

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Perfil metabólico de três retrocruzamentos provenientes de tomateiro anão

Vitoria Jakeline Ornelas e Silva
Magister Scientiae

**RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS
2025**

VITORIA JAKELINE ORNELAS E SILVA

Perfil metabolômico de três retrocruzamentos provenientes de tomateiro anão

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Frederico Garcia Pinto

Coorientador: Gabriel Mascarenhas Maciel

**RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS
2025**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba

T

S586p
2025
Silva, Vitória, 1999-
Perfil metabolômico de três retrocruzamentos provenientes de tomateiro anão / Vitória Silva. – Rio Paranaíba, MG, 2025.
31 f.: il. (algumas color.).

Orientador: Frederico Garcia Pinto.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Ciências Agrárias, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvcrp.2025.033>

1. Produção sustentável. 2. Segurança alimentar. 3. Genes de nanismo. I. Pinto, Frederico Garcia, 1980-. II. Universidade Federal de Viçosa. Ciências Agrárias. Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal). III. Título.

635.72

VITORIA JAKELINE ORNELAS E SILVA

Perfil metabolômico de três retrocruzamentos provenientes de tomateiro anão

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 14 de agosto de 2025.

Assentimento:

Vitoria Jakeline Ornelas e Silva
Autora

Frederico Garcia Pinto
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 03/11/2025 às 12:50:10 e pelo orientador em 07/11/2025 às 20:13:48. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **LSGL.HO87.5145** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha família.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela oportunidade de realizar o meu Mestrado.

Ao professor Frederico Garcia Pinto pela orientação, ensinamentos e confiança durante todo esse período.

Ao professor Gabriel Mascarenhas Maciel, pela coorientação, ensinamentos e disponibilidade.

Aos demais que me auxiliaram na realização, Brena e Natália, obrigada por estarem sempre dispostas a me auxiliar.

Aos meus amigos e familiares, pois sem eles eu não teria chegado até aqui, Jakeline, Paulo, Paula, Marco, Gabriela, Fernando e todos os demais que sempre estiveram comigo, eu agradeço por serem a luz que eu precisava.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal pelos ensinamentos e oportunidades.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por financiar a pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal pela memorável qualidade de ensino, especialmente a nossa coordenadora Fabrícia Queiroz Mendes.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

SILVA, Vitoria Jakeline Ornelas e, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2025. **Perfil metabolômico de três retrocruzamentos provenientes de tomateiro anão.** Orientador: Frederico Garcia Pinto. Coorientador: Gabriel Mascarenhas Maciel.

O tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) enfrenta desafios produtivos agravados pelas mudanças climáticas. As pesquisas de melhoramento frequentemente limitam-se a caracteres agrônômicos, deixando uma lacuna na compreensão bioquímica das linhagens melhoradas. Este estudo empregou a metabolômica por GC-MS para preencher essa lacuna, avaliando a permanência de metabólitos de interesse em linhagens anãs derivadas de três retrocruzamentos (RC1, RC2, RC3) com o tomateiro do tipo Saladete. As linhagens foram caracterizadas agronomicamente e metabolicamente. A análise integrada revelou que o RC3 combinou a produtividade e características comerciais de fruto (como peso médio e diâmetro do fruto) do genitor recorrente (GR) com os traços do genitor doador (GD): arquitetura compacta (PH), altos teores de acil-açúcares e carotenoides. A análise metabolômica detectou 101 metabólitos e revelou um redirecionamento do fluxo de carbono, no qual a redução consistente de precursores como xilose (FC ~ 0,30) e tagatose (FC ~ 0,62) sustentou a biossíntese de acil-açúcares, enquanto o acúmulo de ácidos orgânicos do ciclo de Krebs (cítrico, FC > 3,0; málico, FC > 2,6) indicou maior vigor energético. O RC3 emergiu como o genótipo de equilíbrio ideal, validando a eficácia do método não apenas em introgressar, mas em estabilizar um perfil bioquímico desejável e recombinante.

Palavras-chave: produção sustentável ; segurança alimentar ; genes de nanismo.

ABSTRACT

SILVA, Vitoria Jakeline Ornelas e, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2025. **METABOLOMIC PROFILE OF THREE BACKCROSSES FROM DWARF TOMATO PLANTS.** Adviser: Frederico Garcia Pinto. Co-adviser: Gabriel Mascarenhas Maciel.

Tomato (*Solanum lycopersicum L.*) faces production challenges exacerbated by climate change. Breeding research has often been limited to agronomic traits, leaving a gap in the biochemical understanding of improved lines. This study employed GC-MS metabolomics to address this gap by evaluating the retention of metabolites of interest in dwarf lines derived from three backcrossing cycles (BC1, BC2, BC3) with saladette-type tomato plants. The lines were characterized both agronomically and metabolically. Integrated analysis revealed that BC3 successfully combined the productivity and commercial fruit characteristics (as average weight and diameter of the fruit) of the recurrent parent (RP) with traits from the donor parent (DP): compact architecture (PH), high levels of acyl-sugars, and carotenoids. Metabolomic analysis detected 101 metabolites and revealed a carbon flux redirection, where the consistent reduction of precursors such as xylose (FC ~ 0.30) and tagatose (FC ~ 0.62) supported acyl-sugar biosynthesis, while the accumulation of Krebs cycle organic acids (citric acid, FC > 3.0; malic acid, FC > 2.6) indicated enhanced energy vigor. BC3 emerged as the ideal balanced genotype, validating the effectiveness of the method not only for introgressing but also for stabilizing a desirable and recombinant biochemical profile.

Keywords: sustainable production ; food security ; dwarfing genes.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	5
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	6
	2.1 <i>Obtenção das populações de plantas</i>	6
	2.2 <i>Avaliação Agronômica, qualidade dos frutos e teores de acilaçúcar nos folíolos de tomateiro</i>	7
	2.3 <i>Análise cromatográfica e perfil metabolômico</i>	8
	2.4 <i>Análises Estatísticas</i>	9
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
	3.1 <i>Avaliação dos parâmetros biométricos</i>	10
	3.2 <i>Análise Metabolômica</i>	15
4.	CONCLUSÃO.....	24
	REFERÊNCIAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas mundialmente, destacando-se pelo ciclo curto, facilidade de propagação e alto valor nutricional (Amr e Raie, 2022). No Brasil, sua produção é de grande relevância para a cadeia agroprodutiva, contribuindo significativamente para a geração de emprego e renda em propriedades de diferentes portes (Naika *et al.*, 2020). No entanto, sua produção enfrenta desafios crescentes associados às mudanças climáticas (Oliveira, Prado e Monteiro, 2022). Em 2022, a produção brasileira registrou queda de 7,1% em relação ao ano anterior, com reduções drásticas em estados como São Paulo (-13,8%) e Santa Catarina (-24,0%) (IBGE, 2022). Essa redução foi atribuída a eventos climáticos extremos, como o excesso de chuvas, que favoreceram surtos de pragas e doenças, aumentando os custos de produção e reduzindo a área plantada em 5,2%.

O controle de pragas e doenças, dependente de aplicações regulares de defensivos (químicos, biológicos ou integrados), majora significativamente os custos produtivos (Panno *et al.*, 2021). Modelos projetam que, até 2050, fatores como mudanças climáticas e expansão de pragas poderão inviabilizar o cultivo de tomate em 30% a 100% das áreas irrigadas de alguns países, com especial risco para regiões de agricultura familiar (Litskas *et al.*, 2019). Em 2023, apesar da produção nacional ter alcançado 4,1 milhões de toneladas (IBGE, 2024), a instabilidade climática permanece como uma ameaça crítica, exigindo estratégias urgentes de adaptação para cultivares mais resistentes (Toreti *et al.*, 2022).

Diante desse cenário, o melhoramento genético por meio de retrocruzamentos, surge como uma estratégia direcionada para desenvolver cultivares de tomate que conciliem a resistência a estresses bióticos e abióticos com a manutenção das características comerciais essenciais (Gomes *et al.*, 2022). Essa técnica clássica, mas ainda extremamente relevante, consiste em cruzar um parental comercial a um parental-doador de resistência e subsequente de volta ao genitor comercial recorrentemente (Snowdon *et al.*, 2021). O processo visa recuperar progressivamente o fundo genético de alto valor agrônômico, responsável por atributos como a produtividade, enquanto se seleciona para a fixação dos genes de interesse herdados do parental-doador (Pereira *et al.*, 2024). Dessa forma, os retrocruzamentos permitem a introgressão precisa de *traits* desejáveis em genótipos já amplamente adotados pelo mercado, mitigando o risco de perdas indesejáveis no perfil do cultivar (Mattos *et al.*, 2025).

Contudo, a eficácia dessas estratégias só pode ser validada por meio de análises fenotípicas e bioquímicas robustas, que associam alterações genéticas a respostas metabólicas funcionais (Mascarenhas *et al.*, 2025). Nesse contexto, a metabolômica destaca-se como uma

ferramenta essencial, pois permite mapear as mudanças no perfil metabólico das plantas, tais como a produção de osmoprotetores, antioxidantes e hormônios em resposta a estresses ambientais ou modificações genéticas (Singh *et al.*, 2023). Enquanto a metabolômica alvo identifica metabólitos específicos, a abordagem não alvo proporciona uma análise global, revelando padrões inesperados (Ribbenstedt, Ziarrusta e Benskin, 2018). Técnicas como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) são fundamentais nesse processo, oferecendo alta sensibilidade na detecção de metabólitos (Otify *et al.*, 2023).

Apesar dos avanços na área, a literatura ainda carece de estudos que empregam a metabolômica não direcionada para avaliar a eficiência dos retrocruzamentos na introgressão e preservação de perfis metabólicos de interesse associados à resistência. As pesquisas existentes concentram-se predominantemente na avaliação de caracteres agronômicos de produção, deixando uma lacuna significativa na compreensão bioquímica das linhagens melhoradas. Nesse contexto, a metabolômica apresenta um grande potencial para validar os resultados do melhoramento genético e assim esclarecer os mecanismos bioquímicos que sustentam a resistência observada nesses genótipos (Pilon *et al.*, 2020).

Neste trabalho, o genitor doador utilizado foi uma linhagem anã de tomateiro (UFU MC TOM 1), portadora de alelos de nanismo que conferem uma arquitetura de planta compacta, caracterizada pela redução significativa na altura e no comprimento dos entrenós. Essa arquitetura é vantajosa para o manejo da cultura e potencialmente mais resiliente a condições ambientais adversas. Para uma avaliação abrangente da eficácia do programa de melhoramento, este estudo integrou a análise detalhada de parâmetros agronômicos e a caracterização do perfil metabólico das linhagens resultantes. Diante do exposto, este estudo tem como objetivo empregar a metabolômica por GC-MS para avaliar a permanência de metabólitos de interesse em folhas de tomateiros provenientes de linhagens anãs derivadas de três retrocruzamentos (RC₁, RC₂ e RC₃) com o tomateiro do tipo Saladete.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das populações de plantas

O experimento foi conduzido entre fevereiro a outubro de 2024 na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia (EEH UFU), campus Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil (18°42'43,19" S, 47°29'55,8" O, 873 m de altitude).

Num primeiro momento, os genótipos UFU MC TOM 1 e UFU TOM 5 foram plantadas e utilizadas como parentais doador (D) ♂ e recorrente (R) ♀, respectivamente. UFU MC TOM 5, utilizada como parental feminino (genitor recorrente), é uma linhagem homozigota, pré-comercial, de porte normal (*DD*), hábito de crescimento indeterminado (*SPSP*) e com boas características agronômicas do tipo Saladete. UFU MC TOM 1, utilizado como parental masculino (genitor doador), é uma linhagem de porte anão (*dd*), hábito de crescimento indeterminado (*SPSP*) com frutos do tipo minitomate (Maciel *et al.*, 2015; Finzi *et al.*, 2017). Após hibridação, realizaram-se três retrocruzamentos sucessivos, obtendo-se plantas do primeiro (*RC*₁), segundo (*RC*₂) e terceiro (*RC*₃) retrocruzamento.

Em posse de todos os genótipos foi realizada a semeadura em bandejas de poliestireno (200 células) contendo substrato de fibra de coco. Após 40 dias da semeadura (*DAS*), as mudas foram transplantadas para vasos plásticos, também preenchidos com substrato de fibra de coco e mantidos em casa de vegetação do tipo arco, com dimensões de 5 x 6 metros e pé direito de 3,5 metros coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra, aditivado contra raios ultravioletas. O cultivo seguiu condições controladas, conforme recomendações para tomateiro (Alvarenga, 2013).

No experimento foram avaliados cinco tratamentos: *RC*₁, *RC*₂, *RC*₃ e os genitores doador e recorrente, sendo conduzidos em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, onde cada bloco experimental consistia em 4 quatro plantas.

2.2 Avaliação Agronômica, qualidade dos frutos e teores de acilaçúcar nos folíolos de tomateiro

Para as avaliações agronômicas da planta foram mensuradas:

Altura da planta (PH, cm): comprimento vertical total (medido com fita métrica);

Comprimento de internódio (IL, cm): razão entre altura da planta e número de entrenós (aos 155 *DAS*);

Frutos maduros foram coletados a partir de 90 dias (15 frutos/tratamento), avaliando os seguintes parâmetros:

Produção por planta (PROD, g): massa total dos frutos colhidos por grupo;

Peso médio de fruto (AFW, g): média aritmética entre os frutos colhidos por grupo;

Comprimento (FL, cm) e diâmetro (FD, cm) do fruto: medidos da cicatriz do pedúnculo à extremidade e no sentido transversal, respectivamente.

Espessura da polpa (PT, cm): determinada pela maior distância entre as extremidades do mesocarpo.

Os teores de açúcares (ACIL, $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$ de área foliar) foram obtidos a partir da quantificação de oito discos foliares ($4,2\text{ cm}^2$ cada) do terço superior (75 DAS), conforme Maciel e Silva (2014).

Em relação a qualidade de frutos foi determinada:

Acidez titulável (TA, %): determinada por titulação de 10 mL de suco com NaOH 0,1 N, o ponto final da titulação é alcançado quando aparece uma coloração rosa-claro (fenolftaleína) persistente por pelo menos 30 segundos, indicando que todo o ácido foi neutralizado e o pH atingiu aproximadamente 8,2. O volume de NaOH 0,1 N gasto na titulação é registrado e a acidez titulável é calculada e expressa em % de ácido cítrico (que é o ácido orgânico predominante no tomate) (Krammes *et al.*, 2003).

Teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ BRIX): medidos com refratômetro digital Atago PAL-1 3810.

Carotenoides (β -caroteno e licopeno): adicionou-se 3 mL de acetona 80% a 1 g de polpa + casca. As amostras, armazenadas a 4°C no escuro por 48 h, foram analisadas por espectrofotometria (450 nm para β -caroteno; 470 nm para licopeno). As concentrações foram calculadas conforme Rodriguez-Amaya (2001) e Rodriguez-Amaya & Kimura (2004).

2.3 Análise cromatográfica e perfil metabólico

Amostras de folíolos ($n=6$) foram coletadas da porção média da planta e maceradas com nitrogênio líquido usando um almofariz e pistilo, resultando em um pó fino. A extração dos metabólitos das amostras seguiu a metodologia utilizada por Eides *et al.* (2024) e Jacinto *et al.* (2025). Foram pesados 100 mg de amostra de folha macerada em tubos plásticos de centrífuga sendo os compostos extraídos com 2 mL de uma solução de metanol (MeOH), clorofórmio (CHCl_3) e água ultrapura (3:1:1) contendo $25\ \mu\text{L}/\text{mL}$ de adonitol como padrão interno. As amostras, após a adição do solvente extrator, foram agitadas em vórtex por 5s e deixadas para decantar por 1 min. Em seguida, 1 mL do sobrenadante foi transferido para um novo tubo plástico de centrífuga aonde foram adicionados $300\ \mu\text{L}$ de hexano.

As misturas produzidas foram deixadas para decantar por 3 min, e então $500\ \mu\text{L}$ de suas porções médias foram removidas e colocadas em micro tubos de plástico para secagem em um liofilizador por 48 h. Os extratos secos foram metoximizados em $50\ \mu\text{L}$ de cloridrato de metoxiamina diluído em piridina ($20\ \text{mg}/\text{mL}$) a 37°C por 2h e trimetilsililadas pela adição de $50\ \mu\text{L}$ de BSFTA [bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida] a 37°C por 30 min. As alíquotas

derivatizadas foram transferidas para frascos de vidro de 2 mL com *inserts* redutores de volume de 200 μL para análise cromatográfica.

As análises cromatográficas foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (Shimadzu, GCMS-QP2010), utilizando uma coluna capilar DB-5MS com diâmetro interno de $30\text{ m} \times 250\ \mu\text{m}$. A temperatura de injeção da amostra utilizada foi de $300\ ^\circ\text{C}$. A separação cromatográfica foi realizada com uma temperatura inicial da coluna de $80\ ^\circ\text{C}$, que foi mantida por 2 min, e aumentada a uma taxa de $5\ ^\circ\text{C}/\text{min}$ até atingir $315\ ^\circ\text{C}$, a temperatura final que foi mantida por 5 min, com um fluxo constante de gás hélio de $1,0\ \text{mL}/\text{min}$ durante toda a corrida. O volume de injeção foi de $1\ \mu\text{L}$ com uma divisão de 10:1. O espectro de massas foram obtidos na faixa de 40 a 650 m/z no modo de varredura completa com 5 varreduras por segundo. Um corte de solvente de 5 min foi usado, considerando o tempo de retenção da piridina usada na etapa de derivatização. As temperaturas da interface e da fonte de íons usadas foram de $250\ ^\circ\text{C}$. A tensão do detector foi de 1,2 kV, e o modo de ionização por impacto de elétrons (EI) foi selecionado para a ionização de metabólitos a 70 eV. Um padrão de alcanos (C9-C25) foi usado para controle de qualidade e cálculo de índices de retenção.

2.4 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Genes integrado ao ambiente R (Cruz, 2016). Os dados agrônômicos e bioquímicos coletados foram submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov, O'Neill e Mathews, Tukey e ANOVA (teste F, $\alpha = 0,05$) para avaliação da normalidade da regressão, homogeneidade das variâncias, aditividade dos blocos e variância, respectivamente. As médias dos grupos foram avaliadas pelos testes de Scott-Knott e Dunnett, ($\alpha = 0,05$), considerando-se o genitor doador anão (UFU MC TOM1) como controle para verificar os ganhos obtidos em cada retrocruzamento. Foi utilizado contrastes utilizando o teste de Scheffé para comparação de grupos.

O software MS-Dial 5 foi utilizado para alinhar, preencher lacunas e identificar metabólitos no conjunto de dados de cada amostra. Os metabólitos foram identificados por comparação com a biblioteca NIST, com base no tempo de retenção e na razão massa/carga (m/z) dos íons moleculares e seus fragmentos. As análises estatísticas dos dados metabolômicos foram realizadas utilizando o software MetaboAnalyst 6.0. As amostras foram injetadas no equipamento de forma randomizada. Amostras controle (QCs) foram utilizadas para monitorar possíveis erros instrumentais nas análises. As intensidades de sinais obtidas para cada

metabólito foram normalizadas utilizando-se a massa (g) e o sinal do padrão interno de cada amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação dos parâmetros biométricos

A análise de variância revelou efeito significativo dos genótipos para todas as variáveis agronômicas e físico-químicas avaliadas ($p < 0,05$). O teste de comparação de médias de Tukey permitiu identificar diferenças específicas, as quais são sumarizadas na Figura 1. De maneira geral, o genitor recorrente (GR) apresentou os maiores valores para as variáveis relacionadas à produtividade e tamanho do fruto: produção por planta (PROD), peso médio de fruto (AFW), comprimento do fruto (FL), diâmetro do fruto (FD), espessura da polpa (PT). Em nítido contraste, o genitor doador (GD) exibiu os menores valores para a maioria dessas características (Fig. 1A-E).

Os genótipos retrocruzados (RC1, RC2 e RC3) exibiram uma trajetória clara de recuperação do perfil agrônômico do GR. Para PROD, por exemplo, o RC3 atingiu valor superior aos do RC2 e RC1 e mais próximo do GR. Esse padrão de melhoria progressiva ao longo das gerações de retrocruzamento foi consistente, validando a eficiência do método de melhoramento em recuperar as características desejadas do genitor recorrente, conforme observado em trabalhos semelhantes (Pereira *et al.*, 2024, Finzi *et al.*, 2017).

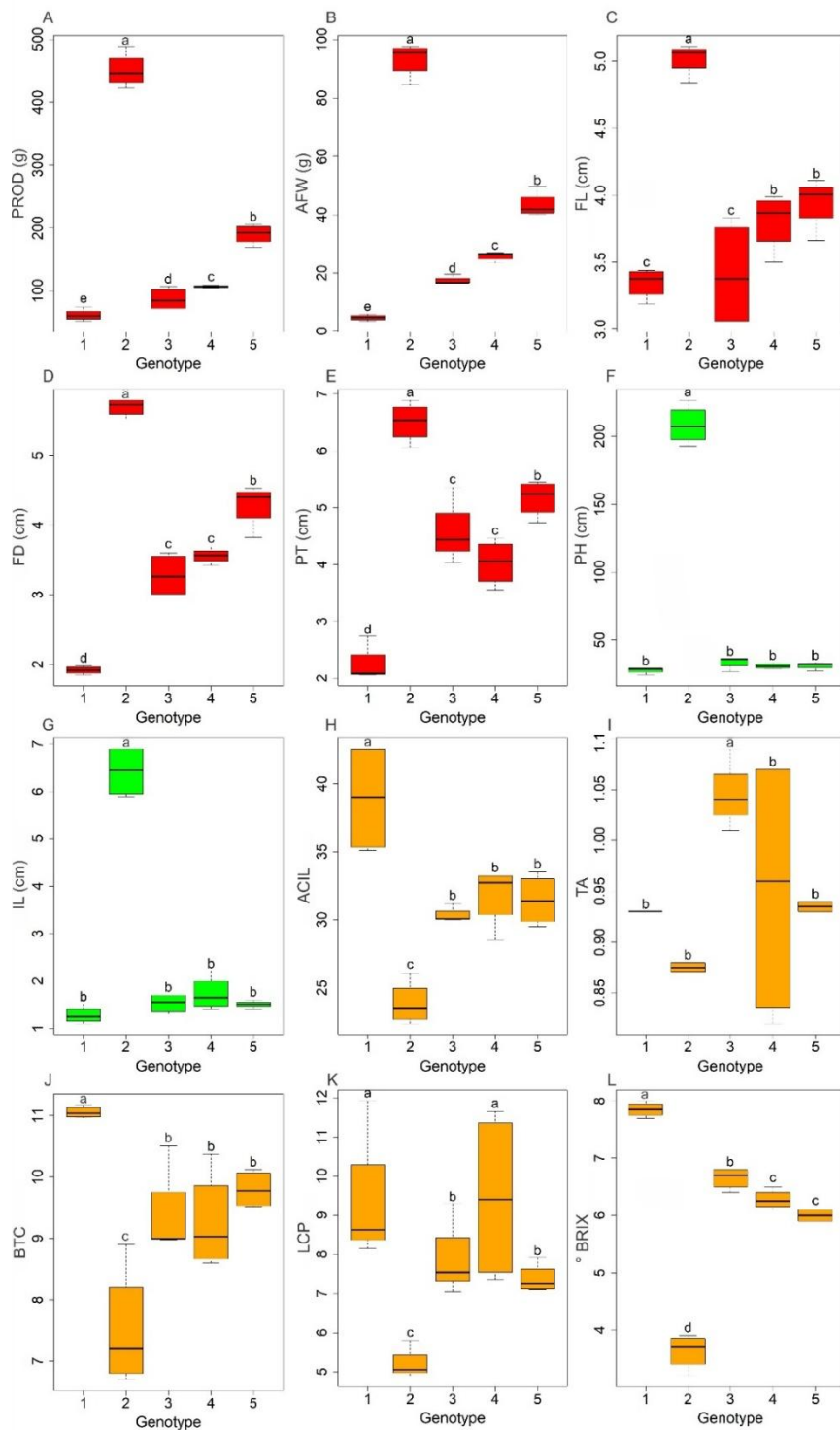


Figura 1. Distribuição de variáveis agrônômicas e físico-químicas em genótipos de tomateiro: recuperação progressiva das características do genitor recorrente (GR) em plantas anãs após retrocruzamentos sucessivos. A. Produção por planta; B. Peso médio de fruto; C. Comprimento do fruto; D. Diâmetro do fruto; E. Espessura da polpa; F. Altura da planta; G. Comprimento de entrenó; H. Teor de acil-açúcares; I. Acidez titulável; J. Teor de β -caroteno; K. Teor de licopeno; L. Teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix). Genótipos. 1 – Genitor doador (GD); 2 – Genitor recorrente (GR); 3, 4 e 5 – Plantas anãs resultantes do primeiro, segundo e terceiro ciclos de retrocruzamento, respectivamente.

Em relação às métricas de altura de planta (PH) e comprimento de entrenó (IL), o genitor recorrente apresentou características normais, enquanto os retrocruzamentos mantiveram o perfil das plantas GD, ou seja, valores reduzidos (Fig. 1F, G). A manutenção de internódios curtos nos retrocruzamentos, herdada do GD, confirma a fixação bem-sucedida da arquitetura anã, a qual está metabolicamente associada à redução nos níveis de precursores da lignina, como o ácido quínico (Ha *et al.*, 2021). Essa arquitetura compacta promove maior eficiência produtiva, conforme detalhado em pesquisas anteriores de Pereira *et al.* (2024) e Gomes *et al.* (2022). Além disso, podem contribuir para reduzir as práticas de poda, tutoramento e colheita (Finzi *et al.*, 2017)

A quantificação do teor de acil-açúcares (ACIL) revelou níveis significativamente maiores no GD, que foram parcialmente mantidos nos genótipos retrocruzados (Fig. 1H), padrão semelhante ao de Maciel *et al.* (2024), Oliveira *et al.*, (2024) e Ribeiro *et al.* (2024). Esses compostos destacam-se no melhoramento genético por conferir amplo espectro de resistência a pragas (Maciel *et al.*, 2010). Essa característica os torna especialmente promissores para o desenvolvimento de genótipos mais resistentes como visto em culturas de tomate, batata e tabaco (Dias *et al.* 2021, Luu *et al.*, 2017 e Rondon *et al.* 2021). A introgressão bem-sucedida desta via de defesa especializada é de grande relevância para o melhoramento, embora possivelmente represente um custo metabólico, como a alocação preferencial de carbono em detrimento de outros processos (Vendemiatti *et al.*, 2025).

A quantificação dos valores de acidez titulável (TA) não apresentou diferenças significativas entre os genótipos (Fig. 1I). TA é um parâmetro crítico para a qualidade pós-colheita, pois reflete a concentração de ácidos orgânicos (como cítrico e málico) que influenciam em diversas características, como sabor, equilíbrio doçura-acidez e conservação do fruto (Agius *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2021). Eles também atuam como barreiras bioquímicas naturais, reduzindo o pH (potencial hidrogeniônico) do tecido vegetal e inibindo o crescimento de microrganismos deteriorantes, como fungos e bactérias (Clemente e Boiteux 2012).

Um padrão com níveis elevados no GD e intermediários nos retrocruzamentos foi observado para os teores de sólidos solúveis (°BRIX) e β -caroteno (BTC) (Fig. 1 J, L). Esses resultados corroboram com os resultados de Oliveira *et al.* (2021) e Pereira *et al.* (2024). O °BRIX é uma medida que quantifica a concentração de sólidos solúveis totais, principalmente açúcares, mas também ácidos orgânicos, aminoácidos e outros compostos solúveis (Li *et al.*, 2021). No amadurecimento do tomate, ocorre o acúmulo de açúcares e a redução de ácidos

orgânicos, sendo a relação açúcar-ácido um parâmetro essencial para o sabor e a qualidade do fruto (Bai *et al.*, 2023).

O β -caroteno é um carotenoide que se converte de forma segura em vitamina A no intestino, confere ao tomate uma atrativa coloração amarela alaranjada e maior valor nutricional (Tufail *et al.*, 2024). Seu potente efeito antioxidante protege as células e fortalece a imunidade, características que aumentam a percepção de qualidade pelo consumidor, tornando o fruto mais desejável por sua aparência vibrante e benefícios à saúde. (Gebregziabher *et al.* 2023).

Já a concentração no teor de licopeno (LCP) mostrou-se superior nos retrocruzamentos em relação ao GR. O licopeno é um potente antioxidante natural, com capacidades superiores ao betacaroteno e a vitamina E, neutralizando radicais livres e protegendo células contra danos oxidativos (López-Valverde *et al.*, 2024). Sua síntese nas plantas depende de fatores genéticos e ambientais, conferindo coloração vermelha e atuando como precursor de outros carotenoides importantes (Zhao, Liu e Mao, 2020). Além de prevenir oxidação em lipídios e DNA, esse carotenoide pode reduzir mutações celulares, fortalecendo a proteção contra doenças e danos tissulares (Tufail *et al.*, 2024). A correlação entre o hábito de crescimento anão e os teores elevados de licopeno nos retrocruzamentos sugere uma possível influência da arquitetura da planta na biossíntese de carotenoides, possivelmente mediada por alterações na interceptação luminosa e na dinâmica fonte-dreno.

O dendrograma, construído com base na distância euclidiana e utilizando o método de agrupamento por pares não ponderados usando médias aritméticas (UPGMA), revelou a formação de três grupos genéticos distintos (Fig. 2). O Grupo I foi constituído exclusivamente pelo genitor recorrente (GR), enquanto o Grupo II foi formado apenas pelo genitor doador (GD). Já os três genótipos retrocruzados foram alocados juntos no Grupo III, o qual se mostrou mais próximo do Grupo II (GD) do que do Grupo I (GR) no dendrograma.

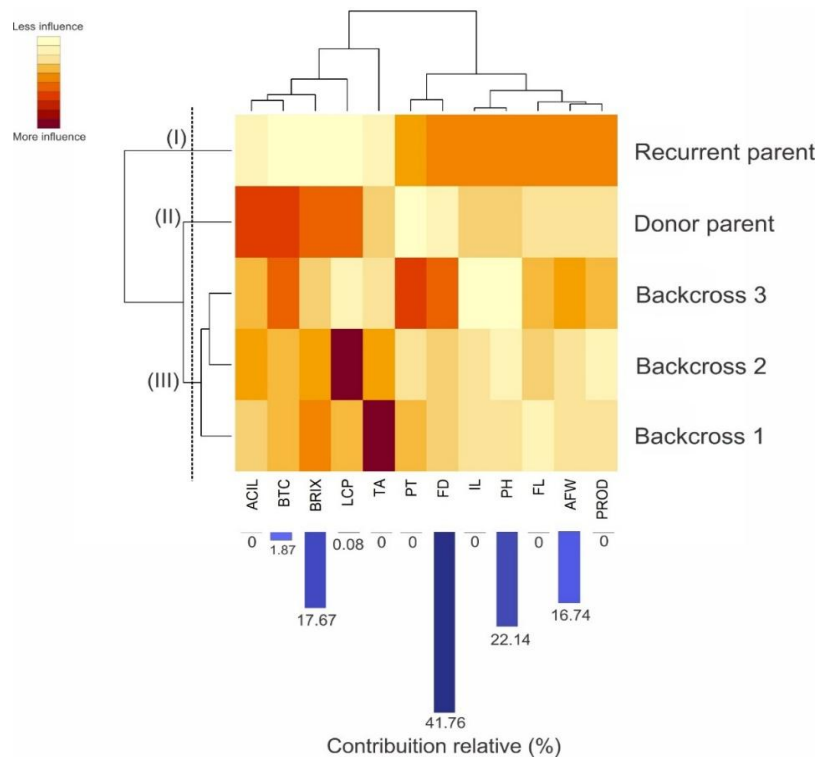


Figura 2. Dissimilaridade genética entre genótipos de tomateiro anão e comercial: análise hierárquica (UPGMA) baseada em características agronômicas e físico-químicas.

A análise de importância relativa das variáveis agronômicas para a distinção entre os genótipos, apresentada na figura 2, revelou que a altura da planta foi, de longe, o descritor mais influente, respondendo sozinha por 41,76% da dissimilaridade. Este resultado corrobora visualmente a forte dissimilaridade genética observada no dendrograma entre o GR e o GD, que é fundamentalmente divergente quanto a essa característica. O comprimento do fruto emergiu como o segundo descritor mais importante (16,74%), enquanto o teor de acil-açúcares foi o terceiro (1,87%). As demais variáveis, incluindo AFW e °BRIX, tiveram contribuição marginal (<1%), indicando que, embora metabolicamente relevantes, foram menos decisivas para a segregação genotípica geral.

Essa hierarquia de importância contextualiza a formação dos grupos no dendrograma. O fato de RC1, RC2, RC3 se agruparem mais próximos ao GD reflete diretamente a herança do porte anão (baixo PH), a característica de maior peso na análise. A própria configuração do dendrograma confirma a trajetória de melhoramento. A ordem de fusão dentro do Grupo III, onde RC2 e RC3 formam um subgrupo coeso que depois se associa a RC1, demonstra uma progressão na recuperação do perfil do GR. RC1, sendo o último a se fundir, mantém-se como o genótipo mais próximo do GD, enquanto a maior similaridade entre RC2 e RC3 reflete o sucesso seletivo em estabilizar um perfil mais equilibrado nas gerações avançadas.

A análise de *Self-Organizing Maps* (SOM) ofereceu uma visão multidimensional e não-linear da dissimilaridade entre os genótipos, corroborando e refinando os padrões observados nas análises anteriores. O mapa de contagem (Fig. 3A) confirmou, em primeiro lugar, o alto grau de similaridade entre RC1 e RC2, que compartilharam neurônios adjacentes (3 e 4), enquanto RC3, GD e GR foram alocados em neurônios únicos (5, 1 e 2, respectivamente).

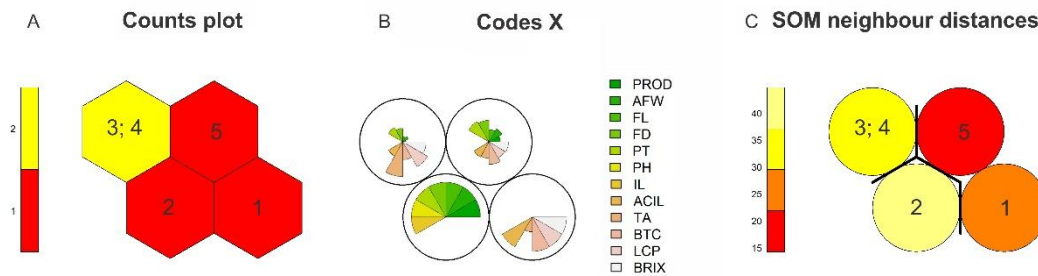


Figura 3- Neurônios e agrupamentos: perfil de influência das variáveis em genótipos de tomateiro. A. Classificação dos tratamentos em função do número de neurônios; B. Representação dos neurônios e a magnitude de influência das variáveis; C. Distâncias dos vizinhos mais próximos e clusterização dos neurônios com base no método UPGMA em função das distâncias. 1 – Genitor doador (GD); 2 – Genitor recorrente (GR); 3, 4 e 5 – Plantas anãs resultantes do primeiro, segundo e terceiro ciclos de retrocruzamento, respectivamente.

Os mapas de calor dos codes (Fig. 3B) revelam a 'assinatura' metabólica e agrônômica de cada grupo. O neurônio correspondente ao GR exibe maior intensidade para variáveis de produção e tamanho de fruto (PROD, AFW, FD), enquanto o do GD se destaca por altos valores de compostos especializados (ACIL, LCP). Criticamente, os neurônios dos retrocruzamentos (3, 4, 5) exibem perfis intermediários e recombinantes, com intensidade moderada em ambas as categorias de variáveis. Isso demonstra visualmente a introgressão bem-sucedida, uma vez que as linhagens melhoradas herdaram a produção do GR além de manter níveis apreciáveis de compostos de defesa do GD.

Por fim, o mapa de distâncias entre neurônios (Fig. 3C) valida a trajetória de melhoramento inferida pelo dendrograma. A proximidade entre os neurônios dos retrocruzamentos e sua posição intermediária entre o GD e o GR confirma que o processo seletivo foi eficaz em gerar um grupo distinto e equilibrado, com RC3 representando o estágio mais avançado dessa convergência.

3.2 Análise Metabolômica

Do total de 101 metabólitos identificados na análise metabolômica, as comparações estatísticas entre os grupos permitiram identificar aqueles com abundância diferencial

significativa. Especificamente na comparação entre os grupos GR e GD, oito metabólitos exibiram uma redução na intensidade nas amostras do grupo GD (Fig. 4A). São eles: o aminoácido L-alanina (FC = 0.6845, $p = 0.0495$), o ácido orgânico ácido quínico (FC = 0.3481, $p = 0.0296$) e os carboidratos D-arabinose (FC = 0.5859, $p = 0.0349$), D-manose (FC = 0.4838, $p = 0.0496$), D-xilulose (FC = 0.4625, $p = 0.0412$), D-lixose (FC = 0.3482, $p = 0.0296$), D-xilose (FC = 0.3100, $p = 0.0017$) e Tagatose (FC = 0.3039, $p = 0.0008$).

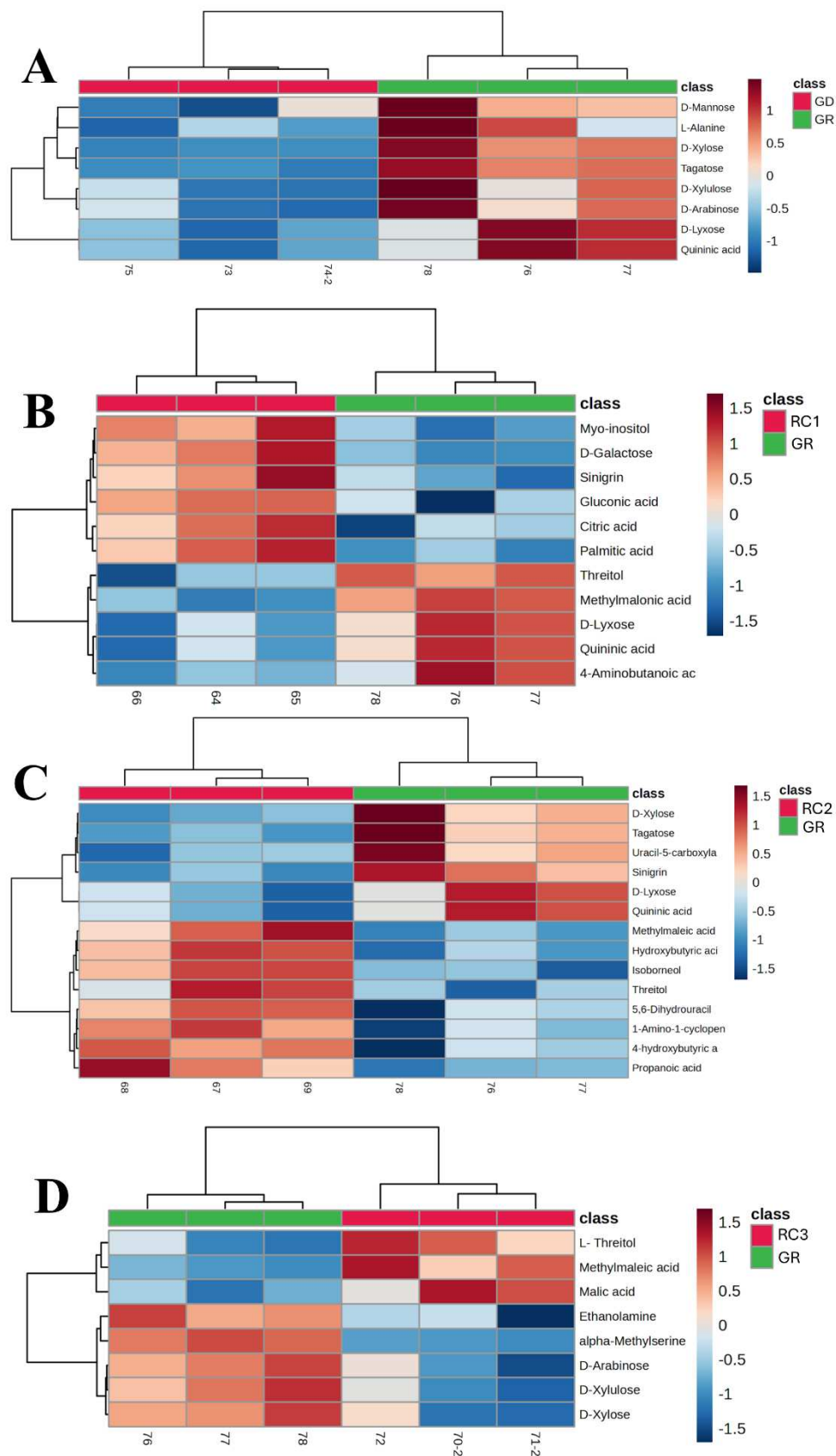


Figura 4. Heatmaps ilustrando o comportamento em abundância dos metabólitos significativamente diferentes ($p < 0,05$) nas comparações de GR com A. GD; B. RC1; C. RC2; e D. RC3.

A análise estatística multivariada PLS-DA (*Partial Least Squares Discriminant Analysis*) mostrou uma clara separação entre os grupos de amostras, com as componentes 1 e 2 explicando 32,6% e 21,8% da variância, como detalhado na Fig. 5A. O perfil metabolômico do grupo GR foi comparado aos dos retrocruzamentos com o objetivo de identificar diferenças estatisticamente significativas que indiquem a herança do genitor doador. Em outras palavras, buscou-se verificar se características de interesse foram herdadas do tomateiro anão, com base nos metabólitos detectados por GC-MS nas condições experimentais avaliadas.

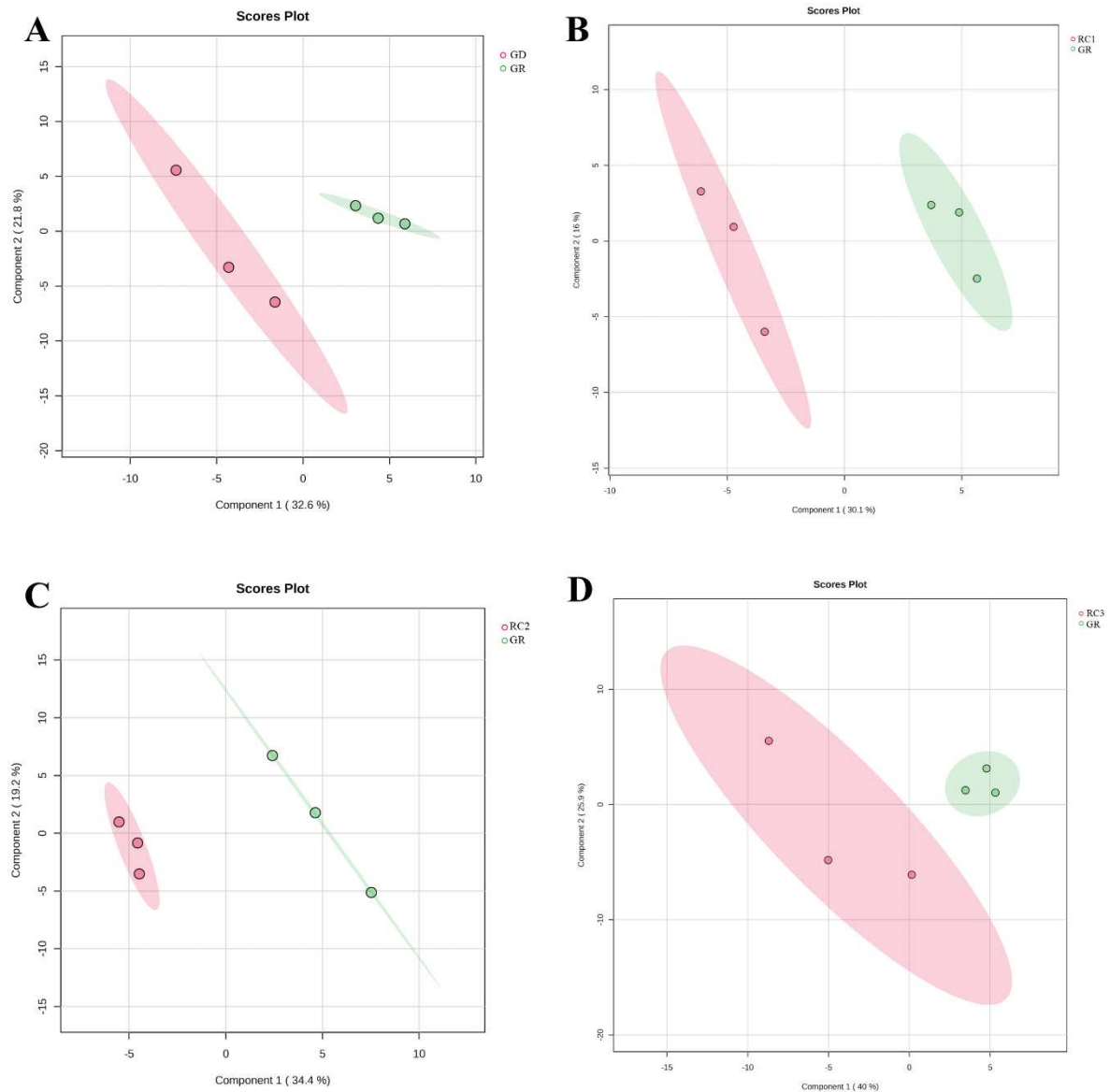


Figura 5. Modelos PLS-DA (*Partial Least Squares Discriminant Analysis*) demonstrando a discriminação metabolômica entre o genitor recorrente (GR) e os demais genótipos: (A) GD, (B) RC1, (C) RC2 e (D) RC3. Os valores de variância explicada (LV1/LV2) para cada modelo confirmam a segregação robusta entre os grupos, com uma clara tendência de redução da dissimilaridade entre GR e RC3.

A análise comparativa entre RC1 e GR revelou 11 metabólitos diferentes em suas abundâncias entre os grupos, sendo seis com abundância aumentada e cinco com abundância reduzida nas amostras do grupo RC1 (Fig. 4B). Dentre os compostos com abundância aumentada, notou-se os ácidos glucônico (FC = 7.5626, $p = 0.0323$), palmítico (FC = 4.1188, $p = 0.0074$) e cítrico (FC = 3.3311, $p = 0.0350$), os carboidratos D-galactose (FC = 1.9507, $p = 0.0036$) e mio-inositol (FC = 1.3323, $p = 0.0069$) e o glucosídeo sinigrin (FC = 2.7343, $p = 0.0254$). Entretanto, os ácidos metilmalônico (FC = 0.5215, $p = 0.0073$), 4-aminobutanoico (FC = 0.4282, $p = 0.0357$) e quínico (FC = 0.2755, $p = 0.0280$), o treitol (FC = 0.8583, $p = 0.0073$) e a lixose (FC = 0.2753, $p = 0.0281$) foram encontrados com intensidades menores nas amostras de RC1 em relação ao grupo GR. A PLS-DA demonstrou uma discriminação significativa entre os grupos RC1 e GR, com as duas primeiras componentes respondendo por 46,1% da variância (30,1% na primeira componente e 16,0% na segunda) (Fig. 5B).

Quando comparado o grupo RC2 e o genótipo recorrente identificou 14 metabólitos com variações, dos quais oito apresentaram aumento e seis redução em suas abundâncias relativas (Fig. 4C). Os ácidos hidroxibutírico (FC = 2.4053, $p = 0.0088$), 4-hidroxibutírico (FC = 2.0301, $p = 0.0282$) metilmaleico (FC = 1.7884, $p = 0.0145$), 1-Amino-1-cyclopentanecarboxylic (FC = 1.3458, $p = 0.0232$) e propanoico (FC = 1.3120, $p = 0.0125$), isoborneol (FC = 3.5110, $p = 0.0079$), treitol (FC = 1.0600, $p = 0.0468$) e 5,6-Di-hidrouracila (FC = 1.4367, $p = 0.0415$) foram encontrados em maior intensidade em amostras de RC2, enquanto tagatose (FC = 0.6228, $p = 0.0242$), D-xilose (FC = 0.5733, $p = 0.0279$), D-lixose (FC = 0.3493, $p = 0.0447$), sinigrin (FC = 0.3270, $p = 0.0060$), ácido quínico (FC = 0.3489, $p = 0.0446$) e uracil-5-carboxilato (FC = 0.7905, $p = 0.0337$) estavam em menores quantidades. A análise estatística multivariada (PLS-DA) corroborou a segregação metabólica entre os grupos, sendo que mais da metade da variação foi capturada pelas duas primeiras componentes (C1 = 34,4%; C2 = 19,2%) (Fig. 5C).

Por fim, na comparação entre os grupos RC3 e GR, observou-se diferença em oito compostos, com três exibindo maior abundância e cinco com níveis reduzidos (Fig. 4D). Dentre eles, os ácidos málico (FC = 2.6177, $p = 0.0288$) e metilmaleico (FC = 2.9949, $p = 0.0063$) e o treitol (FC = 1.8428, $p = 0.0228$) mais intensos em RC3, enquanto α -metilserina (FC = 0.1309, $p = 3.08 \cdot 10^{-5}$), etanolamina (FC = 0.3757, $p = 0.0367$) e os carboidratos D-arabinose (FC = 0.3407, $p = 0.0309$), D-xilose (FC = 0.3010, $p = 0.0339$) e D-xilulose (FC = 0.2672, $p = 0.0248$) se encontram reduzidos. A PLS-DA evidenciou uma separação robusta entre RC3 e GR, com as duas componentes acumulando 65,9% da variância total (40,0% na C1 e 25,9% na C2) (Fig. 5D).

Para avaliar a eficácia da introgressão dos caracteres do genitor doador, o perfil metabolômico foi inicialmente comparado entre os genitores, identificando os metabólitos 'assinatura' do GD. O comportamento desses compostos-chave foi então rastreado ao longo das gerações de retrocruzamento. Paralelamente, alterações em outros metabólitos, não originalmente distintos entre os genitores, revelaram as consequências fisiológicas e o reajuste metabólico desencadeado pelo processo de melhoramento.

De uma perspectiva fisiológica ampla, o processo de retrocruzamento visou não apenas a recuperação do hábito de crescimento indeterminado, mas também a manutenção de um metabolismo capaz de suportar estresses abióticos. A análise metabolômica revelou que as linhagens melhoradas passaram por um significativo rearranjo em seu perfil bioquímico, o que, em nível macro, pode ser interpretado como um reajuste dos mecanismos de tolerância. As alterações observadas em compostos osmorreguladores, na atividade do ciclo de Krebs e na disponibilidade de precursores para estruturas de defesa sugerem que as plantas retrocruzadas desenvolveram um perfil metabólico mais robusto, apto a manter a homeostase sob condições adversas.

Entre os metabólitos 'assinatura' do genitor doador, o ácido quínico (QA) se destacou por seu padrão de rastreamento claro. Ele foi consistentemente encontrado em menores intensidades no GD e nos retrocruzamentos iniciais em comparação ao GR, com exceção do RC3. A menor abundância observada em RC1 e RC2 sugere uma utilização mais intensa deste precursor nas vias metabólicas a jusante. Como precursor essencial na via do ácido chiquímico (Yokoyama, 2021), este metabólito desempenha um papel duplamente crucial no metabolismo vegetal, atuando tanto na biossíntese de lignina, que é fundamental para a sustentação e crescimento vertical das plantas, quanto na produção de compostos fenólicos envolvidos em mecanismos de defesa (Gao *et al.*, 2020).

A redução acentuada de QA observada em RC1 e RC2 encontra paralelo em estudos com mutantes semi-anões de tomateiro que apresentam deficiência na lignificação e consequentemente arquitetura reduzida (Wang *et al.*, 2025), sugerindo que a diminuição desse metabólito possa estar diretamente relacionada ao fenótipo anão herdado do GD. A estabilização dos níveis de ácido quínico em RC3, sugerindo uma aproximação aos padrões do GR, reflete presumivelmente uma reconfiguração metabólica favorável resultante do processo seletivo ao longo das gerações de retrocruzamento. Esta recuperação coincide com a restauração progressiva das características agrônomicas desejáveis, indicando que o reequilíbrio desta via metabólica específica pode ser um dos fatores subjacentes ao sucesso do programa de melhoramento.

Além do ácido quínico, o perfil do genitor doador foi marcado por uma redução generalizada de carboidratos específicos. Na comparação GR x GD, observou-se uma redução significativa nas intensidades de arabinose, manose, xilulose, xilose, lixose e tagatose no GD (Fig. 4A). Esses monossacarídeos atuam não apenas como fontes energéticas (via glicólise e metabolismo do amido), mas também como precursores de polissacarídeos estruturais da parede celular e moduladores de sinalização celular, podendo refletir maior vigor fisiológico (Wang *et al.*, 2024). O rastreamento desses compostos revelou não apenas a introgressão bem-sucedida desse caráter, mas também seu direcionamento para vias especializadas de defesa.

A tagatose, reduzida no GD, manteve-se em níveis baixos ao longo de todas as gerações de retrocruzamento. Essa redução consistente, longe de indicar uma simples deficiência, sugere seu consumo ativo como precursor na biossíntese de acil-açúcares. Embora estudos em plantas sejam escassos, trabalhos em microrganismos (Mijailovic *et al.* 2021, Zhang *et al.* 2025, LV *et al.* 2025) associam a tagatose a respostas ao estresse e produção de ATP (adenosina trifosfato). Em plantas, açúcares raros podem atuar como sinalizadores metabólicos (Wingler e Henriques, 2022; Sakr *et al.* 2018), e sua diminuição poderia prejudicar a expansão celular.

Padrão semelhante foi observado para xilose e arabinose, também reduzidos no GD e mantidos em baixos níveis nos retrocruzamentos. Estes monossacarídeos atuam como precursores de hemiceluloses da parede celular (Wingler e Henriques, 2022; Sakr *et al.* 2018), e sua redução sustentada está provavelmente associada à menor demanda por alongamento celular no fenótipo anão, representando outra característica estrutural herdada do GD.

A redução conjunta e consistente desses precursores (tagatose, xilose, arabinose), aliada ao aumento dos níveis de acil-açúcares mensurados agronomicamente (Fig. 1H), fortalece a hipótese de um aumento no fluxo metabólico através da biossíntese de acil-açúcares. Os acil-açúcares são metabólitos especializados de defesa, sintetizados e acumulados em tricomas glandulares, onde constituem a primeira barreira física e química contra herbívoros e patógenos (Chang *et al.*, 2022). Como esquematizado na Figura 6, dentro deste modelo, os precursores convergem para a formação do núcleo glicosídico, cuja acilação subsequente (catalisada por

enzimas BAHD acyltransferases) resulta em acil-açúcares maduros (Vendemiatti *et al.*, 2025).

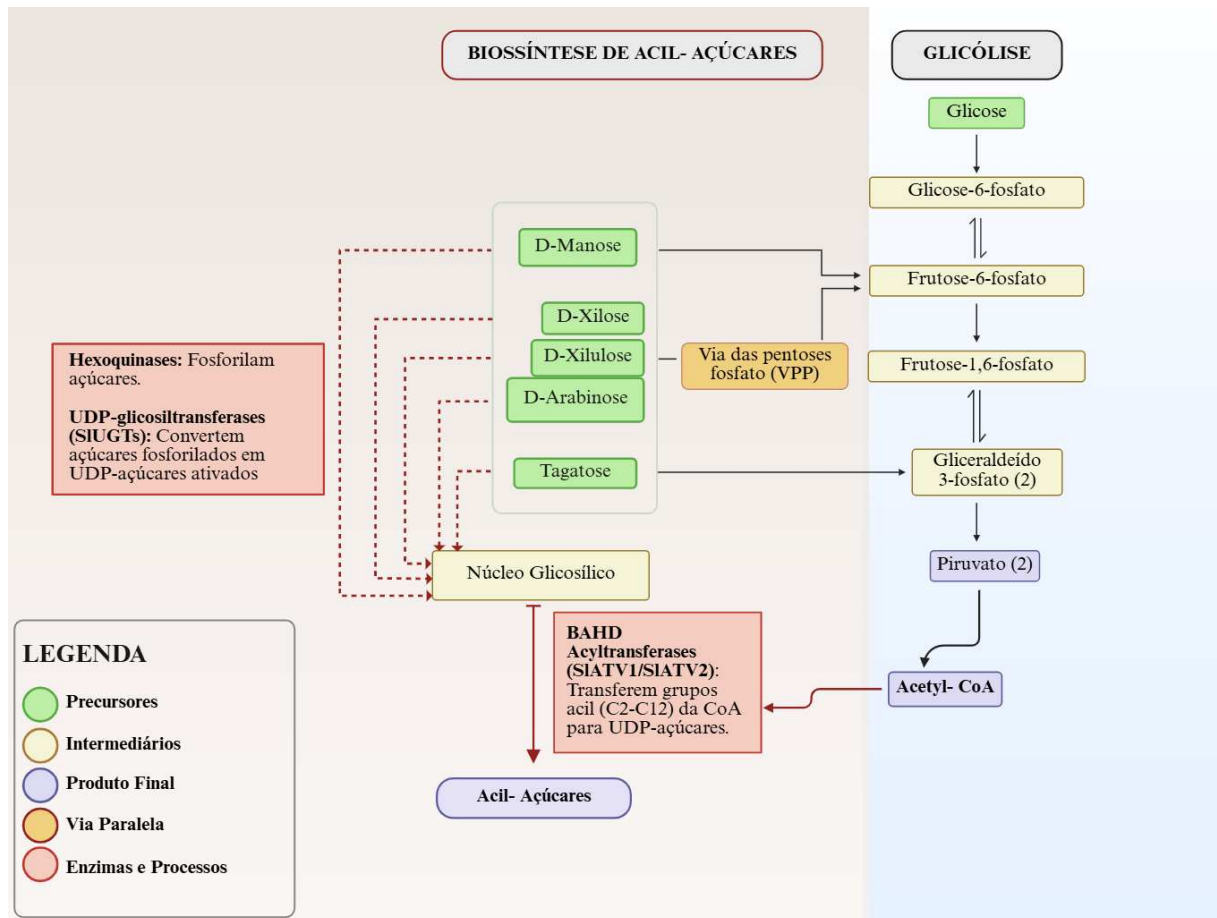


Figura 6. Hipótese esquemática para a biossíntese de acil-açúcares em tomateiro e o impacto da introgressão do hábito anão. O esquema integra vias do metabolismo primário (glicólise e via das pentoses fosfato) com a biossíntese especializada em tricomas glandulares. UDP= Uridina Difosfato.

Este padrão é classicamente interpretado como um indicativo de que tais precursores estão sendo consumidos ativamente ("gastos") para sustentar a biossíntese do produto final. Dessa forma, o processo de retrocruzamento mostrou-se eficiente não apenas em introgressar, mas também em manter funcional a capacidade de produção desses compostos defensivos herdada do genitor doador. A manutenção desses compostos ao longo dos retrocruzamentos valida sua associação com a resistência a artrópodes (ex.: *T. urticae*) (Filho *et al.*, 2022) e os estabelece como marcadores metabólicos promissores (ex.: razão xilose/tagatose) para a seleção indireta de plantas com defesa aprimorada (Lybrand *et al.*, 2020).

Dessa forma, o rastreamento dos metabólitos 'assinatura' do GD (ácido quínico e os carboidratos precursores) confirmou a introgressão bem-sucedida do porte anão e do potencial de defesa. Paralelamente a essa herança direta, o processo de melhoramento desencadeou

profundos reajustes fisiológicos, revelados por alterações em compostos que não variavam originalmente entre os genitores.

A variação observada nas abundâncias do composto treitol quando comparados os retrocruzamentos e o grupo GR, mostrou que os níveis deste metabólito, ao longo do melhoramento, foram aumentando gradativamente. Sua abundância foi baixa em RC1, aumentando nas gerações RC2 e RC3, em comparação ao grupo GR. A redução inicial de treitol em RC1 pode refletir alterações metabólicas decorrentes da introgressão de alelos do GD anão, embora estudos específicos sobre essa relação sejam escassos, sabe-se que mutações que afetam o porte da planta podem alterar o balanço de carboidratos e compostos osmorreguladores (Warang e Gawas, 2025). Já o aumento nas gerações seguintes indica a recuperação progressiva de características do GR, como vigor e balanço metabólico. Estudos em tomateiro vinculam polióis (como treitol e mio-inositol) à tolerância a estresses abióticos (Wang *et al.*, 2022, Li *et al.*, 2023), sugerindo que sua modulação durante o melhoramento reflete um ajuste fisiológico para manutenção da homeostase.

Além disso, diversos ácidos orgânicos apresentaram acúmulo nas populações retrocruzadas em relação ao GR, como os ácidos glucônico, palmítico, cítrico, málico, metilmaleico, 4-hidroxi-butírico, hidroxi-butírico, 1-Amino-1-cyclopentanecarboxylic e propanoico. O aumento desses compostos sugere uma reprogramação do metabolismo central, com destaque para a maior atividade do ciclo de Krebs (evidenciada pelos acúmulos de ácido cítrico e málico), que pode estar associada a uma demanda energética mais elevada nas plantas melhoradas (Panchal, Miller e Giri, 2021, Gao *et al.*, 2020). Essas alterações metabólicas, combinadas com o aumento de precursores como o ácido palmítico (essencial para síntese de lipídeos de membrana) (Sharma *et al.*, 2023), indicam que o processo de retrocruzamento selecionou plantas com um perfil metabólico mais robusto, capaz de sustentar tanto o crescimento vegetativo quanto mecanismos de resistência.

Um paralelo entre o aumento progressivo desses ácidos orgânicos ao longo das gerações de retrocruzamento e a recuperação das características agronômicas desejadas sugere que essas alterações não são meramente acidentais, mas refletem a fixação bem-sucedida de características fisiológicas adaptativas. Esse padrão é evidente quando observamos metabólitos como o ácido metilmaleico e o 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico que, embora estudos não sejam tão específicos sobre esses compostos, analogias podem ser estabelecidas com vias metabólicas relacionadas: o ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), estruturalmente similar, é conhecido por seu papel na sinalização de estresse em plantas (Abdelsalam *et al.*, 2023).

Em conjunto, os perfis metabolômicos das linhagens retrocruzadas desvendam uma narrativa bioquímica coerente sobre o processo de melhoramento. Observa-se uma clara trajetória de recuperação metabólica: das alterações pronunciadas em RC1, marcadas pela redução de compostos de estrutura e defesa (ácido quínico, treitol), passa-se por um estágio de reconfiguração energética e osmorreguladora em RC2, até se chegar a um perfil mais equilibrado em RC3. Este último aproxima-se do GR não por uma simples reversão, mas através da estabilização de um novo *setup* metabólico, que conjuga a manutenção de vias de defesa especializada (herdadas do GD) com a restauração do vigor fisiológico e do balanço energético típicos do genitor recorrente. Dessa forma, a metabolômica não apenas valida o sucesso da introgressão de características de resistência, mas também demonstra que o retrocruzamento foi eficaz em selecionar plantas com um metabolismo reprogramado e potencialmente mais resiliente.

Em síntese, as análises agronômicas e metabolômica contam uma narrativa coesa e complementar sobre a eficácia do retrocruzamento. A segregação fenotípica observada no dendrograma, impulsionada principalmente pela arquitetura da planta (PH), encontra sua contrapartida e explicação bioquímica no metaboloma. O perfil de RC3, identificado como o mais equilibrado agronomicamente, é sustentado por uma configuração metabólica distintiva: a manutenção de vias de defesa especializada (ex.: acil-açúcares), conjugada com a recuperação do vigor fisiológico (ex.: níveis de treitol e atividade do ciclo de Krebs). Dessa forma, este trabalho demonstra que o retrocruzamento foi eficaz não apenas em introgressar caracteres de resistência do GD, mas em selecionar plantas de tomateiro anão com um metabolismo reprogramado e potencialmente mais resiliente, no qual o RC3 se consolida como o genótipo mais promissor.

4. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que, por meio do rastreamento metabolômico e agronômico, o processo de três ciclos de retrocruzamento foi eficaz em preservar os compostos 'assinatura' do genitor doador (GD), a arquitetura compacta (baixos PH e IL) e os altos teores de acil-açúcares e carotenoides, em conjunto com a produtividade e a qualidade comercial do genitor recorrente (FD, AFW). A análise metabolômica revelou uma reprogramação equilibrada, na qual a redução de precursores carboidratos (xilose, tagatose) sustenta a hipótese de um fluxo direcionado para a defesa, mantendo os traços do GD, sem comprometer o desempenho agronômico. Dessa forma, o objetivo de avaliar a permanência de metabólitos de interesse do

GD nos retrocruzamentos foi plenamente alcançado, validando a eficácia do método não apenas em introgressar, mas em estabilizar um perfil bioquímico desejável e recombinante.

REFERÊNCIAS

- Abdelsalam, A., Chowdhury, K., Boroujerdi, A., & El-Bakry, A. (2023). Effect of stress hormones on the metabolome of a suspension culture of the aromatic medicinal plant *Cymbopogon schoenanthus* subsp. *proximus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 155, 137-163. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02560-0>
- Agius, C., Tucher, S. V., Poppenberger, B., Rozhon, W. (2018). Quantification of sugars and organic acids in tomato fruits. *MethodsX*, 5, 537–550. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2018.05.014>
- Ahmar, S., Gill, R. A., Jung, K.-H., Faheem, A., Qasim, M. U., Mubeen, M., Zhou, W. (2020). Conventional and Molecular Techniques from Simple Breeding to Speed Breeding in Crop Plants: Recent Advances and Future Outlook. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2590. <https://doi.org/10.3390/ijms21072590>
- Alvarenga, M. A. R. (2013). Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. 2. ed. Lavras: Editora UFLA.
- Amr, A.; Raie, W. (2022). Tomato Components and Quality Parameters. A Review. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 18(3): 199–220. <https://doi.org/10.35516/jjas.v18i3.444>
- Bai, C., Zuo, J., Watkins, C. B., Wang, Q., Liang, H., Zheng, Y., Liu, M., Ji, Y. (2023). Sugar accumulation and fruit quality of tomatoes under water deficit irrigation, *Postharvest Biology and Technology*, 195, 112112. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112112>
- Bhavane, K. N. D., Krishnamoorthi, A., Rathva, H. M., Mareguddikar, S. C., Singh, A., Singh, B. P., Nageshwar, Chittibomma, K. (2024). Advancements in Genetic Engineering for Enhanced Traits in Horticulture Crops: A Comprehensive Review. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 27(2): 90-110. <https://doi.org/10.9734/jabb/2024/v27i2702>
- Bobadilla, M. F., Vitiello, A., Erb, M., Poelman, E. H. (2021). Plant defense strategies against attack by multiple herbivores. *Trends in Plant Science*, 27, 6, 528-535. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.12.010>
- Canuto, G. A. B., Costa, J. L., Cruz, P. L. R., Souza, A. R. L., Faccio, A. T., Klassen, A., Rodrigues, K. T., Tavares, M. F. M. (2018). Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. *Química Nova*, 41, 1, 75-91, 2018. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170134>
- Chang A., Hu, Z., Chen, B., Vanderschuren, H., Chen, M., Qu, Y., Yu, W., Li, Y. Sun, H., Cao, J., Vasudevan, K., Li, C., Caio, Y., Zhang, J., Shen, Y., Yang, A., Wang, Y. (2022). Characterization of trichome-specific BAHD acyltransferases involved in acylsugar biosynthesis in *Nicotiana tabacum*. *Journal of Experimental Botany*, 73, 12: 3913–3928. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac095>

Clemente, F. M. V. T., Boiteux, L. S. (Ed.). *Produção de tomate para processamento industrial*. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2012.

Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S., Regazzi, A. J. (Ed.). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 3. ed. Viçosa: Editora da UFV, 2014.

Cruz, C. D. (2016). Genes Software - extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 38(4): 547-552.
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i4.32629>

Dias, D. M., Corte, L. E.-D., Resende, J. T. V., Zeffa, D. M., Resende, N. C. V., Zanin, D. S., Filho, R. B. L. (2021). Acylsugars in tomato varieties confer resistance to the whitefly and reduce the spread of fumagine. *Bragantia*, 80, e4421. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20210022>

Eides, J. R., Ikehara, B. R. M., Almeida, N. R., Macedo, W. R., Pinto, F. G. (2024). Metabolomics as a tool for analysis of wheat leaves from different cultivars infected with *Pyricularia oryzae*. *ACS Agricultural Science & Technology*, 4, 535-543.
<https://doi.org/10.1021/acsagcitech.3c00580>

Filho, R. B. L., Resende, J. T. V., Oliveira, J. R. F., Nardi, C., Silva, P. R., Rech, C., Oliveira, L. V. B., Ventura, M. U., Silva, A. L. B. R. (2022). Relationship between Acylsugars and Leaf Trichomes: Mediators of Pest Resistance in Tomato. *Insects*, 13, 738.
<https://doi.org/10.3390/insects13080738>

Finzi, R. R., Maciel, G. M., Silva, E. C., Luz, J. M. Q., Borba, M. E. A. (2017). Agronomic performance of mini-tomato hybrids from dwarf lines. *Ciência e Agrotecnologia*, 41, 15-21.
<http://dx.doi.org/10.1590/1413-70542017411021416>

Finzi, R. R., Maciel, G. M., Siquieroli A. C. S., Oliveira, C. S., Peixoto, J. V. M., Ribeiro, A. L. A. (2022). Agronomic potential, pest resistance, and fruit quality in BC1F3 dwarf round tomato populations. *Comunicata Scientiae*, 13, e3759. <https://doi.org/10.14295/CS.v13.3759>

Gao, H., Zhou, Q., Yang, L., Zhang, K., Ma, Y., Xu, Z.-Q. (2020). Metabolomics analysis identifies metabolites associated with systemic acquired resistance in Arabidopsis. *PeerJ*, 8: e10047. <http://doi.org/10.7717/peerj.10047>

Gebregziabher, B. S., Gebremeskel, H., Debesa, B., Ayalneh, D., Mitiku, T., Wendwessen, T., Habtemariam, E., Nur, S., Getachew, T. (2023). Carotenoids: Dietary sources, health functions, biofortification, marketing trend and affecting factors – A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100834. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100834>

Gomes, D. A., Machado, T. G., Maciel, G. M., Siquieroli, A. C. S., Oliveira, C. S. Sousa, L. A.; Silva, H. P. (2022). Dwarf Tomato Plants Allow for Managing Agronomic Yield Gains with Fruit Quality and Pest Resistance through Backcrossing. *Agronomy*, 12, 3087.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12123087>

Há, C. M., Rao, X., Saxena, G., Dixon, R. A. (2021). Growth-defense trade-offs and yield loss in plants with engineered cell walls. *New Phytologist*, 231(1):60-74.
<https://doi.org/10.1111/nph.17383>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2022, junho). *Indicadores IBGE: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - Estatística da Produção Agrícola* [PDF].

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2024). *PAM 2023: Safra bate recorde, mas valor da produção cai* [comunicado à imprensa].
<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/41296-pam-2023-safra-bate-recorde-mas-valor-da-producao>

Jacinto, A. C. P., Ribeiro, A. L. A., Maciel, G. M., Pinto, F. G., Ikehara, B. R. M., Almeida, N. R., Tebaldi, N. D. (2025). Inactivated bacterial suspension as an attenuator for the control of bacterial spot (*Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*) in dwarf tomato plants. *Tropical Plant Pathology*, 50, 40. <https://doi.org/10.1007/s40858-025-00727-y>

Kamineni, A., Consiglio, A. L., MacEwen, K., Chen, S., Chifamba, G., Shaw, A., J., Tsakraklides, V. (2021). Increasing lipid yield in *Yarrowia lipolytica* through phosphoketolase and phosphotransacetylase expression in a phosphofructokinase deletion strain. *Biotechnology for Biofuels*, 14:113. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01962-6>

Krammes, J. G., Megguer C. A., Argenta, L. C., Amarante, C. V. T., Grossi, D. (2003). Uso do 1-metilciclopropeno para retardar a maturação de tomate. *Horticultura Brasileira*, 21: 611-614.

Li, H., Fan, Y., Zhang, H., Chen, Y. (2023). Effects of Myo-Inositol on NaCl Stress in *Tamarix ramosissima*: Insights from Transcriptomics and Metabolomics. *Forests*, 14, 1686. <https://doi.org/10.3390/f14081686>

Li, N., Wang, J., Wang, B., Huang, S., Hu, J., Yang, T., Asmutola, P., Lan, H., Qinghui, Y. (2021). Identification of the Carbohydrate and Organic Acid Metabolism Genes Responsible for Brix in Tomato Fruit by Transcriptome and Metabolome Analysis. *Frontiers in Genetics*, 12:714942. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.714942>

Litskas, V. D., Migeon, A., Navajas, M., Tixier, M.-S., Stavrinos, M. C. (2019). Impacts of climate change on tomato, a notorious pest and its natural enemy: small scale agriculture at higher risk. *Environmental Research Letters*, 14. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab3313>

López- Valverde, N., López- Valverde, A., Sousa, B. M., Rueda, J. A. B. (2024). Systematic Review and Meta- Analysis of the Antioxidant Capacity of Lycopene in the Treatment of Periodontal Disease. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11: 1309851. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1309851>

Luu, V. T., Weinhold, A., Ullah, C., Dressel, S., Schoettner, M., Gase, K., Gaquerel, E., Xu, S., Baldwin, I. T. (2017). O-Acyl Sugars Protect a Wild Tobacco from Both Native Fungal Pathogens and a Specialist Herbivore. *Plant Physiology*, 174(1): 370–386. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01904>

Lv, Y., Chu, J., Zhang, X., Li, X., Yin, A. (2025). Synbiotics effects of d-tagatose and *Lactobacillus rhamnosus* GG on the inflammation and oxidative stress reaction of *Gallus gallus* based on the genus of cecal bacteria and their metabolites. *PLoS ONE*, 20(1): e0317825. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0317825>

Lybrand, D. B., Anthony, T. M., Jones, A. D., Last, R. L. (2020). An Integrated Analytical Approach Reveals Trichome Acylsugar Metabolite Diversity in the Wild Tomato *Solanum pennellii*. *Metabolites*, 10, 401. <https://doi.org/10.3390/metabo10100401>

Maciel, G. M., Oliveira, C. S., Siquieroli, A. C. S., Pereira, L. M., Ribeiro, A. L. A., Pinto, F. G., Ikehara, B. R. M., Silva, N. C. Q., Farias, A. K. S. R. (2024). New insights into the use of dwarf tomato plants for pest resistance. *Bragantia*, 83, e20240066. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20240066>

Mascarenhas, S. N. A. P., Godoi, G. H. T. L., Pinto, B. R. C. (2025). Princípios e práticas do melhoramento genético de plantas cultivadas. *Revista FT*. 28. <https://doi.org/10.5281/zenodo.11075608>

Ma, Z., Luo, H., Zhang, F., Gao, F. (2022). A bibliometric and visual analysis of fruit quality detection research. *Food Science and Technology*, 42, e72322. <https://doi.org/10.1590/fst.72322>

Mattos, T. P., Maciel, G. M., Oliveira, C. S., Ribeiro, A. L. A., Siquieroli, A. C. S., Silva, N. C. Q., Oliveira, O. R., Pereira, V. A. (2025). Introgression of dwarfing genes into tomato fruit through backcrossing aiming at salad-type background. *Revista Caatinga*, 38: e12718. <https://doi.org/10.1590/1983-21252025v3812718rc>

Mijailovic, N., Nesler, A., Perazzolli, M., Barka, E. A., Aziz, A. (2021). Rare Sugars: Recent Advances and Their Potential Role in Sustainable Crop Protection. *Molecules*, 26, 1720. <https://doi.org/10.3390/molecules26061720>

Nagata, M., Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, Tsukuba*, 39, 10, 925-928. <https://doi.org/10.3136/nshkk1962.39.925>.

Naika, S., Jeude, J. van L., Goffau, M., Hilmi, M., & Dam, B. van. (2006). A cultura do tomate: Produção, processamento e comercialização (R. Barnhoorn, Trad.; 1ª ed.). Agromisa.

Oliveira, C. S., Maciel, G. M., Siquieroli, A. C. S., Gomes, D. A., Diniz, N. M., Luz, J. M. Q., Yada, R. Y. (2021). Artificial neural networks and genetic dissimilarity among saladette type dwarf tomato plant populations. *Food Chemistry*, 3, 100056. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100056>

Oliveira, C. S.; Maciel, G. M.; Siquieroli, A. C. S.; Pinto, F. G.; Ikehara, B. R. M.; Pereira, L. M. (2024). Saladette-type dwarf tomato introgression lines with agronomic potential, improved fruit quality, and biotic stress tolerance. *Ciência e agrotecnologia (online)*, 48. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202448002624>

Oliveira, S. F., Prado, R. B., Monteiro, J. M. G. (2022). Impactos das mudanças climáticas na produção agrícola e medidas de adaptação sob a percepção de atores e produtores rurais de Nova Friburgo, RJ. *Interações*, 23, 4, 1179-1201. <http://dx.doi.org/10.20435/inter.v23i4.3548>

Otify, A. M., Ibrahim, R. M., Abib, B., Laub, A., Wessjohann, L. A., Jiang, Y., Farag, M. A. (2023). Unveiling metabolome heterogeneity and new chemicals in 7 tomato varieties *via* multiplex approach of UHPLC-MS/MS, GC-MS, and UV-Vis in relation to antioxidant effects as analyzed using molecular networking and chemometrics. *Food Chemistry*, 417. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135866>

Panchal, P., Miller, A. J., Giri, J. (2021). Organic acids: versatile stress-response roles in plants. *Journal of Experimental Botany*, 72, 11, 4038–4052. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab019>

Panno, S.; Davino, S.; Caruso, A.G.; Bertacca, S.; Crnogorac, A.; Mandi'c, A.; Noris, E.; Mati'c, S. (2021). A Review of the Most Common and Economically Important Diseases That Undermine the Cultivation of Tomato Crop in the Mediterranean Basin. *Agronomy*, 11, 2188. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112188>

Pereira, L. M., Maciel, G. M., Siquieroli, A. C. S., Ribeiro, A. L. A., Pinto, F. G., Ikehara, B. R. M., Luz, J. M. Q., Yada, R. Y., Oliveira, C. S. (2024). Additional Advantages for Agronomic Performance and Fruit Quality in Tomato Hybrids of the *Saladette* Type Derived from a Dwarf Male Parent. *Horticulturae*, 10, 1145. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10111145>

Pilon, A. C. D., Selegato, M., Fernandes, R. P., Bueno, P. C. P., Pinho, D. R., Neto, F. C., Freire, R. T., Castro-Gambo, I., Bolzani, V. S., Lopes N. P. (2020). Metabolômica de plantas: métodos e desafios. *Química Nova*, 43, 3, 329-354. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170499>

Ribbenstedt, A., Ziarrusta, H., Benskin, J. P. (2018). Development, characterization and comparisons of targeted and non-targeted metabolomics methods. *PLoS ONE*, 13(11): e0207082, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207082>

Ribeiro, A. L. A., Maciel, G. M., Siquieroli, A. C. S., Pereira, L. M., Silva, N. C. Q., Oliveira, C. S., Pinto, F. G. (2024). Genetic variation, agronomic potential, and acylsugar content in Santa Cruz dwarf tomato after backcrossings. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 24(3): e48722438. <http://dx.doi.org/10.1590/198470332024v24n3a33>

Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoids analysis in foods*. ILSI Press.

Rodriguez-Amaya, D. B., & Kimura, M. (2004). *HarvestPlus handbook for carotenoid analysis*. International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT).

Rondon, S.I., Feldman, M., Thompson, A., Oppedisano, T., Shrestha, G. (2021). Identifying Resistance to the Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in Potato Germplasm: Review Update. *Frontiers in Agronomy*, 3: 642189. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.642189>

Sakr, S., Wang, M., Dédaldéchamp, F., Perez-Garcia, M.-D., Ogé, L., Hamama, L., Atanassova, R. (2018). The Sugar-Signaling Hub: Overview of Regulators and Interaction with the Hormonal and Metabolic Network. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 2506. <https://doi.org/10.3390/ijms19092506>

- Sharma, P., Lakra, N., Goyal, A., Ahlawat, Y. K., Zaid, A., Siddique, K. H. M. (2023). Drought and heat stress mediated activation of lipid signaling in plants: a critical review. *Frontiers in Plant Science*, 14:1216835. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1216835>
- Singh, D. P., Maurya, S., Yerasu, S. R., Bisen, M. S., Farag, M. A., Prabha, R., Shukla, R., Chaturvedi, K. K., Farooqi, Md. S., Srivastava, S., Rai, A., Sarma, B. K., Rai, N., Behera, T. K. (2023). Metabolomics of early blight (*Alternaria solani*) susceptible tomato (*Solanum lycopersicum*) unfolds key biomarker metabolites and involved metabolic pathways. *Scientific reports*, 13, 21023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48269-0>
- Snowdon, R. J., Wittkop, B., Chen, T.-W., Stahl, A. (2021). Crop adaptation to climate change as a consequence of long-term breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 134: 1613–1623. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03729-3>
- Toreti, A., Bassu, S., Asseng, S., Zampieri, M., Ceglar, A., Royo, C. (2022). Climate service driven adaptation may alleviate the impacts of climate change in agriculture. *Communications Biology*, 5, 1235. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-04189-9>
- Tufail, T., Ain, H. B. U., Noreen, S., Ikram, A., Arshad, M. T., Abdullahi, M. A. (2024). Nutritional Benefits of Lycopene and Beta- Carotene: A Comprehensive Overview. *Food Science & Nutrition*, 12:8715–8741. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4502>
- Vendemiatti, E., Nowack, L., Peres, L. E. P., Benedito, V. A., Schenck, C. A. (2025). Sticky business: the intricacies of acylsugar biosynthesis in the *Solanaceae*. *Phytochemistry Reviews*, 24:2485–2500. <https://doi.org/10.1007/s11101-024-09996-y>
- Wang, F., Wang, X., Zhang, Y., Yan, J., Ahammed, G. J., Bu, X., Sun, X., Liu, Y., Xu, T., Qi, H., Qi, M., Li, T. (2022) SIFHY3 and SIHY5 act compliantly to enhance cold tolerance through the integration of myo-inositol and light signaling in tomato. *New Phytologist*, 233: 2127–2143. <https://doi.org/10.1111/nph.17934>
- Wang, Z., Zheng, Y., Lai, Z., Hu, X., Wang, L., Wang, X., Li, Z., Gao., Yang, Y., Wang, Q., Li, N. (2024). Effect of monosaccharide composition and proportion on the bioactivity of polysaccharides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127955. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127955>
- Warang, O. S., Gawas, I. (2025). Dwarfism in Fruit Plants: A Review. *Agricultural Reviews*, 46(2): 229-237. <https://doi.org/10.18805/ag.R-2585>.
- Weiss, J., Gruda, N. S. (2025). Novel Breeding Techniques and Strategies for Enhancing Greenhouse Vegetable Product Quality. *Agronomy*, 15(1), 207. <https://doi.org/10.3390/agronomy15010207>
- Wingler, A., Henriques, R. (2022). Sugars and the speed of life—Metabolic signals that determine plant growth, development and death. *Physiologia Plantarum*, 174: e13656. <https://doi.org/10.1111/ppl.13656>

Yokoyama, R., Oliveira, M. V. V., Kleven, B., Maeda, H. A. (2021). The entry reaction of the plant shikimate pathway is subjected to highly complex metabolite-mediated regulation. *The plant cell*, 33: 671–696. <https://doi.org/10.1093/plcell/koaa042>

Zhang, G., Na, Y., Zayed, H. M., Yun, J., Parvez, A., Zhao, M., Zhang, C., Ravikumar, Y., Qi, X. (2023). Rewiring *Bacillus subtilis* and bioprocess optimization for oxidoreductive reaction-mediated biosynthesis of D-tagatose. *Bioresource Technology*, 389, 129843.

Zhang, H., Mao, X., Lu, Z., Gao, C., Chen, Z., Liu, J. (2025). Advances in Biological Production of D-Tagatose: A Comprehensive Overview. *Fermentation*, 11, 46. <https://doi.org/10.3390/fermentation11020046>

Zhao, Z., Liu, Z., Mao, X. (2020). Biotechnological Advances in Lycopene β -Cyclases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68, 43. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04814>