual
Green (1)	0 - 5	Superfície completamente verde
Breaker (2)	0 - 15	Até 10% da superfície amarela, rosa ou laranja
Turning (3)	19 - 23	10 – 30% da superfície amarela, rosa ou laranja
Pink (4)	24 - 29	30 – 60% da superfície rosa ou laranja
Light red (5)	30 - 35	60 – 90% da superfície laranja ou vermelha
Red (6)	36 - 40	Mais de 90% da superfície vermelha

### **4.3 Fatores que influenciam a Firmeza e a formação de rachaduras do tomate**

A firmeza é determinada em grande parte pela resistência das paredes celulares e anatomia física dos tecidos internos do fruto; particularmente por características como tamanho, forma e adesão entre as células (TOIVONEN; BRUMMELL, 2007). Muitos desses fatores estão inter-relacionados, por exemplo, tecidos com células pequenas tendem a apresentar paredes celulares mais espessas, menor quantidade relativa de citoplasma e vacúolo (seiva celular), maior área de contato célula a célula e espaços intercelulares ausentes ou com área reduzida, tornando o tecido mais compacto e firme (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008).

Além dos aspectos anatômicos, a firmeza também está relacionada às propriedades de turgescência dos tecidos do fruto, que são afetadas por fatores como o acúmulo de fotossintatos e o estado hídrico das células (KHADIVI-KHUB, 2015). A água chega ao pericarpo por meio dos tecidos vasculares do pedúnculo, promovendo um aumento na pressão de turgor e na rigidez das paredes celulares (WEI et al., 2018). Conseqüentemente, a pressão interna do fruto aumenta e tensiona o exocarpo, o que externamente é percebido pela superfície lisa e sem rugas do fruto. As rachaduras podem ocorrer quando a pressão interna do fruto não é mais sustentada pelo exocarpo (DOMÍNGUEZ et al., 2012).

O processo de formação das rachaduras é complexo, e há muitos fatores relacionados a sua ocorrência. A composição e desempenho mecânico do pericarpo; tipo de manejo (irrigação e nutrição) e fatores climáticos (temperatura, umidade e iluminação) são os fatores mais comumente relatados que influenciam a ocorrência do problema (LIEBISCH et al., 2009; KHADIVI-KHUB, 2015). A morfologia do fruto contribui para a distribuição irregular da tensão em sua superfície, o que determina áreas com maior estresse e que tendem a sofrer rupturas (CONSIDINE; BROWN, 1981).

Durante o amadurecimento do tomate, os polissacarídeos da parede celular são extensivamente modificados por uma variedade de enzimas, que degradam as pectinas e os glicanos da matriz. Essas mudanças afetam a estrutura e a resistência da parede, provocam a redução da firmeza, e o amolecimento característico do tomate maduro (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008). Estudos

sobre o metabolismo da parede celular durante o amadurecimento indicam que se trata de um processo ordenado; em que ocorrem o relaxamento da parede celular e degradação de hemicelulose nos estádios iniciais, despolimerização da pectina, ao final (YAMAUCHI; HARA; SONODA, 1986).

O aumento da solubilidade dos polissacarídeos pécticos é uma das características indiscutivelmente associadas ao amadurecimento de frutos frescos (YAMAUCHI; HARA; SONODA, 1986). As ligações inter e intramoleculares entre as cadeias de pectina e o cálcio na lamela média e parede celular, dificultam a ação de enzimas pectolíticas produzidas pelo fruto que causam seu amaciamento e redução da firmeza (YAMAMOTO et al., 2011). Dessa forma, a associação do cálcio com a pectina, que forma o pectato de cálcio, aumenta a estabilidade da parede celular e conserva a rigidez dos tecidos pericárpicos do fruto maduro (DE MELO et al., 2022).

Mas o papel estrutural do cálcio não é restrito às fases finais do desenvolvimento do tomate. O cálcio é responsável pelo crescimento, espessura e remodelação da parede celular, bem como para o desenvolvimento dos tecidos do fruto (MARTINEZ et al., 2020). Além das funções estruturais, o cálcio é necessário em processos fisiológicos, como extensão celular, processos secretores, estabilização da membrana, equilíbrio cátion-ânion e osmorregulação, e atua como segundo mensageiro (MARSCHNER, 2012). Da mesma forma, o boro tem um efeito estabilizador nos complexos de cálcio das lamelas médias e, portanto, é essencial para manter a estrutura da parede celular (JOBIN-LAWLER et al., 2002). Além disso, a deficiência de boro no tomate pode diminuir a concentração de cálcio associada a compostos pécticos (JOBIN-LAWLER et al., 2002).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Área experimental

O experimento foi conduzido de fevereiro a junho de 2021, em uma estufa urbana, localizada em Vitória, Espírito Santo, Brasil (20° 19 '01.524" Sul e 40° 20' 58.2" Oeste) (Figura 1-A), a 50 m acima do nível do mar. Segundo a classificação de Köppen (ALVARES et al., 2013), o clima da região é o Aw: tropical de savana, com inverno seco e verão chuvoso. Os valores mensais de temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade registrados durante o período experimental (INMET, 2022) estão descritos na Tabela 2.

A estufa (Figura 1-B) possui três metros de pé direito, área total de 136 m<sup>2</sup>, e capacidade total para 260 tomateiros, distribuídos em cinco fileiras. O local é totalmente revestido por telas laterais de sombreamento e coberto com plástico difusor (150 µm).

Figura 1: Área experimental. A: Localização da estufa urbana. B: Estrutura interna da estufa (acervo próprio).

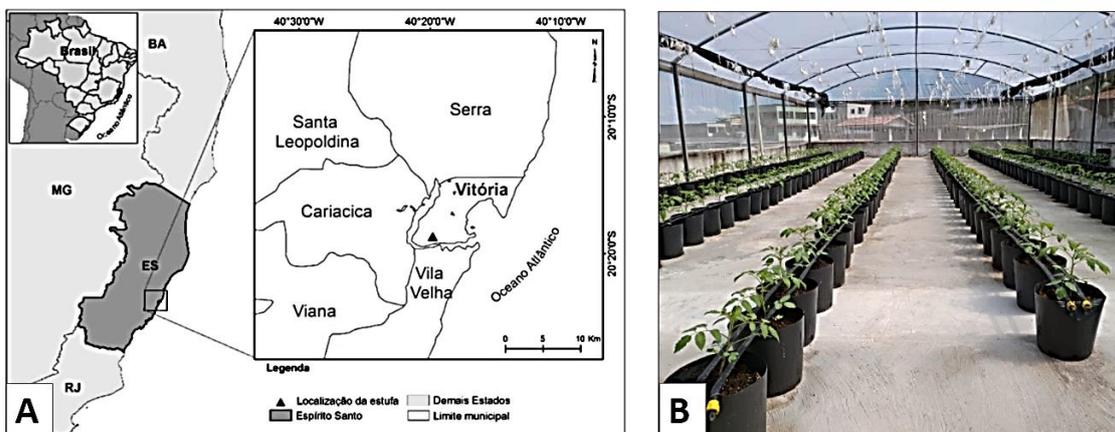


Tabela 2: Dados climáticos mensais do período experimental. Temperatura instantânea média (Temp.; °C), Umidade relativa do ar instantânea média (Umi.; %), Pressão atmosférica instantânea média (Pressão; hPa), Radiação (Rad; KJ/m<sup>2</sup>) e Pluviosidade média (Chuva; mm)

Mês	Temp.	Umi.	Pressão	Rad.	Chuva
Fevereiro	25,96	76,99	1012,07	1310,47	0,38
Março	26,01	76,52	1013,32	1660,12	0,35
Abril	24,12	76,62	1015,33	1301,59	0,11
Mai	23,01	77,36	1017,25	850,34	0,19
Junho	21,55	79,79	1018,89	788,61	0,12

## 5.2 Material vegetal e condições de crescimento

A semeadura ocorreu em fevereiro de 2021 e foram utilizadas sementes do cultivar híbrido de minitomate tipo *grape* (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) (Mascot-F1, AGRISTAR®). O plantio das sementes foi realizado em bandejas plásticas rasas, e a irrigação foi feita manualmente, sempre que necessário para manter o substrato úmido. Adotou-se a solução nutritiva de Papadopoulos (1991) com modificações, contendo: 4,8; 1,5; 6,8; 3,3; 3,3, 1,6 mmol L<sup>-1</sup> de Ca, N, K, Mg, S e P; e, 5,6; 24,6; 25,0; 1,5; 1,7; 0,5 µmol L<sup>-1</sup> de Fe, Mn, B, Cu, Zn e Mo (pH = 5,82). Durante a primeira semana após a semeadura, a CE da solução nutritiva foi mantida em 1,2 mS; após esse período, foi gradualmente alterada para 2,2 mS, e esse valor foi mantido para o restante do ciclo vegetativo e durante o ciclo reprodutivo (PAPADOPOULOS, 1991). O período de desenvolvimento nas bandejas durou 30 dias, até março 2021, em que os juvenis sadios foram transplantados para os vasos plásticos.

Os tomateiros foram cultivados sistema semi-hidropônico, em vasos plásticos (perfurados na base) com capacidade de 8,5 L, preenchidos com substrato para fixação do sistema radicular. O substrato utilizado foi composto por 45% de fibra de coco (substrato comercial GoldenMix 98, Amafibra®), 45% de casca de Pinus e 10% de palha de arroz (substrato comercial Max Fértil®). Os tomateiros foram conduzidos em duas hastes e tutorados com fitilho, mantendo o espaçamento de 0,4m x 1,0m entre plantas e linhas, respectivamente. Não foram realizadas podas apicais, mas semanalmente foram

feitas desbrotas e podas sanitárias das folhas abaixo dos cachos de frutos que iniciaram o amadurecimento. A planta possui crescimento indeterminado, com ciclo de aproximadamente 60 dias, da sementeira ao início da colheita (JUNQUEIRA; PEETZ; ONODA, 2007).

### **5.3 Delineamento experimental e Tratamentos de Suplementação**

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por três tratamentos de suplementação com dez indivíduos cada. As unidades amostrais (tomateiros) foram selecionadas utilizando a função “ALEATORIOENTRE” do *software* Microsoft Excel. A função forneceu um número aleatório entre 1 e 260, que correspondem ao número mínimo e máximo de plantas que a estufa comporta. Quando a função indicou alguma posição já ocupada, o procedimento foi repetido até o sorteio de uma vaga disponível.

Os tratamentos consistiram na adição isolada de soluções contendo cálcio (3 mmol/L-Tratamento Cálcio) e boro (2,5  $\mu$ mol/L-Tratamento Boro) à solução nutritiva padrão, completando do volume de 200 mL por aplicação. O Tratamento Controle administrou 200 mL de solução nutritiva padrão à cada indivíduo, sem outros acréscimos. A concentração das soluções aplicadas segue de Mello (2022). Como fonte dos elementos, foram utilizados cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) (DE MELLO, 2022). O pH médio das soluções Tratamento Cálcio, Boro e Controle foram 5,92, 5,60 e 5,82, respectivamente. O volume adotado para suplementação equivale a quantidade de solução nutritiva necessária para saturar o substrato sem que ocorresse o extravasamento, nas condições em que ele se encontrava antes dos pulsos de irrigação padrão.

As aplicações dos tratamentos de suplementação foram realizadas uma vez por semana, durante oito semanas, de abril a junho de 2021. A primeira aplicação ocorreu 25 dias após transplântio (DAT), com o início do aparecimento das inflorescências; e finalizou em 72 DAT, durante o período de período de frutificação.

Os tomateiros utilizados para pesquisa fazem parte de um cultivo comercial de tomate tipo *grape*, que apresenta cerca de 5-8% da produção comprometida por rachaduras (dados não publicados). As rachaduras prejudicam a integridade,

sabor e estética do tomate; o que inviabiliza sua comercialização para o consumo *in natura*. Considerando que cada tomateiro desse cultivo produz cerca de 10 kg de frutos durante seu ciclo de vida (dados não publicados), estima-se que o prejuízo seja de 0,5-0,8 kg por planta. Por conta das perdas observadas nesse cultivo em particular, buscou-se avaliar os efeitos dos tratamentos de suplementação na firmeza do fruto e variáveis associadas como forma indireta do controle das rachaduras.

#### **5.4 Colheita e processamento das amostras**

A colheita foi realizada em junho, uma semana após a última aplicação das soluções (79 DAP). Os frutos foram coletados no estágio desenvolvimento “pink” (Figura 2-A), de acordo com Padrões dos Estados Unidos para Graus de Tomates Frescos (Figura 2-B) (USDA, 1991). Nesse estágio, os tomates são visualmente caracterizados pela coloração alaranjada, podendo apresentar mais de 30% da superfície avermelhada ou vermelha, mas não mais que 60% (USDA, 1991).

O tomate “pink” é o mais adequado para verificar diferenças de firmeza que podem estar relacionadas à rachadura do pericarpo, porque a transição para esse estágio é marcada pelo aumento de volume do fruto, devido à expansão celular, tornando-o mais susceptível às rupturas (KHADIVI-KHUB, 2015; WANG et al., 2011; DOMÍNGUEZ et al., 2012).

Para as análises anatômicas qualitativas (descrição anatômica do pericarpo, análise histoquímica e análise ultra-estrutural) foram coletados dez frutos intactos e dez com rachaduras de tomateiros que não participaram do experimento de suplementação. Para a mensuração das variáveis quantitativas, foram coletados 16 tomates saudáveis e sem rachaduras por indivíduo; totalizando 160 frutos por tratamento e 480 por experimento.

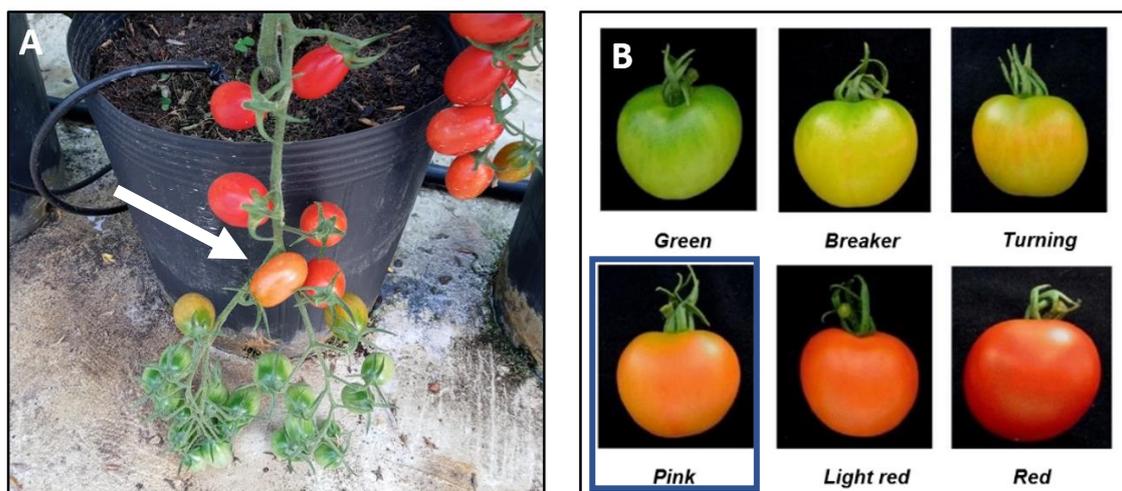


Figura 2: Tomate tipo grape (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) no estágio de maturação “pink”. A: Tomate selecionado para a coleta (seta branca) (acervo próprio). B: Identificação visual dos estágios de maturação com estágio “pink” selecionado (quadrado azul) (adaptado; THENGANE; GAWANDE, 2018).

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, e transportadas em caixas de isopor ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, onde o processamento foi realizado. Todos frutos foram lavados uma vez em água corrente; em seguida, lavados uma vez em água destilada e secos à temperatura ambiente.

As amostras reservadas às análises químicas de determinação de carboidratos estruturais e teores de Ca e B passaram pelos seguintes processos: o pericarpo foi separado dos demais tecidos do fruto, cortado em pequenos fragmentos e seco em estufa a 50°C até alcançar massa constante (sete a dez dias). Em seguida, as amostras secas foram maceradas com pistilo, identificadas e acondicionadas em recipientes de plástico hermético para posteriores análises químicas.

### 5.5 Anatomia do pericarpo

Os frutos reservados ao estudo anatômico foram cortados transversalmente, as sementes e tecidos internos removidos, e as amostras de pericarpo intacto e com rachadura da região equatorial do fruto foram fixadas em FAA 50 (JOHANSEN, 1940). Em frutos de forma elipsoide, o pericarpo da região equatorial é submetido a maiores tensões em comparação os tecidos das extremidades (CONSIDINE; BROWN, 1981; CIESLAK et al., 2016; LIU et al.,

2020). Portanto, cortes dessa região são mais indicados para avaliar efeitos na anatomia dos tecidos. Após dois dias, o fixador foi descartado e substituído por etanol 70%.

As descrições anatômicas foram realizadas a partir de observações de lâminas permanentes. Para isso, as amostras foram desidratadas em série etanólica crescente (90%, 100%, 100%) com duração de três horas cada e incluídas em historesina glicol-metacrilato (Leica®). Durante a pré-infiltração o material foi submetido à mistura de etanol 100% e historesina pura (Leica®) na proporção de 1:1 (v:v) por oito horas. A infiltração foi feita com resina pura, durante 24 horas. Os blocos foram cortados transversalmente em micrótomo rotativo, utilizando-se navalha de perfil C. Os cortes, com cerca de 10 µm de espessura, foram corados com azul de toluidina pH 4,0 (O' BRIEN, 1981) e as lâminas montadas com bálsamo do Canadá sintético (Synth®).

As fotomicrografias foram obtidas com câmera fotográfica digital (Nikon digital DS-Ri1, unidade digital DS-U3, Nikon Tec. Corporation, Tokyo, Japan) acoplada ao microscópio óptico (Nikon Eclipse 50i, Nikon Tec. Corporation, Tokyo, Japan) e a um microcomputador com software de captura de imagem (Nikon NIS-Elements, Nikon Tec. Corporation, Tokyo, Japan).

### **5.5.1 Análise histoquímica**

Para da determinação da natureza química das paredes de células expostas ao meio externo pela rachadura, secções de material fresco, realizadas à mão livre, foram submetidas aos seguintes testes histoquímicos: sudan IV, para a detecção de substâncias lipídicas; solução de floroglucina acidificada, para a detecção de lignina e solução de vermelho de rutênio, para evidenciar substâncias pécticas (JOHANSEN, 1940).

### **5.5.2 Mensuração das variáveis anatômicas quantitativas**

As análises anatômicas quantitativas consistiram na medição da espessura de tecidos (Tabela 3), em lâminas semipermanentes de sessões transversais do pericarpo intacto da região equatorial do fruto. Os cortes foram realizados à mão livre, corados com vermelho de rutênio, e montadas utilizando gelatina

glicerinada (JOHANSEN, 1940). As medições foram feitas no software Nis Elements - BR (Nikon Tec. Corporation, Tokyo, Japan).

O pericarpo é estruturalmente delimitado em três regiões: exocarpo, mesocarpo e endocarpo. A composição tecidual de cada região e a terminologia utilizada são divergentes na literatura especializada, e variam de acordo com a concepção de cada autor (CERRI; REALE, 2022). Portanto, nesse trabalho adotou-se como padrão o estudo de Renaudin et al. (2017), que propõe uma divisão do pericarpo do tomate-cereja (cultivar West Virginia 106) baseado nas semelhanças dos padrões de desenvolvimento dos tecidos (divisão e expansão celular). Os autores consideram que o exocarpo é formado por epiderme (unisseriada) e camadas subepidérmicas externas (dois estratos); o mesocarpo é composto por estratos iniciais do mesocarpo (número variável de camadas próximo às camadas subepidérmicas externas) e mesocarpo central; e o endocarpo é constituído por epiderme (unisseriada) e camada de células subepidérmicas internas.

### **5.5.3 Análise ultra-estrutural**

A ultraestrutura do pericarpo com rachadura foi observada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para isso, amostras de pericarpo com rachadura foram fixadas em solução de Karnovsky (glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2% e tampão cacodilato 0,1M). Em sequência, o foi adicionado o crioprotetor (glicerol 30% e tampão cacodilato 0,1M) e as amostras levadas ao freezer -80°C para congelamento total dos tecidos. Para fratura da amostra, utilizou-se o nitrogênio líquido, que foi vertido diretamente sobre o tecido. Seguiu-se com a desidratação em etanol (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), secagem no ponto crítico de CO<sub>2</sub> (Autosandri-815, Tousimis), revestimento com 10 nm de ouro puro em um aspersor a vácuo (Desk V, Denton Vacuum) e análise em modo direto usando um microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JEM-6610 LV). Todos os processos foram realizados no Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins – LUCCAR-UFES.

### **5.6 Estimativas das variáveis**

Foram avaliadas ao todo 21 variáveis quantitativas do fruto, subdivididas em três em grupos: morfológicas, físico-químicas e anatômicas (Tabela 3). Dentre esse conjunto de variáveis, a literatura científica destaca 15 como possíveis preditoras da firmeza (resposta), que são: (1) diâmetro longitudinal (d1), (2) diâmetro equatorial (d2), (3) massa fresca do fruto (Massafresca), (4) teor de sólidos solúveis (TSS), (5) acidez total titulável (ATT), (6) pH, (7) teor de cálcio do pericarpo (Ca), (8) teor de boro do pericarpo (B), (9) teor de celulose no pericarpo (Celulose), (10) teor de hemicelulose no pericarpo (Hemicelulose), (11) teor de lignina (Lignina), (12) espessura do exocarpo (EspExo), (13) espessura da cutícula da epiderme externa (EspCut), (14) espessura da epiderme externa (EspEpiex) e (15) espessura das camadas subepidérmicas externas (EspCs1) (Tabela 3). Os efeitos das soluções de suplementação nutricional foram avaliados em todo o conjunto de variáveis, enquanto que, o estudo das inter-relações que influenciam a firmeza utilizou apenas as citadas pela literatura especializada.

Tabela 3: Variáveis do fruto e pericarpo, abreviaturas, breve descrição e unidades. As variáveis destacadas com asterisco foram utilizadas nas análises de equações estruturais.

Abreviatura	Descrição	Unidade
Firmeza	Força necessária para romper o pericarpo	N
<i>Variáveis morfológicas</i>		
*d1	Diâmetro longitudinal do fruto	mm
*d2	Diâmetro equatorial do fruto	mm
*Massafresca	Massa fresca do fruto	g
<i>Variáveis físico-químicas</i>		
*TSS	Teor de sólidos solúveis	°Brix
*ATT	Acidez total titulável	g/100g de ácido cítrico
*pH	pH	sem unidade
*Ca	Teor de cálcio no pericarpo	g/Kg de massa seca
*B	Teor de boro no pericarpo	mg/Kg de massa seca
*Celulose	Teor de celulose no pericarpo	mg/g de massa seca
*Hemicelulose	Teor de hemicelulose no pericarpo	mg/g de massa seca
*Lignina	Teor de lignina no pericarpo	mg/g de massa seca
<i>Variáveis anatômicas</i>		
EspPer	Espessura pericarpo	µm
EspMes	Espessura mesocarpo	µm
*EspExo	Espessura exocarpo	µm

EspEnd	Espessura endocarpo	µm
*EspCut	Espessura cutícula	µm
*EspEpiex	Espessura epiderme externa	µm
*EspCs1	Espessura das camadas subepidérmicas externas	µm
EspEpien	Espessura epiderme interna	µm
EspCs2	Espessura da camada subepidérmica interna	µm

---

### **5.6.1 Determinação da massa e dimensões do fruto**

Os frutos in natura foram pesados em balança analítica, e mensurados os diâmetros equatorial (d1) e longitudinal (d2) com paquímetro (modelo 316119, MTX). Cada amostra consistiu em cinco frutos, totalizando 150 frutos por experimento.

### **5.6.2 Determinação da Firmeza**

A Firmeza (N) foi mensurada com o uso de um durômetro de frutas digital (MOD, PTR-300, Instrutherm), com ponteira de 6 mm. Cada fruto foi perfurado uma vez, próximo à linha equatorial, e a força máxima de resistência à punção foi registrada. Frutos pouco firmes (firmeza baixa) resistem por menos tempo ao rompimento sob a administração da mesma força em comparação aos de firmeza elevada (firmeza alta). Os resultados por amostra foram expressos como a média da força registrada em cinco frutos por unidade amostral.

### **6.6.3 Determinação da acidez total titulável e Ph**

A determinação da acidez total titulável seguiu a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005) com modificações, seguindo Silva (2019). As amostras, compostas por cinco frutos cada, foram completamente homogeneizadas utilizando mixer. Em seguida, o homogenato líquido foi filtrado com compressas não aderentes, sendo esse processo alternativo à centrifugação recomendada no protocolo original. A determinação do pH foi realizada diretamente pela imersão do eletrodo do pHmetro (Tecnal) no homogenato líquido após a filtração. Depois disso, 1 mL do filtrado foi diluído em 50 mL de água ultrapura, e a mistura foi titulada com solução de NaOH (1 mol/L) até atingir pH 8,2. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico, sendo obtidos pela seguinte expressão matemática:  $ATT = (M \times V \times F) / 3 \times V'$

Em que:

V = volume em ml da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação

F = massa molar do ácido cítrico, a qual é de 192,12 g.mol<sup>-1</sup>

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio usada na titulação

V' = volume em mL da amostra analisada

#### **6.6.4 Determinação do teor de sólidos solúveis**

Para a determinação do teor de sólidos solúveis (TSS), as amostras, compostas por cinco frutos cada, foram completamente homogeneizadas utilizando mixer e filtradas com compressas não aderentes. A leitura foi realizada utilizando refratômetro manual (modelo 103, Biobrix), através da leitura direta do homogenato das amostras. Para cada amostra, foram aferidas cinco leituras, e resultados por unidade amostral foram expressos como a média desses valores, expressos em °Brix.

#### **6.6.5 Determinação do teor de cálcio e boro**

Os teores de cálcio (Ca) e boro (B) foram determinados de acordo com o método de Malavolta, Vitti e de Oliveira (1997). Para a aferição do boro, foram utilizadas incineração via seca com determinação colorimétrica, seguindo os mesmos autores.

#### **6.6.6 Determinação do teor de celulose**

A determinação de celulose das amostras foi realizada de acordo com Brendel et al. (2000), utilizando 100 mg de massa seca inicial para cada unidade amostral. O processo foi realizado quatro vezes, sendo o resultado final a média obtida.

#### **6.6.7 Determinação do teor de hemicelulose**

A metodologia utilizada para a determinação de hemicelulose seguiu Shädel et al. (2010), com modificações no processo de extração do amido. Nessa etapa foi utilizado o dimetilsulfóxido (DMSO), de acordo com Carpita e Kanabus (1987). Foi utilizada massa inicial de 50 mg de massa seca inicial para

cada unidade amostral. O processo foi realizado quatro vezes, sendo o resultado final a média obtida.

#### **6.6.8 Determinação do teor de lignina**

A metodologia utilizada para a determinação da lignina segue dos Santos et al. (2008). Foi utilizada massa inicial de 50 mg de massa seca inicial para cada unidade amostral. O processo foi realizado quatro vezes, sendo o resultado final a média obtida.

### **6.7 Análise de dados**

#### **6.7.1 Comparações entre Tratamentos de Suplementação**

As comparações entre os tratamentos de suplementação (B, Ca, Ctr) em relação ao conjunto de variáveis mensuradas (Tabela 3) foram realizadas por meio do teste de Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952). Foram avaliados 27 indivíduos (tomateiros); sendo nove do grupo B, dez do grupo Ca e oito do grupo Ctr. Inicialmente, adotou-se 30 indivíduos para o estudo, mas três unidades amostrais (tomateiros 3,5,24) foram apontadas como *outliers* multivariados e foram removidas. Os valores multivariados discrepantes foram detectados através do método Mahalanobis (AGGARWAL, 2017), utilizando como valor crítico o critério do lambda Wilks e distribuição  $\chi^2$ , considerando  $\alpha = 0,05$ .

O teste de Kruskal-Wallis é uma alternativa não paramétrica ao teste F da Análise de Variância (SOUSA; LIRA; FERREIRA, 2012), sendo utilizado para comparações entre três ou mais grupos quando os dados não alcançam os pressupostos de homoscedasticidade das variâncias e normalidade dos resíduos. Convencionou-se adotar  $\alpha = 0,05$ , o que significa que há uma probabilidade de rejeitar erroneamente  $H_0$  igual a 5%. Dessa forma, se  $p\text{-valor} \geq \alpha$ , rejeita-se  $H_0$  e assume-se que os grupos diferem significativamente; mas se  $p\text{-valor} < \alpha$  os grupos são considerados semelhantes.

O teste de Kruskal-Wallis indica que pelo menos um dos grupos é diferente, mas não informa quais pares de grupos são semelhantes ou não (SIEGEL; CASTELLAN, 2006), sendo necessário aplicar um teste *post-hoc* em caso de

resultado significativo. Nesse caso, adotou-se o teste de Nemenyi (NEMENYI, 1963) de comparações múltiplas, que é comumente utilizado após a aplicação de teste não paramétricos com três ou mais fatores (HECKE, 2012). As análises foram realizadas em ambiente de *software* R (R Core Team 2022), utilizando o pacote DescTools (SIGNORELL et. al., 2022).

### **6.7.2 Estudo das inter-relações entre Firmeza e variáveis fenotípicas**

As 15 variáveis citadas pela literatura especializada como potenciais preditoras à firmeza do fruto (variáveis fenotípicas) (Tabela 3) foram exploradas nas análises de correlação linear de Spearman e equações de modelagem estruturais por partes (SEM).

Os valores multivariados discrepantes foram detectados através do método Mahalanobis (AGGARWAL, 2017), utilizando como valor crítico o critério do lambda Wilks e distribuição  $\chi^2$ , considerando  $\alpha = 0,05$ . Após a remoção das três unidades amostrais indicadas (indivíduos 3, 5, 24), os dados alcançaram a normalidade multivariada, verificada pelo teste Mardia (MARDIA, 1970).

Algumas distribuições (pH, Ca, Hemicelulose e EspCs1) não obtiveram a normalidade univariada, avaliada por meio do teste Shapiro Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965). Dessa forma, optou-se pelo método não paramétrico de correlação de Spearman (SPEARMAN, 1904). O coeficiente de correlação de Spearman ( $\rho$ ) determina o grau de correlação entre as variáveis através de valores situados entre +1 e -1. Correlações com valor de  $\rho$  (+ ou -) maior que 0,9 são consideradas muito fortes; entre 0,9 e 0,7 são fortes; entre 0,7 e 0,5 são moderadas e entre 0,5 e 0,3 são fracas.

Posteriormente, as variáveis foram selecionadas através da análise de seleção direta (BLANCHET; LEGENDRE; BORCARD, 2008), e foram construídos os modelos de equações estruturais por partes (LEFCHECK, 2016) para a análise de efeitos independentes (GRACE et al., 2012). As variáveis preditoras selecionadas para a SEM por partes foram: (A) Análise das inter-relações entre Firmeza, variáveis morfológicas e anatômicas: d2, Massafresca, EspExo, EspEpiex, EspCs1; (B) Análise das inter-relações entre firmeza, teores de cálcio e boro, e variáveis anatômicas: B, Ca, EspExo, EspCut, EspEpiex; (C) Análise das inter-relações entre Firmeza, teor de sólidos solúveis e variáveis

anatômicas: TSS, EspExo, EspCut, EspCs1; (D) Análise das inter-relações entre Firmeza e variáveis físico-químicas: TSS, pH, Celulose, Hemicelulose.

Os SEMs permitem testar hipóteses sobre a rede de relações causais entre observáveis em um sistema e suas forças relativas, sem saber antecipadamente quais variáveis terão efeitos positivos, negativos, diretos ou indiretos sobre esses observáveis. As equações foram utilizadas para revelar relações entre variáveis preditoras (fenotípicas) e a variável resposta (Firmeza) (MICHALETZ; KERKHOFF; ENQUIST, 2018).

A análise SEM por partes foi realizada com a seleção do modelo AIC (SHIPLEY, 2013), sendo considerada melhor do que a SEM tradicional para pequenos conjuntos de dados e aqueles contendo observações não independentes de variáveis multivariadas não distribuídas normalmente (MICHALETZ; KERKHOFF; ENQUIST, 2018). As correlações de Spearman não participam dos modelos da SEM, mas foram utilizadas separadamente para a melhor interpretação das relações entre as variáveis. Foram utilizados os pacotes *piecewiseSEM* (LEFCHECK, 2016) em ambiente de *software* R (R Core Team 2022) para realizar a construção e análise do modelo de equação estrutural por partes.

## 7 RESULTADOS

### 7.1 Características gerais do fruto

O tomate *grape* tipo no estágio “pink” possui cerca de 7,8 g, e forma elipsoide, com diâmetro longitudinal superior ao equatorial (28,0 e 21,6 cm, respectivamente). Possui aproximadamente 9,9 N, 6,6 °Brix, 0,3 mg de ácido cítrico/mL e 4,7 para as características firmeza, teor de sólidos solúveis, de acidez total titulável e pH, respectivamente (Tabela 4).

Os grupos apresentaram valores médios próximos para as características avaliadas entre si e em relação à média total. Apesar disso, foi verificado que Ctr possui médias de d2, Massafresca e Firmeza um pouco superiores à média total e à dos demais grupos. O grupo B destacou-se pelo maior TSS e menor

ATT, características associadas ao melhor sabor do tomate. O grupo Ca possui médias inferiores à total, exceto o pH, que é superior (Tabela 4).

Tabela 4: Características gerais do tomate tipo grape. Os valores correspondem às médias das variáveis nos tratamentos boro (B), cálcio (Ca) e controle (Ctr); e a média total (Total) nos três tratamentos.

Variáveis	B	Ca	Ctr	Total
d1	21,429	21,636	21,768	21,606
d2	27,950	27,902	28,941	28,226
Massafesca	7,854	7,609	8,140	7,848
Firmeza	9,729	9,416	10,388	9,808
TSS	6,757	6,598	6,465	6,611
ATT	0,300	0,367	0,344	0,338
pH	4,758	4,769	4,698	4,744

## 7.2 Anatomia do pericarpo

A partir das análises microscópicas de amostras de pericarpo intacto e com rachaduras, provenientes de frutos não suplementados, foram realizadas descrições anatômicas gerais para o tomate tipo *grape*.

### 7.2.1 Anatomia do pericarpo intacto

O tomate tipo *grape* intacto no estágio “pink” possui pericarpo com cerca de 3 mm de espessura. O exocarpo possui em média 37,3  $\mu\text{m}$ , sendo composto por epiderme e duas camadas subepidérmicas (Tabela 5). A epiderme é unisseriada, glabra e sem estômatos; formada por células retangulares ou quadradas em secção transversal, de paredes primárias retas. A cutícula possui em média 7,7  $\mu\text{m}$  de espessura e impregna fortemente as paredes periclinais e radiais das células epidérmicas (Figura 3:A). Pregas anticlinais de material cuticular ocorrem entre as células da epiderme e alcançam o primeiro estrato das camadas subepidérmicas, depositando-se sobretudo nas paredes periclinais superiores (Figura 3:A). A lamela média (Figura 3:A) encontra-se entre as

paredes radiais de células vizinhas, interrompendo a deposição do material cuticular.

As camadas subepidérmicas externas (EspCs1) consistem em dois estratos celulares, sendo que o externo (Cs1a) está localizado próximo a epiderme, e o interno (Cs1b), ao mesocarpo (Figura 3: A). Ambas são formadas por células de formato elíptico, de comprimentos e largura variados, que dão aspecto descontínuo ao tecido. As células possuem paredes espessas, de natureza péctico-celulósica conforme evidenciado com o teste com vermelho de rutênio. Cs1b diferencia as camadas celulares mais externas do mesocarpo, caracterizadas por células menos volumosas e com diâmetro periclinal (em secção transversal) mais pronunciado em relação às do mesocarpo central.

O mesocarpo é a camada mais espessa do pericarpo, e possui espessura média de 29,0 mm. Esse tecido corresponde aproximadamente 93,6% do pericarpo fresco; enquanto o endocarpo ocupa 5,2%, e o exocarpo, apenas 1,2%. As células mesocárpicas maduras são volumosas e apresentam formato elipsoide, com parede celular primária delgada (Figura 3:B). Em secção transversal, possuem áreas variáveis. Na região central do mesocarpo estão distribuídos os feixes vasculares colaterais, com maior proporção de floema primário em relação ao xilema (Figura 3:B).

O endocarpo possui em média 159,8  $\mu\text{m}$  de espessura; é formado pela epiderme interna e camada de células subepidérmicas (EspCs2) que possuem em média 58,2 e 101,6  $\mu\text{m}$  de espessura, respectivamente. A camada subepidérmica é composta por um estrato celular, formada por células elipsoides, de parede primária delgada, com poucos espaços intercelulares (Figura 3:C). A epiderme interna é unisseriada, formada por células globosas, com paredes primárias finas e cobertas por fina cutícula. Assim como a epiderme externa, não apresenta tricomas ou estômatos (Figura 3:C).

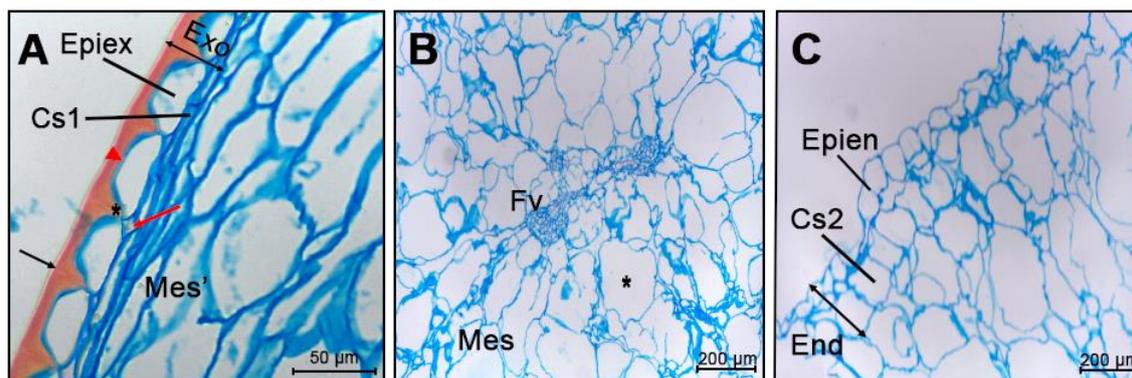


Figura 3: Fotomicrografias de secções transversais do pericarpo de tomate tipo *grape* (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*), coradas com azul de toluidina. A: Exocarpo (Exo) composto por epiderme externa unisseriada (Epiex) com cutícula (triângulo vermelho), e camadas subepidérmicas (Cs1). Prega anticlinal de material cuticular (asterisco preto), que alcança o estrato externo de Cs1 (seta vermelha). Lamela média (seta preta) entre as paredes radiais de células epidérmicas vizinhas. Aspecto do mesocarpo inicial (Mes'), porção externa do mesocarpo diferenciada por Cs1. B: Mesocarpo central (Mes) formado por células parenquimáticas (asterisco), que circundam feixes vasculares (Fv). C: Endocarpo (End), composto por epiderme interna unisseriada (Epien) e camada subepidérmica (Cs2). A: 50 µm, B-C: 200 µm.

### 7.2.2 Anatomia do pericarpo com rachadura

As rachaduras externas do tomate tipo *grape* consistem em rupturas externas e longitudinais do fruto. Sob a rachadura desenvolve-se uma tênue camada de contenção, de aspecto branco e brilhante (Figuras 4: A-B). As lesões mais severas expõem os tecidos pericárpicos, loculares e sementes ao meio externo (Figura 4:C). Em vista frontal, a rachadura mostra que a contenção possui aspecto estriado e distribui-se irregularmente sob as superfícies celulares (Figura 4:D). Constatou-se que a natureza química da contenção é lipídica, devido à reação positiva ao sudan IV (Figura 4:E). Observou-se que a contenção é formada por um espessamento das paredes celulares periclinais de células exocárpicas e mesocárpicas na região da lesão ou próximas a mesma (Figuras 4:F-G). Além disso, as células envolvidas na contenção tornam-se mais compactas.

A Figura 4:G mostra a integração entre as células mesocárpicas, que produzem a camada de contenção que cobre a rachadura; e células do exocarpo, responsáveis por estruturar lateralmente a contenção. Em corte transversal, observa-se que os tecidos exocárpicos próximos à rachadura, apresentam maior estratificação e menor espessura em comparação aos mesmos tecidos oriundos de um fruto intacto (Figuras 4:H-I).

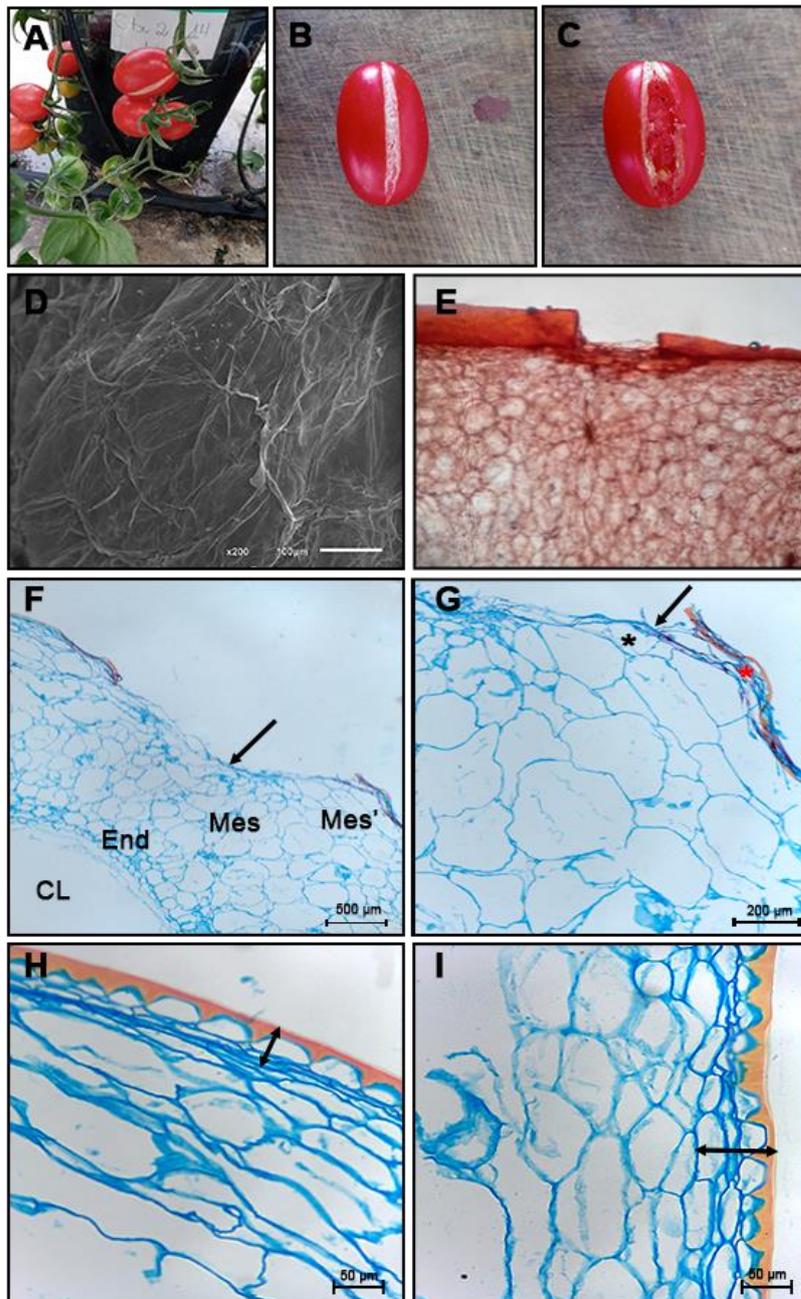


Figura 4: Anatomia do tomate tipo *grape* (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) com rachadura. A: Fruto com rachadura no ramo do tomateiro. B: Fruto com rachadura cicatrizada e camada contenção. C: Fruto com rachadura não cicatrizada. D: Ultraestrutura da camada de contenção, em vista frontal, observados por meio de microscopia eletrônica de varredura. E: Reação positiva ao sudan IV na rachadura. F-I: Fotomicrografias de seções transversais do pericarpo de tomate tipo *grape*, coradas com azul de toluidina. F: Aspecto geral do pericarpo com rachadura ao nível do mesocarpo inicial (Mes') e contenção local (seta preta). O mesocarpo central (Mes), endocarpo (End) e cavidade locular (CL) não foram comprometidos pela rachadura. G: Detalhe da rachadura, mostrando a contenção (seta preta) formada pelo espessamento de parede das células mesocárpicas (asterisco preto) e espessamento de parede das células epicárpicas próximas à região de ruptura (asterisco vermelho). H: Aspecto compacto do exocarpo (seta dupla) localizado próximo à rachadura. I: Exocarpo de fruto intacto (seta dupla). D = 100;  $\mu\text{m}$  E = 200  $\mu\text{m}$ ; F = 500  $\mu\text{m}$ ; G = 200  $\mu\text{m}$ ; H-I = 50  $\mu\text{m}$ .

### 7.3 Suplementação com Cálcio e Boro

As concentrações de Ca e B utilizadas nos tratamentos de suplementação via substrato não produziram aumento na Firmeza, que foi estatisticamente semelhante entre os grupos (Tabela 5)

A média de Firmeza alcançada foi de 9,8 N, sendo o maior valor alcançado no tratamento Ctr (10,6 N) e o menor, em Ca (9,4 N). O teor de cálcio também foi mais elevado no tratamento Ctr (2,9 g/Kg), e menor no tratamento Ca (2,2 g/Kg); apesar de não haver diferenças estatísticas entre os grupos (Tabela 5)

Os tratamentos de suplementação promoveram diferenças entre os grupos apenas em relação às variáveis S, Mg, P e N (Tabela 5). O tratamento Ctr possui teor de S superior aos demais grupos (1,3g/kg), enquanto o tratamento B apresentou o menor teor desse nutriente (1,1 g/Kg). O tratamento Ca obteve os maiores teores de Mg, P e N (1,6; 3,9; 17,0 g/Kg, respectivamente).

Não foram observados entre os tratamentos diferenças em relação às variáveis anatômicas (Tabela 5). Apesar disso, as médias de Ctr para espessura do endocarpo e hipoderme interna são superiores às dos demais tratamentos, e à média geral (Tabela 5). As amostras Ctr também apresentaram maior espessura da espessura da hipoderme externa, como mostra a tabela 5. O grupo Ca apresentou maiores médias de espessura do pericarpo, mesocarpo e cutícula (Tabela 5). O grupo B possui, em média, o exocarpo e epiderme externa mais espessos.

Tabela 5: Resumo dos testes Kruskal Wallis de comparações múltiplas entre os tratamentos de suplementação nutricional boro (B), cálcio (Ca) e controle (Ctr). Os valores correspondem às médias das variáveis por tratamento, e a média total (Total) nos três tratamentos.

Variáveis	B	Ca	Ctr	Total	p-valor
d1	21,429	21,636	21,768	21,606	0,614
d2	27,950	27,902	28,941	28,226	0,810
Massafesca	7,854	7,609	8,140	7,848	0,626
Firmeza	9,729	9,416	10,388	9,808	0,182
TSS	6,757	6,598	6,465	6,611	0,575
ATT	0,300	0,367	0,344	0,338	0,461
pH	4,758	4,769	4,698	4,744	0,133

Ca	2,204	1,846	2,339	2,111	0,313
B	14,889	15,600	16,625	15,667	0,156
Celulose	0,194	0,090	0,086	0,123	0,134
Hemicelulose	7,00E-03	7,20E-03	7,76E-03	7,30E-03	0,174
Lignina	2,68E-05	2,98E-05	2,97E-05	2,88E-05	0,358
EspPer	2951,733	3133,153	3099,154	3062,606	0,623
EspMes	2773,292	2945,068	2884,634	2869,903	0,686
EspExo	37,452	34,967	38,114	36,728	0,174
EspEnd	140,987	153,114	176,405	155,973	0,078
EspCut	7,476	7,564	8,020	7,670	0,931
EspEpiex	17,586	15,553	15,733	16,284	0,329
EspCs1	12,390	11,852	14,363	12,775	0,161
EspEpien	51,608	58,770	60,490	56,892	0,130
EspCs2	89,382	94,346	115,916	99,083	0,082

Probabilidade de significância (p-valor): \*\*\*,  $p \leq 0,001$ ; \*\*,  $0,01 < p \leq 0,05$ ; \*,  $0,05 < p \leq 0,10$ . Médias seguidas pelas mesmas letras, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Nemenyi, a 5% de probabilidade.

## **7.4 Inter-relações entre Firmeza e variáveis fenotípicas**

### **7.4.1 Correlações**

A Firmeza possui correlação significativa com as variáveis físico-químicas TSS e pH (Tabela 6). Em ambos os casos, as associações são negativas e consideradas fracas ( $p < 0,5$ ). Esses resultados informam que o aumento da Firmeza está linearmente associado à redução de TSS e pH, assim como sua redução está associada ao aumento dessas duas variáveis. As correlações entre as variáveis fenotípicas estão descritas na Tabela-7 (Anexos).

Tabela 6: Correlações de Spearman entre firmeza do fruto e variáveis fenotípicas.  $\rho$  = coeficiente de correlação de Spearman.

Variáveis		$\rho$	p-valor
Firmeza	d1	-0,0855	0,6714
Firmeza	d2	-0,0927	0,6455
Firmeza	Massafresca	-0,0046	0,9819
Firmeza	TSS	-0,4290	0,0255*
Firmeza	ATT	-0,0914	0,6503
Firmeza	pH	-0,3845	0,0476*
Firmeza	Ca	0,1532	0,4456
Firmeza	B	-0,0914	0,6503
Firmeza	Celulose	0,1060	0,5986
Firmeza	Hemicelulose	0,2032	0,3093
Firmeza	Lignina	-0,1889	0,3454
Firmeza	EspPer	-0,1738	0,3860
Firmeza	EspExo	0,0544	0,7877
Firmeza	EspCut	0,3439	0,0790
Firmeza	EspEpiex	-0,1753	0,3818
Firmeza	EspCs1	-0,0139	0,9451

Probabilidade de significância (p-valor): \*\*\*,  $p \leq 0,001$ ; \*\*,  $0,01 < p \leq 0,05$ ; \*,  $0,05 < p \leq 0,10$ .

#### 7.4.2 Equações de modelagem estruturais

Considerando todo o conjunto de características selecionadas, observou-se que duas podem ser consideradas como variáveis-chave no sistema, devido a magnitude de influência sob a firmeza do fruto e/ou pela capacidade de estabelecer outras relações. Nesse contexto, destacam-se o Ca e TSS em sistemas distintos; sendo que o primeiro atua em conjunto com as variáveis anatômicas, e o segundo, é determinante junto às variáveis físico-químicas. Ambas apresentam efeitos diretos e significativos, mas antagônicos, em relação à firmeza: enquanto elevações do teor de cálcio promovem a firmeza do fruto, elevações do TSS a reduzem. Por esse motivo foram consideradas em sistemas diferentes, sempre levando em conta as relações em conformidade com a literatura.

### 7.4.2.1 Análise das inter-relações entre Firmeza, variáveis morfológicas e anatômicas

A Firmeza foi influenciada negativamente por d2 ( $R^2=-,69$ ; p-valor=0,02), indicando que o aumento do diâmetro equatorial promove a redução da variável-resposta. A EspExo promoveu efeitos positivos na Firmeza ( $R^2=0,34$ ; p-valor=0,03), apesar de EspEpiex desempenhar efeito negativo ( $R^2=0,34$ ; p-valor=0,03) ( $R^2=-0,43$ ; p-valor= 0,01). A relação positiva de casualidade entre d2 e Massafresca ( $R^2=0,52$ , p-valor=0,00) demonstram que aumentos de diâmetro equatorial estão relacionados ao aumento de massa. As variáveis morfológicas não foram influenciadas pelas variáveis anatômicas, e suas inter-relações não explicaram a variações de Firmeza (p-valor =1; AIC = 50) (Figura 5).

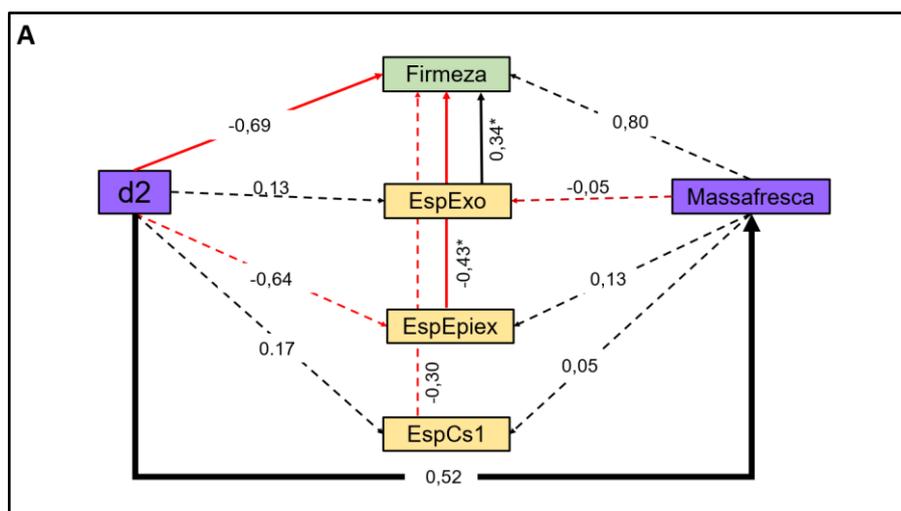


Figura 5: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza, variáveis morfológicas e anatômicas do tomate tipo *grape* (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) (p-valor=1, AIC=50), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas por setas que partem da variável preditora (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações preditor-resposta (p-valor <0,05) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável preditora e uma resposta.

### 7.4.2.2. Análise das inter-relações entre Firmeza, teores de cálcio e boro, e variáveis anatômicas

A Firmeza foi positivamente influenciada por Ca ( $R^2=0,69$ ;  $p$ -valor=0,05), que promoveu seu efeito diretamente. Além disso, Ca possui relação de causa efeito, positiva e direta com EspCut ( $R^2=0,84$ ;  $p$ -valor = 0,02). EspExo é influenciada positivamente por EspEpiex ( $R^2= 0,08$ ;  $p$ -valor=5E<sup>-4</sup>), mas não por EspCut. Ca e B não promoveram efeitos na espessura dos componentes do exocarpo, e a variação de firmeza não foi explicada por meio das inter-relações entre essas variáveis ( $p$ -valor= 1; AIC = 50) (Figura 6).

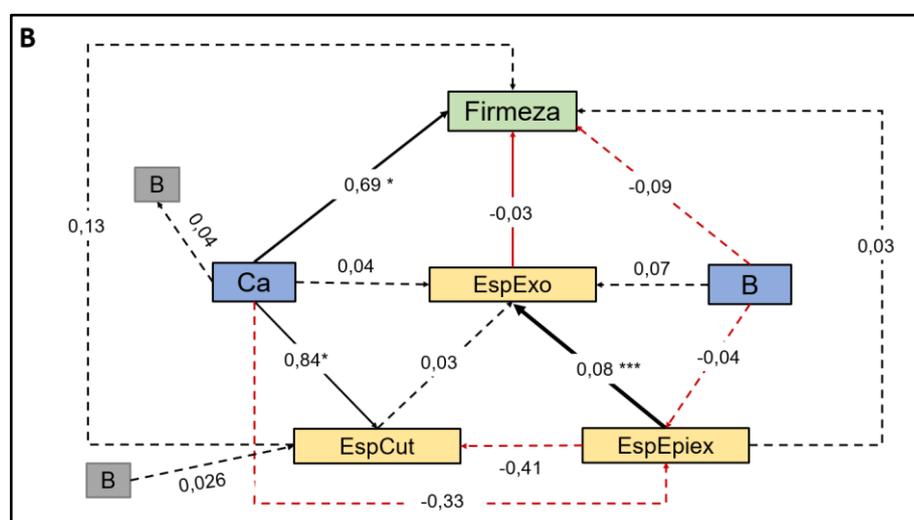


Figura 6: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza, teor de cálcio e variáveis anatômicas (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) ( $p$ -valor= 1; AIC = 50), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas pelas setas que partem da variável preditora (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações preditor-resposta ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável preditora e uma resposta.

### 7.4.2.3 Análise das inter-relações entre Firmeza, teor de sólidos solúveis e variáveis anatômicas

A Firmeza é negativamente influenciada por TSS ( $p$ -valor=1, AIC=36), indicando que o aumento do teor de açúcares solúveis promove redução da variável-resposta. EspCs1 promove efeito positivo em EspExo ( $R^2=0,82$ ,  $p$ -

valor=2,00 E<sup>-4</sup>), e é o componente do exocarpo mais determinante para sua variação de espessura. TSS não promoveu efeitos nas variáveis anatômicas, e estas não estão relacionadas por causa-efeito com Firmeza. Dessa forma, as inter-relações entre as variáveis predictoras não explicou a variação de Firmeza (p-valor=1, AIC=36) (Figura 7).

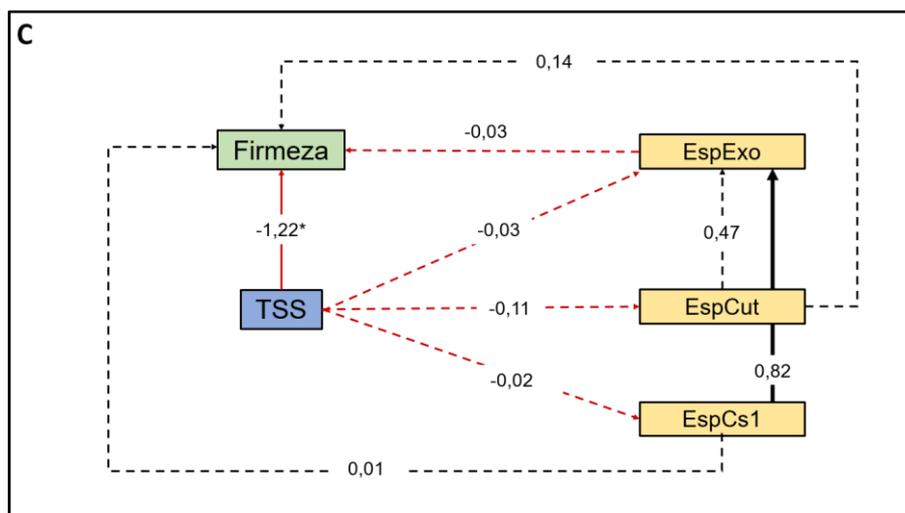


Figura 7: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza, teor de sólidos solúveis e variáveis anatômicas (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) (p-valor=1, AIC=36), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas pelas setas que partem da variável predictor (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações predictor-resposta (p-valor <0,05) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável predictor e uma resposta.

#### 7.4.2.4 Análise das inter-relações entre Firmeza e variáveis físico-químicas

A Firmeza é negativamente influenciada por TSS, indicando que o aumento do teor de açúcares solúveis promove redução da variável-resposta ( $R^2 = -1,12$ , p-valor = 0,014). pH e Hemicelulose estão associadas negativamente por causa-efeito, ( $R^2 = 0,48$ , p-valor=0,0092). Os carboidratos estruturais não estão associados, e não influenciam a Firmeza. As inter-relações entre as variáveis predictoras não explicaram a variação de firmeza do fruto não foi confirmada (p-valor = 1,00, AIC = 36) (Figura 8).

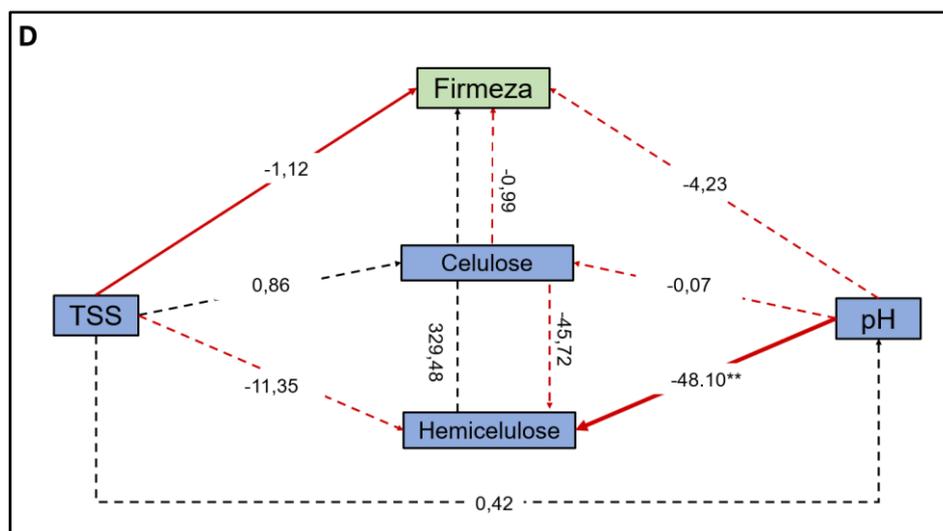


Figura 8: Modelo simplificado das inter-relações entre Firmeza e variáveis físico-químicas (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) (p-valor=1, AIC=36), obtido por modelagem de equações estruturais por partes. As variáveis foram selecionadas por meio de análise de seleção direta, e estão representadas pelas caixas com abreviatura. As relações foram estabelecidas de acordo com a literatura científica, e estão representadas pelas setas que partem da variável preditora (cauda) e chegam na resposta (seta). Efeitos de maior magnitude são expressos por setas mais robustas. Os efeitos estatisticamente insignificantes nas relações preditor-resposta (p-valor < 0,05) são mostrados por meio das setas vazadas. Os números correspondem aos coeficientes de regressão estimados. Números positivos (setas pretas) e números negativos (setas vermelhas), representam efeitos positivos e negativos, respectivamente, entre uma variável preditora e uma resposta.

## 8 DISCUSSÃO

### 8.1 Características gerais do fruto

O tomate tipo *grape* apresenta semelhanças morfológicas com linhagens da variedade cereja, com exceção da massa fresca, que é inferior. Além disso, destaca-se pela maior espessura do exocarpo. Possui menor pH, e maior Firmeza e ATT, em comparação ao cultivares tipo salada. De forma geral, as amostras utilizadas apresentam as características gerais e aspectos de qualidade esperados para a linhagem, ou semelhantes à de outros minitomates. Devido à ausência de informações específicas sobre o estágio de desenvolvimento “pink”, algumas características foram comparadas ao estágio “red”, que é amplamente utilizado em pesquisas sobre a qualidade geral do tomate.

As características morfológicas do tomate tipo *grape* no estágio “pink” foram semelhantes às observadas em cultivares de minitomate no estágio “red”.

O d1 médio verificado nesse estudo é semelhante ao relatado para linhagens híbridas de minitomate por Maciel et al. (2016) e Finzi et al. (2019). O d2 médio é superior ao verificado por Preczenhak et al. (2014) em frutos de 64 linhagens de minitomates, que obtiveram média de 27,8 mm. A média de Massafresca foi inferior às do cultivar *Sweet grape* em Preczenhak et al. (2014) e Cunha et al. (2014), com 14,5 e 9,16g, respectivamente.

A Firmeza média do tomate tipo *grape* no estágio “pink” foi inferior à do tomate-cereja “Unicorn” no mesmo estágio de desenvolvimento (18,2 N) (ISLAM et al., 2018). Em comparação a cultivares de tomates de mesa, de tamanho médio e no estágio “red”, a Firmeza do tomate tipo *grape* é superior (BATU, 2004; MODOLON et al., 2012; JIANG et al., 2019, CONSTANTINO et al., 2021).

O TSS médio do tomate tipo *grape* no estágio “pink” foi semelhante ao mínimo esperado para essa linhagem no estágio “red” pela SAKATA (JUNQUEIRA; PEETZ; ONODA, 2007). A média no estágio “pink” foi inferior à de Mundim et al. (2014) e Finzi et al (2019), que obtiveram 8,5 e 7,3 °Brix em tomate tipo *grape* no estágio “red”. Em relação ao cultivar de tomate-cereja Alisa Craig (5,7 °Brix) no estágio “pink”, o TSS médio do tomate tipo *grape* foi superior (ISLAM et al., 2018).

A média de ATT obtida é inferior ao verificado por Islam et al. (2018), para a variedade ‘Unicorn’ no estágio “pink” (0,58 g/100g de ácido cítrico). Em comparação com tomates destinados a processamento (0,24 g/100g de ácido cítrico), no estágio “red”, o tomate tipo *grape* possui maior ATT média (WILKERSON et al., 2013).

O pH foi semelhante ao obtido por Heath (2012) para a variedade *Sweet grape* no estágio “red”. Comparado a cultivares tipo salada, o híbrido tipo *grape* possui menor acidez (THYLBO et al., 2006; MODOLON et al., 2012; LIU et al, 2020).

Em relação aos teores de Ca e B, o tomate tipo *grape* apresentou médias superiores aos da cultivar *Sweet grape* no estágio “red”, que possui 0,84 g/Kg de Ca e 3,22 mg/Kg de B (DE MELLO, 2022). Os teores de carboidratos estruturais médios estão abaixo do obtido por Lenucci et al., (2008); Szymanska-Chargot et al., (2017).

A EspCut média do tomate tipo *grape* no estágio “pink” é superior ao das variedades de tomate-cereja Cascada, Gardner’s Delight e RIL115 no estágio

“red” (7,2; 5,2 e 6,4  $\mu\text{m}$ , respectivamente); e inferior ao Cornell (9,4  $\mu\text{m}$ ) no mesmo estágio de desenvolvimento (DOMINGUEZ et. al, 2008). A espessura da cutícula pode variar entre 0,66-4,40  $\mu\text{m}$  em diferentes cultivares (VELA-HINOJOSA, 2008), o que está de acordo com o observado nesse trabalho para comparações realizadas. A EspEpiex média foi de 16,3  $\mu\text{m}$ ; valor superior ao observado em genótipos de minitomates LA1698 e LA2683, que possuem em média 15,96 e 15,90  $\mu\text{m}$ , respectivamente (YANG et al., 2016). A EspExo foi superior ao verificado por Rančić, Quarrie e Pećinar (2010), que obtiveram médias de 31,7  $\mu\text{m}$  para tomate-cereja (39 DAP). Os mesmos autores registraram média superior de EspCs1 (20,0  $\mu\text{m}$ ), considerando três camadas de células subepidérmicas. As médias de EspPer, EspMes e EspEnd foram superiores aos obtidos por Rančić; Quarrie; Pećinar (2010) para as mesmas variáveis, cuja a média foi de 1740,6, 1670, 9 e 31.5  $\mu\text{m}$ .

## **8.2 Anatomia do pericarpo com rachadura**

PRECISO FALAR MAIS SOBRE A RACHADURA. TRAZER MAIS INFORMAÇÕES SOBRE O PADRÃO DA FISSURA E FORMA DO FRUTO, FALAR MAIS DA RACHADURA NO TOMATE

A cicatrização do tomate tipo *grape* consiste na produção de uma contenção local, sem o desenvolvimento da periderme de cicatrização. Essa característica é incomum, já que a produção da periderme ocorre em cultivares de tomate de mesa (GRAÇA, 2015), incluindo a variedade cereja (TAO et al., 2016), da qual a linhagem tipo *grape* foi derivada.

A contenção é formada pela camada de células pericárpicas diretamente lesionadas, expostas ou próximas ao local da ruptura. Observa-se que, em sessão transversal, essas células apresentam paredes mais espessas, menor área e organizam-se de forma compacta.

A maior compactação celular é decorrente da dessecação que as células expostas ao meio externo sofrem (DEAN; KOLATTUKUDY, 1976). Conseqüentemente, as células perdem volume e apresentam menor área em sessão transversal. Os mesmos autores relatam que a primeira mudança observável na superfície cortada de um tecido vegetal é a dessecação da

primeira camada de células danificadas e de uma a poucas camadas de células próximas.

O espessamento das paredes primárias é provavelmente devido processo de suberização primária, que ocorre em superfícies cortadas de tecidos vegetais (KOLATTUKUDY, 2001). A impregnação das paredes com suberina é coerente ao resultado positivo do sudan IV, que detecta a presença de substâncias de natureza lipídica. As macromoléculas de suberina contêm domínios poli aromáticos e poli alifáticos, reticulados por esterificação de glicerol, e estão localizados entre a parede celular primária e a membrana plasmática (KOLATTUKUDY, 2001). Além disso, a literatura científica relata que a suberização ocorre em vários tipos olerícolas (batata, inhame, batata-doce, cenouras feijão, vagem, pepino), inclusive no tomate (KOLATTUKUDY, 2001).

O primeiro estágio de suberização, considerado como suberização primária, inclui a formação de uma barreira por meio da qual biopolímeros de suberina se acumulam nas paredes celulares na superfície da rachadura (GRAÇA, 2015). A anatomia da contenção produzida pelo tomate tipo *grape* é semelhante aos tecidos desse estágio; que consiste em uma proteção provisória de células adjacentes à lesão, de arranjo compacto, e paredes espessadas (TAO et al., 2016).

O segundo estágio de suberização, considerada como suberização secundária, envolve o desenvolvimento da periderme de cicatrização pelo meristema secundário felogênio (GRAÇA, 2015). Não foram encontrados na literatura exemplos de espécies vegetais que promovem a suberização primária, mas não a secundária. Até mesmo danos mecânicos leves, como rachaduras pequenas e pouco profundas, passam pelo processo de suberização secundária no máximo de três a cinco dias após a lesão (SERRA et al., 2012; MACNEE et al., 2020).

Dessa forma, são necessários mais estudos que investiguem as etapas de cicatrização do tomate tipo *grape*, e a composição química das substâncias que impregnam as paredes celulares que foram a barreira de contenção. O teste histoquímico realizado evidenciou a presença de substâncias lipídicas, mas não foi comprovado que se trata da suberina. É necessário considerar que o híbrido tipo *grape* é um produto com características altamente selecionadas, que possivelmente foram adquiridas por melhoramento genético (JUNQUEIRA;

PEETZ; ONODA, 2007). As informações acerca dos procedimentos realizados são confidenciais, mas é possível especular sobre possíveis explicações para a cicatrização observada no tomate tipo *grape*.

Rachaduras ou danos mecânicos superficiais são limitantes para a comercialização do tomate tipo *grape*; já que esse produto é muito utilizado na culinária para fins estéticos, como enfeite de pratos, acompanhamentos ou *courvet* (ALVARENGA, 2013). Os frutos com rachadura perdem seu valor de mercado, e não são destinados ao consumo *in natura*; mas podem ser utilizados para fabricação de molhos, geleias, extratos, recheios, conservas, entre outros. Dessa forma, considerando as diversas aplicações do tomate tipo *grape*, é mais vantajoso comercialmente que o fruto rachado desenvolva apenas a cicatrização superficial.

Estudos recentes descrevem que o processo de suberização está negativamente relacionado ao de biossíntese de cutícula nas regiões lesionadas do tomate (MACNEE et al., 2020). De acordo com os mesmos autores, a expressão gênica dos genes relacionados à suberização está associada à menor atividade dos genes de biossíntese da cutícula, o que impede que o tecido de cicatrização desenvolva cutícula. Panikashvili et al. (2009) verificaram que o gene *Defective in cuticular ridges* está envolvido na síntese de enzimas responsáveis pela incorporação do monômero mais abundante da cutina na flor de *Arabidopsis*. Posteriormente, o mesmo gene foi identificado no tomate, e seu silenciamento promoveu a suberização secundária por toda a superfície do exocarpo, mostrando que o processo ocorre quando a biossíntese de cutícula não ocorrer (PANIKASHVILI et al. 2009). Dessa forma, a literatura contém informações sobre o *trade-off* de expressão gênica entre suberização e biossíntese de cutícula, e é possível que essa relação tenha sido explorada em programas de melhoramento genético. Apesar disso, a ausência de suberização nas lesões, mas com continuidade de deposição de cutícula não foi descrita, trata-se apenas de uma possível explicação para o padrão de cicatrização observado, considerando a natureza química das substâncias presentes na rachadura.

### **8.3 Suplementação Nutricional com Cálcio e Boro**

Os tratamentos de suplementação nutricional de Ca e B não promoveram aumento da firmeza do fruto. Além disso, as concentrações desses elementos também foram estatisticamente semelhantes entre os tratamentos, indicando que a maior oferta desses nutrientes não foi acompanhada de maior absorção. Apesar dos resultados não significativos, as amostras do tratamento Ctr apresentaram as maiores concentrações desses nutrientes.

O tomate *grape* tipo ainda é pouco estudado, em comparação com outros cultivares que estão no mercado brasileiro. Ainda são necessárias pesquisas que determinem a marcha de nutrientes específica para essa linhagem. De maneira geral, os produtores adotam para seu cultivo o manejo nutricional utilizado para a variedade cereja, com modificações. Nesse trabalho, foi utilizada a solução nutritiva modificada de Papadopoulos (1991), que contém 4,8 mmol L<sup>-1</sup> de Ca e 25,0 µmol L<sup>-1</sup> de B. Mesmo sem a suplementação nutricional, a concentração de Ca ofertada é mais que suficiente para o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo do tomate-cereja (PAPADOPOULOS, 1991; HALEEMA et al., 2018; MATÍNEZ et al., 2018; DE MELLO, 2022). Dessa forma, é possível que o tratamento Ctr, que utilizou apenas a solução nutritiva padrão, já funcionasse como uma suplementação nutricional.

### **8.4 Inter relações entre Firmeza variáveis fenotípicas**

#### **8.4.1 Análise das inter-relações entre Firmeza, variáveis morfológicas e anatômicas**

Nesse trabalho, foi verificado que o diâmetro equatorial dos tomates tipo *grape* influencia negativamente a Firmeza, o que está de acordo com Gill e Nandpurl, (1970); Considine e Brown, (1981), e Peet (1992). Mas a Massa fresca do fruto, que é positivamente influenciada por d2, não desempenha efeito na Firmeza. Dessa forma, o diâmetro equatorial é a única característica morfológica relevante para a Firmeza, considerando o sistema de variáveis proposto.

Considine e Brown (1981) avaliaram como a forma do fruto está relacionada à distribuição da tensão interna em sua superfície. Com exceção

dos frutos esféricos, a intensidade e distribuição do estresse mecânico variam de acordo com a morfologia do fruto; sendo diretamente proporcional ao diâmetro de curvatura e inversamente a espessura do pericarpo de determinada de uma região (CONSIDINE; BROWN, 1981).

O tomate tipo *grape* possui formato elipsoide; com as extremidades equidistantes do centro e com diâmetros semelhantes, e uma região equatorial com diâmetro maior que os dos ápices. De acordo com esses autores, a região equatorial recebe maior intensidade de estresse mecânico em detrimento das extremidades devido ao seu maior diâmetro de curvatura. Essa região é a mais susceptível ao aparecimento das fissuras, que provavelmente, processam-se internamente no pericarpo, e depois alcançam a superfície (JACKMAN; MARANGONI; STANLEY, 1992). Dessa forma, o incremento de d2 no tomate tipo *grape* aumenta a tensão direcionada à região equatorial do fruto, e conseqüentemente, reduz a firmeza na área, tornando-a susceptível à ruptura.

Esperava-se que a espessura dos tecidos exocárpicos estivessem relacionadas positivamente às características morfológicas do fruto; assim como verificado por Liu et al. (2020). No entanto, não foram observadas nesse estudo relações causais ou de correlação entre as variáveis desses grupos. Da mesma forma que EspExo é pouco representativa para a espessura total do pericarpo, é possível que as relações não significativas estabelecidas entre essa variável com d2 e Massafresca ocorram devido à sua espessura muito reduzida.

Essa possibilidade seria válida se fossem verificadas relações de casualidade significativas entre a espessura do pericarpo e as variáveis morfológicas, o que não foi confirmado pelas análises de regressão linear simples ( $R^2= 0,03$ ; p-valor=0,73, EspPer e Massafresca;  $R^2=-0,03$ ; p-valor=0,73, EspPer e d2) (dados não publicados). Dessa forma, é possível que os outros tecidos internos do fruto (septo, columela, placenta, tecidos loculares) desempenhem efeitos mais importantes na variação dessas características que o pericarpo, e conseqüentemente, o exocarpo. A mensuração das variáveis morfológicas levou em consideração todos os tecidos internos do fruto; mas essa análise considerou apenas o pericarpo.

O volume que cada tecido interno do fruto ocupa é muito variável entre os diferentes cultivares de tomate (SZYMANSKA-CHARGOT et al., 2017), e essas informações ainda não estão disponíveis na literatura especializada para o

tomate tipo *grape*. Apesar disso, Kaur et al. (2008) verificaram que em tomates destinados para processamento, cerca de 33% do volume total é ocupado do sementes; 27%, pelo exocarpo; e 40% pela polpa (pericarpo e demais tecidos internos). Liu et al. (2020) verificaram que as células mesocárpicas, que possuem o maior volume médio do pericarpo, possuem volume médio significativamente inferior ao observado nas células dos septos nos três estágios de maturação avaliados (“green”, “pink” e “red”). Apesar disso, o volume médio das células mesocárpicas foi superior em todos os estágios ao das células do exocarpo, endocarpo e columela. Dessa forma, existem algumas sugestões de que os tecidos internos são muito representativos no fruto, e, portanto, deveriam ter sido considerados na análise para resultados mais fidedignos.

#### **8.4.2 Análise das inter-relações entre Firmeza, teores de cálcio e boro, e variáveis anatômicas**

A hipótese que os teores de Ca e B influenciariam positivamente a Firmeza por meio de suas relações com os componentes do exocarpo não foi confirmada. Dentre as variáveis avaliadas, apenas Ca possui relação de causalidade com Firmeza. Essa mesma variável também influencia EspCut positivamente.

Especula-se que as relações de Ca e B com os componentes do exocarpo ocorrem devido às suas associações com a pectina, variável que não foi mensurada. Simultaneamente, Ca e B estabelecem ligações covalentes de caráter iônico entre as cadeias de pectina adjacentes, formando uma matriz de gel tridimensional, cristalina, e altamente hidratada (YANG et al., 2016). O cálcio liga-se a grupos carboxila livres de pectinas de baixa esterificação, formando o pectato de cálcio (WILLATS et al., 2006). Nestes géis pécticos, os grupos carboxila ( $\text{COO}^-$ ) carregados de cadeias de pectina vizinhas são ligados via  $\text{Ca}^{2+}$ , e forma um complexo firme com a pectina, denominado pectato de cálcio (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O teor total de cálcio do fruto está positivamente correlacionado à concentração de pectato de cálcio, e cerca de 77–86% do cálcio total do tomate está associado à pectina (DONG et al., 2004). O boro também se associa à pectina por meio de ligações cruzadas, mas apenas entre os domínios RG-II. A associação de boro com RG-II foi encontrada em 24 espécies de plantas

superiores, o que sugere a onipresença de um complexo B-RG II nas paredes celulares das plantas superiores (MATOH; KAWAGUCHI; KOBAYASHI, 1996).

A pectina e suas frações não foram mensuradas nesse estudo, mas é conhecido que a epiderme e camadas subepidérmicas externas são os tecidos pericárpicos com maior quantidade de pectina, expressa como equivalente de ácido galacturônico (DONG et al., 2004; LAHAYE et al., 2013; RUIZ et al., 2015; SEGADO, DOMÍNGUEZ; HERIDIA, 2016). Lahaye et al. (2013) verificaram correlações positivas e significativas entre teor de pectina e espessura do pericarpo para genótipos das linhagens Levovil e MoneyBerg. Dessa forma, levando em conta a contribuição do cálcio e boro com na formação e estabilidade da rede de pectina, e que EspEpiex ( $R^2 = 0,32$ ; p-valor =  $6,4E^{-5}$ ) e EspCs1 ( $R^2 = 0,48$ ; p-valor= $1,1E^{-6}$ ) influenciam significativamente a EspExo (dados não publicados); esperava-se que Ca e B influenciassem indiretamente EspExo.

A mensuração dos tecidos exocárpicos foi avaliada em secções transversais de pericarpo, e as espessuras das paredes periclinais foram consideradas. Possivelmente, a variação de Ca e B associada à pectina dessas paredes não gerou efeitos significativos na espessura dos tecidos. Esse resultado pode ser explicado devido à independência entre espessura da parede primária e a matriz de pectina que ancora outros componentes estruturais. De acordo com McCann e Roberts (1996), a espessura da parede primária é concentração e arranjo espacial da rede de celulose-hemicelulose, estando a matriz de pectina subordinada ao desenvolvimento da rede celulose-hemicelulose. Os mesmos autores removeram a pectina da parede primária de cebola utilizando uma técnica de congelamento rápido, e verificaram que a arquitetura da rede celulose-hemicelulose continua preservada. Apesar do distanciamento e ordenação entre os polissacarídeos não ter sido alterada, a remoção da matriz de pectina aumentou o tamanho dos poros na malha de microfibrilas; mas a distância entre protoplasto e lamela média não foi alterada pela ausência da pectina.

Em oposição a McCann e Roberts (1996), Shea, Gibeaut e Carpita (1989) demonstraram que o quando uma parede celular é regenerada por um protoplasto de cenoura, a matriz de pectina é estabelecida primeiro, por meio da qual a rede celulose/hemicelulose é posteriormente intercalada. Outra evidência de que a pectina pode formar uma rede independente e determinar a espessura

da parede foi verificada por Shedletzky et al. (1990), em células de tomate cultivadas em solução inibidora de síntese de celulose (2,6-diclorobenzonitrila, 12 $\mu$ M). Mesmo na ausência de celulose, a parede primária é estabelecida através da matriz de pectinas, principalmente, e por quantidades reduzidas de xiloglucanos. Há evidências crescentes de que os polissacarídeos pécnicos contribuem para a resistência mecânica e as propriedades físicas das paredes primárias (RIDLEY et al., 2001). A análise comparativa dos mutantes mur1 e mur2 de *Arabidopsis* também implica que a pectina, em vez de xiloglucano, é o parceiro mais importante de micro fibrilas de celulose em proporciona força às paredes celulares das plantas (HÖFTE, 2001; O'NEILL et al., 2001; VANZIN et al., 2002).

Em todos os casos citados, independentemente da matriz de pectina (ligada ao Ca e B) estar ou não positivamente associada a espessura da parede primária, como foi proposto; é necessário levar em conta as relações dessa variável com os demais carboidratos estruturais. Nesse caso, avaliou-se a relação do Ca e B com essas variáveis, como forma indireta de considerar suas relações com pectina. Não existem relações significativas de causa-efeito entre essas variáveis os carboidratos estruturais (avaliadas por meio de regressão linear simples; dados não publicados); apenas o Ca foi positivamente correlacionado à Celulose ( $p = 0,38$ ,  $p\text{-valor}=0,05$ ) (Tabela 6).

Nesse estudo foi verificada uma relação causal e direta entre o teor de Ca e EspCut. O esperado era que EspCut não apresentasse relação de causa-efeito com o Ca, levando em conta que o cálcio estrutural se encontra principalmente na epiderme e camadas subepidérmicas, associado à pectina (DONG et al., 2004; RUIZ et al., 2015).

A cutícula do tomate-cereja é composta principalmente por uma fração de ceras, depositas sob uma matriz insolúvel de cutina, que constitui seu principal componente (SEGADO; DOMÍNGUEZ; HEREDIA, 2016). A membrana cuticular repousa sobre e se funde com a parede periclinal externa das células epidérmicas (DOMÍNGUEZ et al., 2008; YEATS et al., 2012). Assim, uma fração de polissacarídeos da parede celular é incorporada à cutícula e pode ser considerada como um de seus componentes (DOMÍNGUEZ et al., 2008; YEATS et al., 2012). De acordo com Thompson (2001), devido à profunda associação

entre a cutícula e a parede celular, ambas têm propriedades e funções sobrepostas.

Dessa forma, a contribuição do Ca para a espessura da cutícula pode ter relação com a presença do pectato de cálcio na parede primária incorporada pela cutícula. Além disso, como foi mencionado anteriormente, Ca foi positivamente correlacionado à Celulose ( $p = 0,38$ ,  $p\text{-valor}=0,05$ ) (Tabela 6); mas não possui relações de causa efeito significativas com os carboidratos estruturais (avaliadas por meio de regressões lineares simples, dados não publicados).

A associação positiva entre espessura do exocarpo e seus constituintes com a firmeza é abordada por vários estudos (DEMIRSOY; DEMIRSOY, 2004; MATAS et al., 2004; MATAS et al., 2005; BARGEL; NEINHUIS, 2005; PESCHE; KNOCH, 2005). Essas características também são negativamente correlacionadas à taxa de ruptura dos frutos (CORREIA et al., 2018; LICHTER et al., 2002; ZHANG et al., 2020).

A avaliação da firmeza do fruto consiste na medição da força (N) necessária para romper o exocarpo por meio de uma punção externa. Sendo assim, em condições semelhantes (duração do procedimento, local do fruto, área do instrumento de punção) é preciso aplicar maior força para romper o exocarpo de um fruto firme, em comparação ao de um fruto menos firme. Frutos com pressão interna elevada tendem a apresentar menor firmeza devido à tensão desenvolvida no exocarpo (ZHANG et al., 2020). Em geral, à medida que a tensão interna aumenta durante o amadurecimento do fruto, o exocarpo é tensionado e torna-se mais delgado e frágil (ZHANG et al., 2020).

A resistência de um tecido tem duas propriedades: a força (capacidade de conter a pressão interna) e a elasticidade (capacidade do tecido de adequar-se para conter variações de volume)(LAHAYE et al., 2013). Ambas as propriedades estão relacionadas estrutura e composição das paredes primárias e junções intercelulares. Até o tecido atingir seu módulo máximo de elasticidade, aumentos da pressão de turgor (ou da força aplicada na punção) promovem a distensão das paredes celulares, e do tecido como um todo, aumentando sua rigidez, mas sem causar fraturas (CONSIDINE; BROWN, 1981). Quando o módulo máximo de força é atingido, o tecido adquire sua espessura mínima e sua superfície fica

tensionada, rígida e esticada. Nesse cenário, os tecidos tornam-se frágeis e o fruto assume valores reduzidos de firmeza.

Sendo assim, era esperado que a variação de espessura dos tecidos estivesse relacionada à variação de Firmeza do fruto. No entanto, é possível que a pressão interna das amostras avaliadas não promovesse os fenômenos descritos, levando em conta que cada a microestrutura de cada tecido/material possui suas características mecânicas próprias.

A investigação sofre o efeito da anatomia sob a Firmeza deveria considerar, além das variáveis avaliadas nesse trabalho, as propriedades mecânicas dos componentes do exocarpo, composição química das paredes celulares, e outros aspectos da anatomia (como área e densidade celular, grau de compactação do tecido, espessura das paredes primárias) (BARGEL; NEINHUIS, 2005; DOMÍNGUEZ et al., 2012; LAHAYE et al., 2013). Apesar disso, Lahaye et al. (2013), que consideraram esses atributos em seu trabalho, não encontraram correlações entre firmeza e propriedades mecânicas do pericarpo (linhagens Levovil, VilB, Moneyberg, M82) com área celular e grau de compactação dos tecidos. Esses autores sugerem que a variação de TSS entre as linhagens foi o fator mais importante na variação das propriedades mecânicas, e que as características anatômicas e histológicas devem ser avaliadas em conjunto com os parâmetros físico químicos do fruto.

#### ***8.4.3 Análise das inter-relações entre Firmeza, teor de sólidos solúveis e variáveis anatômicas***

A análises das inter-relações entre Firmeza, teor de sólidos solúveis e variáveis anatômicas; e Firmeza e variáveis físico-químicas serão discutidas em conjunto, devido às variáveis em comum. Dessa forma, nessa sessão, as equações de modelagem estrutural serão denominadas SEM-C e SEM-D, respectivamente.

O TSS é a variável físico-química determinante para a variação de Firmeza em SEM-C e SEM-D. Em ambos os sistemas, TSS promove efeito negativo e direto na variável resposta; mas o esperado era que sua influência fosse estabelecida indiretamente, por meio de sua influência nos na espessura dos

tecidos do exocarpo (SEM-C) ou nos teores de carboidratos estruturais (SEM-D).

As propriedades de turgescência dos tecidos, assim como a estrutura e composição das paredes primárias e propriedades mecânicas dos tecidos exocárpicos, são determinantes para a firmeza do fruto (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008). Essas propriedades são determinadas pela capacidade das células em ganhar água e gerar turgor, sem haver danos ao tecido ou órgão. O estresse osmótico devido aporte hídrico gera lesões por meio de dois mecanismos: a ruptura da parede primária, e a desconexão da célula do tecido (perda de vínculo entre as células) (JACKMAN; MARANGONI; STANLEY, 1992).

O turgor pode ser afetado pelo acúmulo de sólidos solúveis decorrente do amadurecimento (HAYWARD, 1938). Após atingir seu tamanho final, o influxo de carboidratos para o tomate cessa, e a produção de foto assimilados vai gradualmente sendo reduzida, devido à conversão dos cloroplastos em cromoplastos (HAYWARD, 1938). Dessa forma, mudanças bioquímicas importantes ocorrem para que o fruto maduro sobreviva, e mantenha condições favoráveis para a viabilidade das sementes. Os principais eventos bioquímicos nesta fase são: aumento da síntese de etileno, da respiração, da acidez, do teor de sólidos solúveis e redução do teor de amido (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008).

O aumento dos açúcares solúveis leva à diminuição do potencial osmótico dos tecidos pericárpicos (JIANG et al., 2019). Caso o suprimento de água ao tomateiro seja adequado, há aumento do aporte hídrico ao fruto, o que promove a elevação da pressão de turgescência das células. A pressão interna do fruto tende a aumentar e gera tensão sob o exocarpo, que desempenha a contenção que mantém o fruto íntegro. O aumento da tensão no exocarpo está associado à redução da espessura dos tecidos, e redução da firmeza (ZHANG et al., 2020). Apesar disso, não ocorreram associações de correlação ou causa-efeito entre TSS e variáveis anatômicas.

É possível que a concentração de açúcares solúveis do tomate no estágio “pink” não seja insuficiente para promover aumento significativo dos tecidos do mesocarpo, ao ponto de causar redução de espessura do exocarpo devido à elevação da pressão interna. De fato, o valor médio de TSS obtido nesse trabalho é muito inferior ao do tomate tipo *grape* vermelho, que comumente varia

entre 9-12 °Brix (CUNHA et al., 2014; DE MELO et al., 2022; JUNQUEIRA; A.H.; PEETZ; DA M. S.; ONODA; S.M., 2011; NEGRISOLI et al., 2015). Observou-se que, apesar de essas relações não serem significativas, todas são negativas; destacando-se a influência de TSS em EspCut, que foi superior às demais. Esse resultado é semelhante ao de Bargel et al. (2005), que demonstraram que a força de contenção desempenhada pelo exocarpo quando o fruto possui pressão interna baixa é desempenhada pela cutícula; e em situações de pressão interna elevada, as camadas subepidérmicas são mais importantes.

Outra possibilidade para explicar a ausência de associações entre TSS e variáveis anatômicas do exocarpo (SEM-C) são os processos de amaciamento do fruto, e redução de firmeza, decorrentes do amadurecimento. Durante o amadurecimento dos frutos, há um declínio no turgor que contribui para mudanças de textura (SHACKEL et al., 1991; HARKER, SUTHERLAND, 1993), provavelmente devido à degradação enzimática das paredes primárias e acúmulo de solutos osmóticos no apoplasto (ALMEIDA; HUBER, 1999).

De acordo com Gillaspay et al. (1993), o tomate finaliza seu crescimento no final da quarta fase, quando termina os processos de expansão celular e atinge seu tamanho final. Nessa etapa, apesar de ainda possuir coloração parcialmente verde, começam a atuar enzimas que alteram a textura e a firmeza do fruto como resultado da degradação dos componentes estruturais da parede celular e lamela média (MARTIN; ROSE, 2014). A diminuição da firmeza (textura da polpa) nesse período está correlacionada à redução dos teores totais de celulose, hemiceluloses e, sobretudo, de pectinas (HOPKINS; HUNER, 2004). Sendo assim, é possível que TSS não produza efeito na turgescência e aumento da espessura dos tecidos devido a diminuição da resistência das paredes primárias.

As variações de Celulose e Hemicelulose não foram influenciadas por TSS na SEM-D, e não estão associadas à variação de Firmeza. Esperava-se que Firmeza fosse positivamente influenciada pelos carboidratos estruturais, mas essas relações não foram observadas. De acordo com Brumell (2006), as pectinas são a classe de polissacarídeos da parede celular que sofrem as modificações mais marcantes durante o amadurecimento do tomate, sendo o aumento de sua solubilização e despolimerização determinantes para o amolecimento e redução de firmeza do fruto.

Dessa forma, é possível que o teor total de pectina e suas frações desempenhem papel importante nas interações que explicam a firmeza. Apesar disso, essas variáveis não foram avaliadas nesse estudo, e sugere-se fortemente que estudos posteriores considerem essa variável em análises de equações estruturais, em conjunto com as demais características físico-químicas. Além disso, é importante que a composição química da parede primária do tomate tipo *grape* seja investigada em outros estudos; porque os resultados obtidos para Celulose, Hemicelulose e Lignina estão muito abaixo da média encontrada para a variedade cereja (LAHAYE et al., 2013; LENUCCI et al., 2008; SZYMANSKA-CHARGOT et al., 2017).

Verificou-se na SEM-D que Hemicelulose e pH estão associadas negativamente, por relação de causa-efeito. Em linhas gerais, esse resultado mostra que o aumento do pH promove a redução do teor de hemicelulose. Essas variáveis estão relacionadas devido ao processo de degradação enzimática da hemicelulose durante o amadurecimento do tomate, que é dependente de pH específico (JACKMAN; STANLEY, 1995).

A atividade enzimática é influenciada pelo pH, e as condições ideais são as verificadas no fruto em estádios finais de maturação, com pH apoplástico próximo a 4.5 e aumento da permeabilidade aos íons de K<sup>+</sup> (ALMEIDA; HUBER, 2001). O pH médio do tomate tipo *grape* no estágio “pink” é de 4,7, próximo ao pH ótimo para a ação das hidrolases e semelhante ao observado no estágio “red” em diversos cultivares de tomate-cereja (SAPERS et al, 1990; HEATH, 2012; MODOLON et al., 2012; WILKERSON et al. ,2013).

Sendo assim, a redução do pH promoveria maior atividade enzimática, e conseqüentemente, diminuição do teor de hemicelulose. A relação observada entre essas variáveis na SEM-D descreve o inverso, ou seja, o que não é sustentado pela literatura. Dessa forma, são necessários mais estudos sobre o teor de carboidratos estruturais e suas relações com demais variáveis fenotípicas para verificar essas inconsistências.

Lahaye et al. (2013) verificaram que os teores de celulose e hemicelulose estão positivamente correlacionados à Firmeza; mas nesse estudo, os carboidratos estruturais não apresentaram correlações com a variável resposta. Houve correlação positiva entre os teores de Hemicelulose e Lignina; associação que pode ser explicada devido ao processo de reticulação da lignina. A

reticulação entre hemiceluloses e lignina ocorre por meio de dois mecanismos: incorporação na lignina por acoplamento radical de substituições do ferulado no xilano em monocotiledôneas e incorporação de resíduos de glicosil hemicelulósicos por re-aromatização de intermediários de lignificação em eudicotiledôneas (VAN DONGEN et al., 2011). O tomate possui parede celular secundária apenas nas células do xilema, que estão presentes nos feixes vasculares mesocárpicos. Como as amostras analisadas continham o pericarpo integral, incluindo os feixes vasculares, é possível que essa associação esteja relacionada a esse processo.

## 9 CONCLUSÕES

O pericarpo com rachadura apresenta lesão que compromete o epicarpo e mesocarpo inicial, principalmente; e desenvolve uma contenção local que cicatrizante. Foi verificado por meio do teste do sudan IV, que a natureza química da região cicatrizada é lipídica, indicando que a substância presente pode ser a suberina. No entanto, ainda são necessários mais estudos que investiguem as etapas da cicatrização, assim como a composição química da substância presente nas paredes.

Os tratamentos de suplementação aplicados via substrato não foram produziram efeitos na firmeza do fruto. Provavelmente, a ausência de efeitos foi devido a concentração mais que suficiente desses elementos na solução padrão para o ciclo reprodutivo do tomate. Dessa forma, o manejo nutritivo adotado é adequado para a cultura.

O estudo das inter-relações entre variáveis fenotípicas por meio das SEMs não explicou a variação de firmeza. Em nenhum sistema as relações estabelecidas entre as variáveis explicaram como a Firmeza varia, mas duas variáveis se destacaram pela influência individual na variável resposta: Ca e TSS. Ambas se associam à Firmeza diretamente, por meio de relações de causa-efeito e de correlação, e produzem efeitos antagônicos. Ca está relacionado ao aumento da Firmeza, e possivelmente esse efeito está relacionado à sua associação com a pectina. É possível que o efeito direto entre Ca e Firmeza, observado nesse trabalho, seja decorrente da ausência dos teores

de pectina no sistema. O mesmo ocorreu com TSS, que promove redução na Firmeza diretamente, mas é possível que esse efeito esteja associado às propriedades de turgescência dos tecidos e resistência das paredes primárias. Dessa forma, sugere-se que estudos posteriores considerem a inclusão dessas variáveis no sistema de equações. Além disso, é indicada a inclusão de variáveis anatômicas que avaliem a espessura das paredes primárias, além da composição química.

## 10 REFERÊNCIAS

AGGARWAL, C. C. **Outlier Analysis**. 2<sup>a</sup> ed. New York: Springer Cham, 2017.

ALBINO, Vanessa Stainbach. **Uso de porta-enxertos e níveis de adubação orgânica em tomateiro tipo cereja, sob ambiente protegido, cultivado em sistema orgânico**. Orientador: Peixoto, José Ricardo. 2016. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

ALMEIDA, D. P. F.; HUBER, D. J. Transient increase in locular pressure and occlusion of endocarpic apertures in ripening tomato fruit. **Journal of Plant Physiology**, v. 158, n. 2, p. 199–203, 2001.

ALMEIDA, D.P.F.; HUBER, D.J. Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: a potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening. **Physiology Plant**, v. 105, p. 506–512, 1999.

ALVARENGA, M. A. R (Org.). **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. 2. ed. Lavras: Universitária de Lavras, 2013.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ANDRI, S. et al. **DescTools: Tools for Descriptive Statistics**. R package, version 0.99.45, 2022.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERRIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006.

BARROS-RÍOS, J.; MALVAR, R.A.; SANTIAGO, R. Función de la pared celular del maíz (*Zea mays* L.) como mecanismos de defensa frente a la plaga del taladro (*Ostrinia nubilalis* Hüb y *Sesamia nonagrioides* Lef.). **Revista de educación bioquímica**, v. 30, n.1, p. 132–142, 2011.

BATU, A. Determination of acceptable firmness and colour values of tomatoes. **Journal of Food Engineering**, v. 61, n. 3, p. 471–475, fev. 2004.

BECKER, W. F. et al. **Sistema de produção integrada para o tomate tutorado em Santa Catarina**. 1. ed. Florianópolis: Editora e Gráfica Caxias, 2016. v. 1

BLANCHET, F. GUILLAUME; LEGENDRE, PIERRE; BORCARD, D. Forward selection of explanatory variables. **Ecology**, v. 89, n. 9, p. 2623–2632, 2008.

BRENDEL, O.; LOSETTA, P.P.M.G.; STEWART, D. A rapid and simple method to isolate pure alpha cellulose. **Phytochemistry Annal**, v. 17, p. 7-10, 2000.

BRIEN, T. O'; FEDER, N.; MCCULLY, M. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 367–373, 1964.

BRUMMELL, D.A. Cellwall disassembly in ripening fruit. *Funct. Plant Biology*, v. 33, p. 103-119, 2006.

BURTON, W. G. **Ripening and senescence of fruits**. In: BURTON, W. G. Post-harvest physiology of food crops. Harlow: Logman Group Ltd, 1982. p. 181–198.

CALBO, A. G. Physiology of vacuum induced tomato fruit cracking. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 2, n. 1, p. 55–61, 1990.

CAMARGO, L. S. **As hortaliças e seu cultivo**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1992, p. 253. (Série Técnica número 6).

CAMELO L. A.F.; GÓMEZ, P.A. Comparison of color indexes for tomato ripening. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.534-537, 2004.

CARPITA, N. C. Hemicellulosic polymers of cell walls of *Zea coleoptiles*. **Plant Physiology**, v.72, n.2, p. 515-521, 1983.

CARPITA, N. C.; KANABUS, J. Extraction of starch by dimethyl sulfoxide and quantitation by enzymatic assay. **Analytical Biochemistry**, v. 161, p.132-139, 1987.

CARRARI F., FERNIE A. R. Metabolic regulation underlying tomato fruit development. **Journal of Experimental Botany**, v. 5, p. 1883–1897, 2006.

CARVALHO P. G. B.; MACHADO C. M. M.; MORETTI C. L.; FONSECA, M. E. N. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 396-404, 2006.

CERRI M.; REALE L. Anatomical traits of the principal fruits: An overview. *Scientia Horticulturae*, v. 270, p.1-13, 2020.

CHITARRA, M.I.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, p. 320, 1990.

CHOI, K. et al. Tomato maturity evaluation using color image analysis. **American Society of Agricultural Engineers**, v. 38, n. 1, p. 171–176, 1995.

CIESLAK, M.; CHEDDADI, I.; BOUDON, F.; BALDAZZI, V.; GÉNARD, M.; GODIN, C.; BERTIN, N. Integrating Physiology and Architecture in Models of Fruit Expansion. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p.19, 2016.

CONSIDINE, J.; BROWN, K. Physical Aspects of Fruit Growth. **Plant Physiology**, v. 68, n. 1, p. 371–376, 20 nov. 1981.

CONSTANTINO, L.V.; ROSSETTO, L.M.; BENASSI, M.T; OLIVEIRA, C.; ZEFFA, D.M.; KOLTUN, A.; RESENDE, J.T.V.; GONÇALVES, L.S.A. Physico-biochemical characterization of mini-tomatoes and internal preference mapping based on consumer acceptance. **Scientia Horticulturae**, v.282, p. 1-7, 2021.

CORREIA, S. et al. Sweet cherry fruit cracking mechanisms and prevention strategies: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 240, p. 369–377, 20 out. 2018.

CUNHA A. H. N.; SANDRI D.; VIEIRA J. A.; CORTEZ, T. B.; DE OLIVEIRA, T.H. *Sweet Grape* Mini Tomato grown in culture substrates and effluent with nutrient complementation. **Engenharia Agrícola**, v.34, n.4, p.707-715, 2014.

DAVIS, J. M. et al. Boron improves growth, yield, quality, and nutrient content of tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 128, n. 3, p. 441–446, 2003.

DE MELO, R. O. et al. Production and quality of Sweet Grape tomato in response to foliar calcium fertilization. **Revista Ceres**, v. 69, n. 1, p. 48–54, 1 jan. 2022.

DEAN, B.B., KOLATTUKUDY, P.E. Synthesis of suberin during wound-healing in jade leaves, tomato fruit, and bean pods. **Plant Physiology**, v. 58, p. 411–416, 1976.

DEL VALLE, M.; CAMARA, M.; TORIJA, M. E. Chemical characterization of tomato pomace. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86(8), p. 1232-1236, 2006.

DEMIRSOY, L.; DEMIRSOY, H. The epidermal characteristics of fruit skin of some sweet cherry cultivars in relation to fruit cracking. **Pakistan Journal of Botany**, v. 36, n. 4, p. 725–731, 2004.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, v. 7, p. 1085-1097, 1995.

DOMÍNGEZ, E.; FERNÁNDEZ, M. D.; HERNÁNDEZ, J. C. L.; PARRA, J.P.; ESPANÑA, L.; HEREDIA, A.; CUARTERO, J. Tomato fruit continues growing while ripening, affecting cuticle properties and cracking. **Physiologia Plantarum**, v. 146, n.4, p.473-486, 2012.

DOMÍNGUEZ, E. et al. Development of fruit cuticle in cherry tomato (*Solanum lycopersicum*). **Functional Plant Biology**, v. 35, n. 5, p. 403–411, 2008.

DOMÍNGUEZ, E.; HEREDIA-GUERRERO, J. A.; HEREDIA, A. The plant cuticle: old challenges, new perspectives. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 19, p. 5251–5255, 2017.

DOS SANTOS, W.D.; FERRARESE, M.L.; NAKAMURA, C.V.; MOURÃO, K.S.M. MANGOLIN, C.A.; FERRARESE-FILHO, O. Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid. The possible mode of action. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, p. 1230-1241, 2008.

DOSSA, D.; FUCHS, F. **Tomate: análise técnico-econômica e os principais indicadores da produção nos mercados mundiais, brasileiro e paranaense**. Boletim Técnico 03 Tomate, Curitiba, 2017.

DYER, W. E.; HENSTRAND, J. M.; HANDA, A. K.; HERRMANN, K. M. Wound induces the first enzyme of the shikimate pathway in Solanaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v. 84, p. 5202-5206, 1989.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A cultura do tomateiro (para a mesa)**. Brasília: Embrapa - SPI, 1993, p.92.

EMMONS, CHERYLD L WHALEY; SCOTT, J. W. Ultrastructural and anatomical factors associated with to resistance to cuticle cracking in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **International Journal of Plant Sciences**. v. 159, n. 1, p. 14–22, 1998.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Embrapa hortaliças. **A cultura do tomate. Brasil**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/tomate>. Acesso em: 28 de junho de 2022.

FERNANDES, A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; OLIVEIRA, L. R. DE. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional de plantas de pepino, cultivadas em hidroponia, em função das fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 571–575, 2002.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. Ed. Viçosa: UFV, 2003.

FINZI, R. R. et al. Soluble solids monitored in the clusters in minitomato hybrids from dwarf lines. **Agrarian**, v. 12, n. 43, p. 33–39, 2019.

FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. **Produção de tomate de mesa**. Viçosa: aprenda fácil, 2002, p. 197.

GERCHIKOV, N. et al. Wounding of melon fruits as a model system to study rind netting. **Scientia Horticulturae**, v. 117, n. 2, p. 115–122, 2008.

GILL, P.S; K.S. NANDPURI. Comparative resistance to fruit cracking in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Indian Journal of Agriculture Science**, v. 40, p.89-98.

GILLASPY, G.; BEN-DAVID, H.; GRUISSEM, W. Fruits: a developmental perspective. **Plant Cell**, v. 5, p. 1439–1451, 1993.

GRAÇA, J. Suberin: the biopolyester at the frontier of plants. **Frontiers in Chemistry**, v.3, p. 62, 2015.

GRACE J. B.; SCHOOLMASTER D. R.; GUNTENSPERGEN G. R.; LITTLE A. M.; MITCHELL B. R.; MILLER K. M.; SCHWEIGER E. W. Guidelines for a graph-theoretic implementation of structural equation modeling. **Ecosphere**, v.3, n.8, p. 73, 2012

GRIERSON, A.; KADER, A. A. **Fruit ripening and quality**. In ATHERTON, J.G; RUDICH, J. (Eds.). USA: Chapman and Hall Ltd, 1986, p. 241-280.

GROSS, K. C. Fractionation and partial characterization of cell walls from normal and non-ripening mutant tomato fruit. **Physiologia Plantarum**, v. 62, n. 1, p. 25–32, 1984.

GUSMÃO, S.A.L.; PÁDUA, F.G.; GUSMÃO, M.T.A.; BRAZ, L.T. Efeito da cobertura do solo com filme de polietileno e da densidade de plantio na produção de tomate tipo “cereja”. In: 40º CONGRESSO BRASILEIRO IBERO-AMERICANO SOBRE UTILIZAÇÃO DE PLÁSTICO NA AGRICULTURA E 2º SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE PRODUÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICAS E CONDIMENTARES, 2000, São Pedro. **Anais...** Brasília: SOB/FCAV-UNESP, v.18, p.571-572, 2000.

HALEEMA, B.; RAB, A.; HUSSAIN, S.A. Effect of Calcium, Boron and Zinc Foliar Application on Growth and Fruit Production of Tomato. **Sarhad Journal of Agriculture**, v.34, n.1, p.1-19, 2018.

HARKER, F.R.; SUTHERLAND, P.W. Physiological changes associated with fruit ripening and the development of mealy texture during storage of nectarines. **Postharvest Biology Technology**, v.2, n.4, p. 269–277, 1993.

HARKER, F.R.; SUTHERLAND, P.W. Physiological changes associated with fruit ripening and the development of mealy texture during storage of nectarines. **Postharvest Biology Technol**, v. 2, p. 269–277, 1993.

HAYWARD, H. E. **The structure of economic plants**. New York: Macmillan, 1938.

HAZEN, S.P.; HAWLEY, R.M.; DAVIS, G.L.; HENRISSAT, B.; WALTON, J.D. Quantitative trait loci and comparative genomics of cereal cell wall composition. **Plant Physiology**, v. 132, n. 1, p. 263–271, 2003.

HEATH, D. W (2012). **US Patent** 8,097,792. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US3971065A/en>. Acesso em: 25 de junho de 2012.

HECKE, T. VAN. Power study of anova versus Kruskal-Wallis test. **Journal of Statistics and Management Systems**, v. 15, n. 2–3, p. 241–247, maio 2012.

HEPLER, P. K.; WAYNE, R. O. Calcium and plant development. **Ann. Rev. Plant Physiol**, v. 36, n. 1, p. 397–439, 1985.

HERRERA, P. G.; SANCHEZ-MATA, M. C.; CAMARA, M. Nutritional characterization of tomato fiber as a useful ingredient for food industry. **Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n.4, p. 707-711, 2010.

HÖFTE H. A baroque residue in red wine. **Science**, v. 294, n. 5543, p.795-797, 2001.

HOPKINS, W.G.; HUNER, N.P.A. **Introduction to Plant Physiology**. 3ed. 2004.

HUANG, J. S.; SNAPP, S. S. The effect of boron, calcium, and surface moisture on shoulder check, a quality defect in fresh-market tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 129, n. 4, p. 599–607, 2004.

ISLAM, M.Z.; MELE, M.A.; CHOI, K.Y.; KANG, H.M. The effect of silicon and boron foliar application on the quality and shelf life of cherry tomatoes. **Zemdirbyste-Agriculture**, v. 105, n.2, p. 159–164, 2018.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 1020

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção agrícola municipal**. Culturas temporárias e permanentes. v.41. Rio de Janeiro: IBGE, 2014, p. 100.

Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil – INMET. Tabela Estação: VITORIA A612. Disponível em: <<https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A001>>. Acesso em: 21, agosto, 2022.

JACKMAN, R. L.; MARANGONI, A. G.; STANLEY, D. W. The effects of turgor pressure on puncture and viscoelastic properties of tomato tissue. **Journal of Texture Studies**, v. 23, n. 4, p. 491–505, 1992.

JACKMAN, R.L; STANLEY, D.W. Perspectives in the textural evaluation of plant foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.6, p.187-194, 1995.

JEFFREE, C. **The fine structure of the plant cuticle**. In: RIEDERER, C M. Biology of the plant cuticle. Oxford: Blackwell Publishing, 2006. p. 11-25.

JENKINS, J. A. The origen of the cultivated tomato. **Economic Botany**, v. 2, n.4, p.379-392, 1948.

JIANG, F. et al. Disassembly of the fruit cell wall by the ripening-associated polygalacturonase and expansin influences tomato cracking. **Horticulture Research**, v. 6, n. 1, 2019.

JIANG, F.; HSIEH, Y. LO. Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 60–68, 2015.

JOBIN-LAWLER, F.; SIMARD, K.; GOSSELIN, A.; DORAIS, M.; PAPADOPOULOS, A.P. The Influence of Solar Radiation and Boron-Calcium Fruit Application on Cuticle Cracking of a Winter Tomato Crop Grown under Supplemental Lighting. **Acta Horticulturae**, v. 580, p.235-239, 2002.

JOHANSEN, D. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Books, 1940.

JUNQUEIRA; A.H.; PEETZ; DA M. S.; ONODA; S.M. **Sweet grape: Um modelo de inovação na gestão da cadeia de produção e distribuição de hortaliças diferenciadas no Brasil**. São Paulo: Central de Cases, 2011.

KAUR, D.; WANI, A.A.; OBEROI, D.P.S.; SOGI, D. Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 711–718, 2008.

KEREN-KEISERMAN, A. et al. Peroxidase activity associated with suberization processes of the muskmelon (*Cucumis melo*) rind. **Physiologia Plantarum**, v. 121, n. 1, p. 141–148, 2004.

KHADIVI-KHUB, A. Physiological and genetic factors influencing fruit cracking. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 1, 2015.

KNAPP, S.; PERALTA, I. E. **The Tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) and Its Botanical Relatives**. In: Causse, M. et al. (Eds.). The tomato genome. 1. ed. Berlin: Springer-Verlag, 2016. p. 7–21.

KOLATTUKUDY, P.E. **Polyesters in Higher Plant**. Heidelberg: Springer-Verlag, 2001.

KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 47, n. 260, p. 583–621, 1952.

LAHAYE, M. et al. Pericarp tissue microstructure and cell wall polysaccharide chemistry are differently affected in lines of tomato with contrasted firmness. **Postharvest Biology and Technology**, v. 76, p. 83–90, fev. 2013.

LEFCHECK, J. S. 2016. piecewiseSEM: Piecewise structural equation modelling in r for ecology, evolution, and systematics. **Methods in Ecology and Evolution**, v.7, p. 573-579, 2016.

LEIDE, J. et al. Abscisic acid mediates the formation of a suberized stem scar tissue in tomato fruits. **New Phytologist**, v. 194, n. 2, p. 402–415, 2012.

LENUCCI, M. S. et al. Variability in the content of soluble sugars and cell wall polysaccharides in red-ripe cherry and high-pigment tomato cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 10, p. 1837–1844, 2008.

LI, X. et al. Lycopene is enriched in tomato fruit by CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1–12, 2018.

LICHTER, A. et al. Cracking of cherry tomatoes in solution. *Postharvest Biology and Technology*, v. 26, p. 305–312, 2002.

LIU, G. D. et al. Cellular boron allocation and pectin composition in two citrus rootstock seedlings differing in boron-deficiency response. **Plant and Soil**, v. 370, n. 1–2, p. 555–565, 2013.

LIU, Z. et al. Differences in the cell morphology and microfracture behaviour of tomato fruit (*Solanum lycopersicum* L.) tissues during ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 164, p. 111- 182, 2020.

LIEBISCH, F.; MAX, J.F.J.; HEINE, G.; HORST, W. J. Blossom-end rot and fruit cracking of tomato grown in net-covered greenhouses in Central Thailand can partly be corrected by calcium and boron sprays. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, n. 172, p.140-150, 2009.

LYTOVCHENKO, A.; EICKMEIER, I.; PONS, C.; OSORIO, S.; SZECOWKA, M.; LEHMBERG, K.; ARRIVault, S.; TOHGE, T.; PINEDA, B.; ANTON, M. T.; HEDTKE, B.; LU, Y.; FISAHN, J.; BOCK, R.; STITT, M.; GRIMM, B.; GRANELL, A.; FERNIE, A. R. Tomato fruit photosynthesis is seemingly unimportant in primary metabolism and ripening but plays a considerable role in seed development. **Plant Physiology**, v. 157, p.1650-1663, 2011.

MACIEL, G. M.; FERNANDES, M. A. R.; MELO, O. D.; OLIVEIRA, C. S. Potencial agrônômico de híbridos de minitomate com hábito de crescimento determinado e indeterminado. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 144-148, 2016.

MACNEE, N. C. et al. A review of current knowledge about the formation of native peridermal exocarp in fruit. **Functional Plant Biology**, v. 47, p. 1019-1031, 2020.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Potassa e do Fósforo, 1997.

MANGUT, V.; SABIO, E.; GANAN, J.; GONZALEZ, J. F.; RAMIRO, A.; GONZALEZ, C. M. Thermogravimetric study of the pyrolysis of biomass residues from tomatoprocessing industry. *Fuel Processing Technology*, v.87, n.2, p.109–115, 2006.

MARSCHNER P. **Mineral nutrition of higher plants**. 3 ed. London: Academic Press, 2012.

MARDIA, K. V. Measures of multivariate skewness and kurtosis with applications. **Biometrika**, v. 57, n.3, p. 519-530, 1970.

MARTIN, L. B.; ROS, J. K. There's more than one way to skin a fruit: formation and functions of fruit cuticles. **Journal of Experimental Botany**, v.65, n. 16, p. 4639-4651, 2014.

MARTINEZ, H.E.P.; MAIA, J.T.L.S; VENTRELLA, M.C.; MILAGRES, C. C.; CECON, P.R.; CLEMENTE, J. M.; GARBIN, C.Z. Leaf and Stem Anatomy of Cherry Tomato Under Calcium and Magnesium Deficiencies. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.63, p.1-10, 2020.

MARTINS, C. B.; REISSMANN, A. P. Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico analíticos. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 1-17, 2007.

MATAS, A. J.; COBB, E. D.; PAOLILLO, D. J.; NIKLAS, K. J. Crack Resistance in Cherry Tomato Fruit Correlates with Cuticular Membrane Thickness. **HortScience**, v. 39, n. 6, 2004.

MATAS, A. J.; LÓPEZ-CASADO, G.; CUARTERO, J.; HEREDIA, A. Relative humidity and temperature modify the mechanical properties of isolated tomato fruit cuticles. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 3, p. 462–468, 2005.

MATOH T, KAWAGUCHI S, KOBAYASHI M. Ubiquity of a borate-rhamnogalacturonan II complex in the cell walls of higher plants. **Plant Cell Physiology**, v. 37, n. 5, p. 636-640, 1996.

MCCANN, M. C.; ROBERTS, K. Plant cell wall architecture: the role of pectins. In: VISSER, J.; VORAGEN, A. G. J. (Eds.). **Pectins and Pectinases**. 1. ed. Norwich: Elsevier, 1996. p. 91–107.

MICHALETZ, S. T. et al. Drivers of terrestrial plant production across broad geographical gradients. **Global Ecology and Biogeography**, v. 27, n. 2, p. 166–174, 6 fev. 2018.

MILLER, K. M.; SCHWEIGER, E. W. Guidelines for a graph-theoretic implementation of structural equation modeling. **Ecosphere**, v.3, n.8, p. 1-44, 2012.

MINAMI, K.; HAAG, H. P. **O Tomateiro**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1989, p. 397.

MODOLON T.A.; BOFF P.; ROSA J.M.; SOUSA P.M.R.; MIQUELLUTI D.J. Qualidade pós-colheita de frutos de tomateiro submetidos a preparados em altas diluições. **Horticultura Brasileira**, v.30, p.58-63, 2012.

MORETTI, C. L. et al. Chemical composition and physical properties of pericarp, locule, and placental tissues of tomatoes with internal bruising. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 1998.

MUNDIM, G. S. M.; OLIVEIRA, C. S.; MACIEL, G. M.; MELO, O. D. 2014. Época de colheita e hábito de crescimento influenciam teores de sólidos solúveis em mini tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, 2014.

MUSSEAU, C. et al. Identification of two new mechanisms that regulate fruit growth by cell expansion in tomato. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1, 2017.

NEMENYI, Peter Bjorn. **Distribution-free multiple comparisons**. Dissertação (Mestrado em Matemática) – Department of Mathematics, Princeton University. New Jersey, p. 254, 1963.

O'BRIEN, T.; FEDER, N.; MCCULLY, M. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 367–373, 1964.

O'NEILL M. A., EBERHARD S., ALBERSHEIM P., DARVILL A.G. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. **Science**, v. 294, n. 5543, p. 846-849, 2001.

ONELLI, E. et al. Specific changes of exocarp and mesocarp occurring during softening differently affect firmness in melting (MF) and non melting flesh (NMF) fruits. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, 2015.

PANIKASHVILI, D.; SHI, J.X; SCHREIBER, L.; AHARONI, A. The Arabidopsis DCR encoding a soluble BAHD acyltransferase is required for cutin polyester formation and seed hydration properties. **Plant Physiology**, v. 151, p. 1773–1789, 2009.

PAPADOPOULOS, A. P. **Growing greenhouse tomatoes in soil and in soilless media**. Ottawa: Agriculture Canada Publications, 1991.

PATTISON, R.J.; CSUKASI, F.; ZHENG, Y.; FEI, Z.; VAN DER KNAAP, E.; CATALÁ, C. Comprehensive tissue-specific transcriptome analysis reveals distinct regulatory programs during early tomato fruit development. **Plant Physiology**, v. 168, n.4, p. 1684-1701, 2015.

PAZINATO, B. C.; GALHARDO, R. C. **Processamento artesanal do tomate**. 2ª impressão. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1997, p. 30.

PEAUCELLE, A., BRAYBROOK, S., HOFTE, H. Cell wall mechanics and growthcontrol in plants: the role of pectins revisited. **Frontiers in Plant Science**, 2012.

PESCHEL, S.; KNOCHE, M. Characterization of microcracks in the cuticle of developing sweet cherry fruit. **American Society for Horticultural Science**, v. 130, n. 4, p. 487–495, 2005.

PONTES, A. C. F.; CORRENTE, J. E. Comparações múltiplas não-paramétricas para o delineamento com um fator de classificação simples. **Rev. Mat. Estat.**, v.19, p. 179-197, 2001.

PRECZENHAK A. P.; RESENDE J. T. V.; CHAGAS R. R.; SILVA P. R.; SCHWARZ K.; MORALES R. G.F. Caracterização agrônômica de genótipos de minitomate. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p.348-356, 2014.

QUIROGA, M. et al. A Tomato Peroxidase Involved in the Synthesis of Lignin and Suberin. **Plant Physiology**, v. 122, n. 4, p. 1119–1128, 2000.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

RENAUDIN, J. P. et al. Cell layer-specific patterns of cell division and cell expansion during fruit set and fruit growth in tomato pericarp. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 7, p. 1613–1623, 2017.

RICK, C. M. Fruit and pedicel characteristics derived from Galapagos tomato. **Economic Botany**, v. 23, n. 4, p. 171-184, 1967.

RIDLEY B.L.; O'NEILL M.A., MOHNEN D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. **Phytochemistry**, v. 57, n.6, p. 929-967, 2001.

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

RUIZ, M. S. et al. Salinity induced fruit hypodermis thickening alters the texture of tomato (*Solanum lycopersicum* Mill) fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 192, p. 244–249, 2015.

SALADIÉ, M., MATAS, A.J., ISAACSON, T., JENKS, M.A., GOODWIN, S.M., NIKLAS, K.J., XIAOLIN, R., LABAVITCH, J.M., SHACKEL, K.A., FERNIE, A.R., LYTOVCHENKO, A., O'NEILL, M.A., WATKINS, C.B., ROSE, J.K.C. A re-evaluation of the key factors that influence tomato fruit softening and integrity. **Plant Physiology**, v.144, n.1, p. 1012–1028,2007.

SANTIAGO, R.; BARROS-RIOS, J.; MALVAR, R. Impact of Cell Wall Composition on Maize Resistance to Pests and Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 4, p. 6960–6980, 27 mar. 2013.

SAPERS, G. M.; DOUGLAS, F. W., JR.; ZIOLKOWSKI, M. A.; MILLER, R. L.; HICKS, K. B. Determination of ascorbic acid, dehydroascorbic acid and ascorbic acid-2-phosphate in infiltrated apple and potato tissue by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 503, p. 431-436, 1990.

SCHWARZ K; RESENDE JTV; PRECZENHAK AP; PAULA JT; FARIA MV; DIAS DM. Desempenho agrônômico e qualidade físico-química de híbridos de tomateiro em cultivo rasteiro. **Horticultura Brasileira**, v.31, p. 410-418, 2013.

SERRA, O.; CHATTERJEE, S.; HUANG, W.; STARK, R.E. Mini-review: What nuclear magnetic resonance can tell us about protective Tissues. **Plant Science**, v. 195, p. 20– 124, 2012.

SIGNORELL A. et mult. al. (2022). DescTools: Tools for descriptive statistics. R package version 0.99.45. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/DescTools/index.html>>. Acesso em: 21 de agosto, 2022.

SHACKEL, K.A., GREVE, C., LABAVITCH, J.M., AHMADI, H. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. **Plant Physiology**, v. 97, n. 2, p. 814–816, 1991.

SHÄDEL, C.; BLÖCHL, A.; RICHTER, A.; HOCH, G. Quantification and monosaccharide composition of hemicelluloses from different plant functional types. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 1-8, 2010.

SHAKYA, R; LAL, M. A.: **Fruit Development and Ripening**. In: Plant Physiology, Development and Metabolism. Singapore: Springer, 2018, p. 857–883

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3-4, 1965.

SHEA, E.M.; GIBEAUT, D.M.; CARPITA, N.C. Structural analysis of the cell walls regenerated by carrot protoplasts. **Planta**, v. 179, n.3, p. 293-308, 1989.

SHEDLETZKY, E.; SHMUEL, M.; DELMER, D.P., LAMPART, D.T.A. Cell Wall Structure in Cells Adapted to Growth on the Cellulose-Synthesis Inhibitor 2,6-

Dichlorobenzonitrile: A Comparison between Two Dicotyledonous Plants and a Gramineous Monocot. **Plant Physiology**, v.94, n.1, p. 980-987.

SHINOZAKI, Y. et al. High-resolution spatiotemporal transcriptome mapping of tomato fruit development and ripening. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, 1 dez. 2018.

SHIPLEY, B. The AIC model selection method applied to path analytic models compared using a d- separation test. *Ecology*, v. 94, n. 4, p. 560-564, 2013.

SHIRAHIGE, F. H.; MELO, A. M. T.; PURQUERIO, L. F. V.; CARVALHO, C. R. L.; MELO, P.C.T. Produtividade e qualidade de tomates Santa Cruz e Italiano em função do raleio de frutos. **Horticultura Brasileira** v. 28, p. 292-298, 2010.

SIEGEL, S.; CASTELLAN JR., N. J. **Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento**. Tradução de Sara Ianda Correa Carmona. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

SILVA, J. H. da, et al. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: PAULA JÚNIOR, T. J. de; VENZON, M. (Coord.). **101 Culturas manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte, MG: EPAMIG, 2007. p. 735-750.

SKRZYDEŁ, J.; BOROWSKA-WYKRĘT, D.; KWIATKOWSKA, D. Structure, assembly and function of cuticle from mechanical perspective with special focus on perianth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n.4160, p.20, 2021.

SOUSA, C. A. de; LIRA JR, M. A.; FERREIRA, R. L. C. Avaliação de testes estatísticos de comparações múltiplas de médias. **Revista Ceres**, v. 59, n.3, p. 350-354, 2012.

SPEARMAN, C. The Proof and Measurement of Association between Two Things. **The American Journal of Psychology**, v. 15, n. 1, p. 72, 1904.

SZYMANSKA-CHARGOT, M. et al. Isolation and characterization of cellulose from different fruit and vegetable pomaces. **Polymers**, v. 9, n. 10, 2017.

SZYMÁNSKA-CHARGOT, M.; CHYLÍŃSKA, M.; CYBULSKA, J.; KOZIOŁ, A.; PIECZYWEK, P.K.; ZDUNEK, A. Simultaneous influence of pectin and

xyloglucan on structure and mechanical properties of bacterial cellulose composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 970-979, 2017.

TANDO, K. S.; BALDWIN, E. A.; SCOTT, J. W.; SHEWFELT, R. L. Linking sensory descriptors to volatile and non-volatile components of fresh tomato flavour. **Journal of Food Science**, v. 68, p.2366–2371, 2003.

TAO, X. et al. Abscisic acid mediates wound-healing in harvested tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 118, p. 128–133, ago. 2016.

TERRETT, O. M.; DUPREE, P. Covalent interactions between lignin and hemicelluloses in plant secondary cell walls. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 56, p. 97–104, 2019.

THENGANE, V. G.; GAWANDE, M. B. Engineering and Technology (A High Impact Factor. **International Journal of Innovative Research in Science**, v. 7, 2018.

THYBOA, A.K.; EDELENBOSA, M.; CHRISTENSENAP, L.P.; SØRENSEN, J.N.; THORUP-KRISTENSEN, K. Effect of organic growing systems on sensory quality and chemical composition of tomatoes. *Swiss Society of Food Science and Technology*, v.39, p. 835–843, 2006.

THOMPSON D. S. Extensiometric determination of the rheological properties of the epidermis of growing tomato fruit. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n.359, p. 1291-1301, 2001.

TIJSKENS, L. M. M.; EVELO, R. W. Modelling colour of tomatoes during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.4, p. 85–89, 1994.

TOIVONEN, P.M.A; BRUMMELL, D.A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, n.48, p.1-14, 2008.

USDA, 1991. United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes.

VAN DONGEN, F. E. M.; VAN EYLEN, D.; KABEL, M. A. Characterization of substituents in xylans from corn and stoves. **Carbohydrate Polymers**, v.33, p. 263-271.

VANZIN G. F., MADSON M., CARPITA N. C., RAIKHEL N. V., KEEGSTRA K., REITER W. D. The mur2 mutants of *Arabidopsis thaliana* lacks fucosylated xyloglucan because of a lesion in fucosyltransferase AtFUT1. **PNAS**, v. 99, n. 5, p.3340-3345, 2002.

VELA-HINOJOSA, C. et al. Architectural diversity of the cuticle and epidermis of native and hybrid tomato fruit genotypes and the relation to polygalacturonase expression. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 46, n. 1, p. 45–51, 2018.

VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G.J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, v. 20, p.263-, 2009

WANG, F.; SANZ, A.; BRENNER, M.; SMIT, A. Sucrose Synthase, Starch Accumulation, and Tomato Fruit Sink Strength. **Plant Physiology**, v. 101, p.321-327, 1993.

WANG, Z; GUHLING, O.; YAO, R.; LI, F.; YEATS, T. H.; ROSE, J.K.C; JETTER. R. Two Oxidosqualene Cyclases Responsible for Biosynthesis of Tomato Fruit Cuticular Triterpenoids. **Plant Physiology**, v. 144, p.540-552, 2011.

WEI, Y. et al. Hot air treatment reduces postharvest decay and delays softening of cherry tomato by regulating gene expression and activities of cell wall-degrading enzymes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 6, p. 2105–2112, 2018.

WILLATTSA, W. G. T.; KNOX, P. F.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Journal of Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97–104, 2006.

WILKERSON, E. D. et al. Rapid assessment of quality parameters in processing tomatoes using hand-held and benchtop infrared spectrometers and multivariate

analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 9, p. 2088–2095, 2013.

WOLF, S., GREINER, S. Growth control by cell wall pectins. **Protoplasma**, v. 249, n.2, 169–175, 2012.

YAMAMOTO, E.L.M; FERREIRA, R.M. A; FERNANDES, P.L. O; ALBUQUERQUE, B.L.; ALVES, E.O. Função do Cálcio na degradação da Parede Celular Vegetal de Frutos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.2, p. 49 – 55, 2011.

YANG, Z. et al. The composition of pericarp, cell aging, and changes in water absorption in two tomato genotypes mechanism, factors, and potential role in fruit cracking. **Acta Physiol Plant (2016)**, v. 38, n. 215, p. 2–16, 2016.

ZHANG, C. et al. Anatomical characteristics associated with different degrees of berry cracking in grapes. **Scientia Horticulturae**, v. 261, 2020.

ZHENHUA, G. et al. THE SCREENING OF TMV-RESISTANT, CMV-TOLERANT TOMATO MATERIALS AND BREEDING OF NEW RESISTANT CULTIVARS. **Acta Horticulturae**, v. 402, p. 321–328, 1995a.

ZHENHUA, G. Studies on correlations of tomato firmness and crack with other characters. **Acta Horticulturae**, v. 402, p. 380-387, 1995b.

## 10 ANEXOS

Tabela 7: Resumo das correlações de Spearman significativas entre variáveis fenotípicas (P-valor <0,05).  $\rho$  = coeficiente de correlação de Spearman.

Variáveis		$\rho$	P-valor
d1	Massafresca	0,9090	5,42E-11
d2	Massafresca	0,9050	9,05E-11
EspExo	EspCs1	0,7526	5,95E-06
d2	d1	0,7389	1,08E-05
ATT	Lignina	0,5051	0,0072

---

Hemicelulose	Lignina	0,4996	0,0080
EspExo	EspExoex	0,4451	0,0200
pH	Hemicelulose	-0,4358	0,0231
Firmeza	TSS	-0,4290	0,0255
Massafresca	ATT	0,4011	0,0381
d1	ATT	0,3906	0,0440
Firmeza	pH	-0,3845	0,0476
B	EspPer	0,3835	0,0483
TSS	Ca	-0,3760	0,0532

---