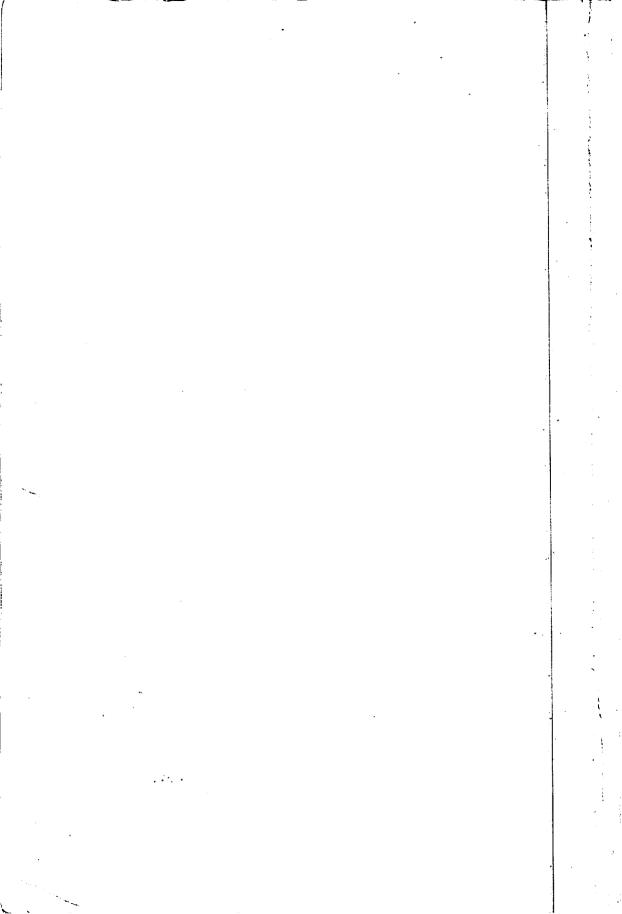


RESISTÊNCIA GENÉTICA DE TOMATEIRO Lycopersicon sp. À MOSCA BRANCA Bemisia spp. MEDIADA POR ZINGIBERENO CONTIDO EM TRICOMAS GLANDULARES

JOELSON ANDRÉ DE FREITAS



JOELSON ANDRÉ DE FREITAS

RESISTÊNCIA GENÉTICA DE TOMATEIRO Lycopersicon sp. À MOSCA BRANCA Bemisia spp. MEDIADA POR ZINGIBERENO CONTIDO EM TRICOMAS GLANDULARES

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Prof. Wilson Roberto Maluf, PhD.

LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL 1999

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFLA

Freitas, Joelson André de

Resistência genética do Tomateiro Lycopersicon sp. à mosca branca Bemisia sp. mediada por zingibereno contido em tricomas glandulares / Joelson André de Freitas. -- Lavras: UFLA, 1999.

93 p.: il.

Orientador: Wilson Roberto Maluf.

Tese (Doutorado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Lycopersicon esculentum. 2. Lycopersicon hirsutum var. hirsutum. 3. Mosca branca. 4. Resistência a inseto. 5. Aleloquímico. 6. Sesquiterpeno. 7. Controle genético. 8. Herança. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

> CDD-635.6523 -635.6529781

JOELSON ANDRÉ DE FREITAS

RESISTÊNCIA GENÉTICA DE TOMATEIRO Lycopersicon sp. À MOSCA BRANCA Bemisia spp. MEDIADA POR ZINGIBERENO CONTIDO EM TRICOMAS GLANDULARES

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 17 de novembro de 1999

Jair Campos de Moraes, Dr.

UFLA

Luciana Veiga Barbosa, Dra.

ESALQ/USP

Samuel Pereira de Carvalho, Dr.

UFLA

Maria das Gracas Cardoso, Dra.

UFLA

Prof. Wilson Roberto Maluf, PhD.

UFLA (Orientador)

LAVRAS MINAS-GERAIS - BRASIL

À minha esposa [e nosso (a) filho (a)]

Josilaine Carla Gonçalves e Freitas, pela amizade, confiança e amor

DEDICO

Meus pais

João Joaquim de Freitas, Maria do Socorro Monteiro de Freitas, pelos exemplos e primeiras instruções de vida

e irmãos

Edna Adriana de Freitas, Weder Anderson de Freitas, pela compreensão

OFEREÇO

Ao Deus Trino

Príncipe da Paz, Pai da Eternidade e Todo Poderoso, em quem tenho crido e quem tem me dado a alegria da vida

MEU LOUVOR.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela presenca em minha vida e por mais essa graça concedida.

Ao professor Wilson Roberto Maluf pela confiança, amizade e ensinamentos transmitidos nestes nove anos de convívio. Pelo apoio e enorme contribuição à minha formação profissional, minha gratidão.

À professora Maria das Graças Cardoso pela atenção, amizade, ensinamentos e disponibilização das dependências do laboratório de química.

Aos Prof^s. Jair C. Moraes, Samuel P. Carvalho, Custódio D. Santos e à pesquisadora Luciana V. Barbosa, pelas contribuições prestadas a este estudo.

Aos amigos da graduação e pós-graduação dos departamentos de Agricultura, Biologia, Entomologia, Estatística, Fitossanidade e Química, pelo convívio harmonioso e agradável que pude ter.

À família "Maluf" pelos ótimos momentos de trabalho, aprendizado e descontração: Ana C. B. Oliveira, Arie F. Blank, Carlos A. Aragão, Edivaldo P. Santos, Éllen C. Souza, Flávio R. G. Benites, Fabrício M. F. Mota, Gustavo A. Campos, José A. R. Silva, Juliano V. Resende, Márcia L. G. Z. Bonetti, Maria L. Araújo, Luciane V. Resende, Luciano R. Braga, Luiz A. A. Gomes, Paulo Moretto, Renato S. Braga, Rita C. R. Gonçalves-Gervásio, Valter A. Júnior, Vicente Licursi, Valdeir M. Silva e Sebastião M. Azevedo. Aos funcionários da Horta da UFLA e da HortiAgro Sementes Ltda, pelos auxílios prestados.

À UFLA, FAEPE, FAPEMIG, CNPq e HortiAgro, pelo suporte físico e financeiro às pesquisas realizadas; à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG, pela liberação para conclusão deste estudo.

Aos irmãos da II Igreja Presbiteriana de Lavras pelas orações e bençãos profetizadas; e a todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para esta conquista.

Meu muito obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Joelson André de Freitas, filho de João Joaquim de Freitas e Maria do Socorro Monteiro de Freitas, nasceu na cidade de Ituiutaba, Estado de Minas Gerais, em 23 de janeiro de 1970.

Concluiu o curso de Graduação em Agronomia, na Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL) no ano de 1994.

Concluiu os cursos de Mestrado e Doutorado, ambos em Agronomia, área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), respectivamente, nos anos de 1996 e 1999.

Pesquisador na área de Melhoramento de Plantas na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais / Centro Tecnológico do Norte de Minas (EPAMIG/CTNM), desde 1998.

SUMÁRIO

	Pagma
RESUMO	i
ABSTRACT	ü
CAPÍTULO 1	01
1 Introdução Geral	01
2 Referencial Teórico	06
2.1 Principais insetos-praga do tomateiro e seus prejuízos à cultura	06
2.2 Fontes de resistência a insetos-praga em tomateiro	11
2.3 Características do sesquiterpeno zingibereno e dos tricomas glandulares	13
3 Referências Bibliográficas.	19
J Referencies Dioliograness	19
CAPÍTULO 2: Metodologias para quantificação do zingibereno e	
tricomas glandulares em folíolos de tomateiro	25
1 Resumo	25
2 Abstract	26
3 Introdução	27
4 Material e Métodos	31
4.1 Metodologias para quantificação do zingibereno em plantas do	
tomateiro obtidas do cruzamento L. esculentum X L. hirsutum var.	
hirsutum PI-127826	31
4.2 Validação de metodologia para quantificação de tricomas foliares	26
em tomateiro	36 20
	38
5.1 Metodologias para quantificação do zingibereno em plantas do tomateiro obtidas do cruzamento L. esculentum X L. hirsutum var.	
hirsutum PI-127826	20
5.1.1 Avaliação de solventes para extração de zingibereno em folíolos	38
do acesso PI-127826 de L. hirsutum var. hirsutum	38
5.1.2 Desenvolvimento de metodologias para quantificação do	20
zingibereno em espectofotômetro e HPLC	40
5.1.3 Associação entre metodologias de quantificação do zingibereno	
em espectofotômetro e em HPLC	44
5.2 Validação de metodologia para quantificação de tricomas foliares	•
em tomateiro.	45
6 Conclusões.	51
7 Referências Bibliográficas	52

CAPÍTULO 3: Controle genético do teor de zingibereno e tricomas glandulares em tomateiro, e suas inter-relações com a resistência à	
mosca branca Bemisia spp.	56
1 Resumo.	56
2 Abstract.	57
3 Introdução.	58
4 Material e Métodos.	61
4.1 Herança do teor de zingibereno e da densidade de tricomas foliares em tomateiro.	61
4.2 Estimação de correlações fenotípicas, ambientais e genéticas entre	
teor de zingibereno e densidade de tricomas foliares em tomateiro	65
4.3 Resistência de plantas de tomateiro à mosca branca Bemisia spp.	-
e sua relação com o teor de zingibereno nos folíolos	68
5 Resultados e Discussão	69
5.1 Herança do teor de zingibereno e da densidade de tricomas foliares em tomateiro	69
5.1.1 Estimativas de herdabilidades para teor de zingibereno e	U)
densidade de tricomas foliares.	69
5.1.2 Teste do modelo genético aditivo-dominante e da hipótese de herança monogênica para teor de zingibereno e densidade de	0,
tricomas I, IV, VI e VII	70
5.2 Correlações fenotípicas, ambientais e genéticas, entre teor de	
zingibereno e densidade de tricomas foliares em tomateiro	82
5.3 Resistência de plantas de tomateiro à mosca branca Bemisia spp.	
e sua relação com o teor de zingibereno nos folíolos	83
5.4 Discussão geral	86
6 Conclusões	89
7 Referências Bibliográficas	٩n

.

RESUMO

FREITAS, J.A. Resistência genética de tomateiro Lycopersicon sp. à mosca branca Bemisia spp. mediada por zingibereno contido em tricomas glandulares: UFLA, 1999. 93p. (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)*

Dentre as pragas do tomateiro cultivado Lycopersicon esculentum, destacam-se a mosca branca Bemisia spp. e a traca Tuta absoluta, que contribuem para as perdas em cultivos com plantas susceptíveis. Várias medidas de controle no manejo integrado de pragas nesta cultura, incluindo-se o uso de cultivares resistentes, podem contribuir para reduzir tais perdas. A dificuldade de obtenção de cultivares resistentes a insetos-praga, no entanto, pode ser maior quando se tem que realizar a seleção de plantas baseada diretamente na injúria provocada pelo inseto. A seleção indireta de plantas resistentes e o conhecimento da efetividade da fonte de resistência, bem como de seu controle genético, contribuem para maior rapidez e eficiência na obtenção de cultivares resistentes. Técnicas rápidas, de baixo custo e não destrutivas das plantas, para seleção indireta de plantas resistentes, baseadas no teor de zingibereno e na densidade de tricomas glandulares tipos I, IV, VI e VII, foram estabelecidas e a efetividade do aleloquímico zingibereno na resistência à mosca branca Bemisia spp. foi comprovada. A espécie L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 foi utilizada como fonte de zingibereno e tricomas glandulares; teor de zingibereno possui herança monogênica, não se excluindo a existência de genes modificadores; a ação gênica é de dominância incompleta no sentido de menor teor. Os tricomas de tipos I, IV, VI e VII possuem herança simples, também com dominância incompleta no sentido de menor densidade. Os altos valores de herdabilidade para teor de zingibereno e densidade de tricomas glandulares possibilitaram boa eficiência na seleção de plantas baseada nestas características. Assim, ganhos genéticos mediante seleção para alto teor de zingibereno foram obtidos. A seleção para alta densidade de tricomas glandulares pode ser adotada como critério de seleção indireta devido à correlação positiva existente entre teor de zingibereno e os tricomas de tipos I, IV, VI e VII, especialmente os de tipos IV e VI.

Comitê Orientador: Wilson Roberto Maluf – UFLA (Orientador), Maria das Graças Cardoso – UFLA

ABSTRACT

FREITAS, Joelson André. Genetic resistance of tomato plants Lycopersicon sp. to the silverleaf whitefly Bemisia spp. mediated by zingiberene contained in glandular trichomes. UFLA, 1999. 93p. (Thesis - Doctoral Program in Agricultural Sciences / Genetics and Plant Breeding)

Among the pests of the cultivated tomato Lycopersicon esculetum stand out whiteflies Bemisia spp. and the South American tomato pinworm. Tuta absoluta responsable for major damage to the tomato crop. A number integrated pest management measures in this crop, including the use of resistant cultivars. can contribute to reduce such losses. Difficulty in obtaining pest insect-resistant cultivars, however, may be greater when one has screen plants based directly on insect damage. Indirect selection criterion knowledge of the chemical basis of resistance as well its genetic control may contribute to greater efficiency in obtaining resistant cultivars. Fast, low cost non-destructive techniques for indirect selection of resistant plants, based upon zingiberene content and density of type I, IV, VI and VII glandular trichome density were established, and the role of the allelochemical zingiberene in the resistance to the silverleaf whitefly was demonstrated. The accession L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 was utilized as the source of zingiberene and glandular trichomes: zingiberene content in this accession showed monogenic inheritance, with possible modifier gene effects, with partial dominance in the direction of lower zingiberene content. Type I, IV, VI and VII trichomes showed simple inheritance, also with incomplete dominance in the direction of lowest density. High heritability values for both zingiberene contents and densities of glandular trichomes enabled good efficiency in plant selection based on those traits. Genetic gains by selection for high zingiberene content were obtained. Indirect selection for high density of glandular trichomes may also be used as a suitable selection criterion, due to the positive correlations existing between zingiberene contents and types I, IV, VI and VII trichome, especially types IV and VI.

Graduate Committee: Wilson Roberto Maluf - UFLA (Major Professor), Maria das Graças Cardoso - UFLA.

CAPÍTULO 1

1 Introdução Geral

O cultivo de tomateiro Lycopersicon esculentum é uma atividade de grande importância econômica e social na geração de receitas e empregos nos setores rural e urbano. A fácil adaptação geográfica dessa cultura e a grande estratificação, tanto de cultivares quanto de mercado, possibilitam-lhe uma posição de destaque no Brasil, situando-se entre as hortalicas de major cultivo e consumo. Embora bastante difundido, o plantio do tomateiro é susceptível a um grande número de enfermidades causadas por nematóides, fungos, bactérias, insetos-praga e vírus. Com relação aos insetos-praga, a mosca-branca Bemisia (Homoptera, Aleyrodidae), ao lado da traça-do-tomateiro Tuta (=Scrobipalpuloides) absoluta (Meyrick, 1917) (Lepidoptera, Gelechiidae), vem causando acentuadas perdas nos cultivos de tomateiro. Além das injúrias diretas causadas pela mosca-branca, devido à sucção da seiva do floema, ocorre também a transmissão de vírus do grupo geminivírus. Somada às perdas devido aos vírus do vira-cabeça (tospovírus), a produtividade é reduzida substancialmente e o custo de produção da cultura tende a elevar-se em função dos gastos demasiados com inseticidas. Estima-se que o controle químico representa cerca de 30% do custo total de produção de tomates em cultivos convencionais onde são feitas um grande número de pulverizações (Leite et al., 1995); além disto, o uso indiscriminado de produtos fitossanitários favorece o surgimento, nas espécies de insetos-praga, de biótipos resistentes, podendo provocar, ainda, males ao meio ambiente e à saúde do homem.

Atualmente, no Brasil, não existem relatos de cultivares de tomateiro resistentes às duas principais pragas da cultura (Bemisia spp. e Tuta absoluta), o que tem contribuído para elevação dos custos de produção desta cultura. Os programas de melhoramento genético do tomateiro, com objetivo de obter cultivares resistentes aos insetos e ácaros, enfrentam dificuldades metodológicas para conseguirem condições ideais de infestação desses artrópodes-praga que permitam seleção eficiente de plantas individualmente (França et al., 1984). Aliado a essa dificuldade, o desconhecimento dos fatores genéticos responsáveis pelo controle dos caracteres envolvidos na resistência dificulta sobremaneira a condução dos trabalhos, contribuindo para aumentar o tempo de obtenção de novas cultivares.

Diversas pesquisas para verificar a ação de substâncias químicas naturais presentes no gênero Lycopersicon têm sido conduzidas, contribuindo para o entendimento da atuação de alguns compostos na resistência a insetos-praga. No Brasil, recentes pesquisas com o propósito de incorporar alelos que condicionam a presença da 2-tridecanona (Barbosa, 1994) e de acilaçúcares (Resende, 1999) foram iniciados dentro de um programa de melhoramento do tomateiro visando resistência a insetos-praga. Como resultados dessas pesquisas, sabe-se que a 2tridecanona atua na reação de resistência do tomateiro à Tuta absoluta (Barbosa, 1994; Labory, 1996 e Gonçalves-Gervásio, 1998) e aos ácaros Tetranychus urticae (Goncalves, 1996 e Aragão, 1998) e Tetranychus ludent (Goncalves, 1996). Quanto aos acilacúcares, por enquanto, as pesquisas no Brasil ainda não elucidaram sua efetiva ação na resistência do tomateiro a insetos e ácaros. embora relatos nos EUA tenham sido feitos revelando o envolvimento desses acilaçúcares na resistência a múltiplos insetos-praga (Goffreda et al., 1989), bem como confirmado a eficácia deste grupo de químicos na resistência à mosca branca Bemisia sp. (Barbara et al., 1995).

Atualmente, a maioria dos estudos de resistência do tomateiro a insetospraga està voltada para os compostos químicos naturais encontrados em alguns
representantes do gênero *Lycopersicon* spp., que estão presentes em estruturas da
planta denominadas de tricomas. Estudos de algumas espécies deste gênero foram
feitos por Luckwill (1943), que descreveu três tipos de tricomas não glandulares
(II, III e V) e quatro glandulares (I, IV, VI e VII). Estes últimos são dotados de
uma glândula, no ápice, provida de células contendo substâncias químicas
naturais possíveis de mediar a resistência a artrópodes-praga. Estas substâncias,
dependendo da espécie vegetal e do acesso em que se encontram, fazem parte, por
exemplo, dos grupos metil cetonas (a exemplo da 2-undecanona e 2-tridecanona),
acil-açúcares (a exemplo do acil-sacarose e acil-glicose) e terpenos (a exemplo do
elemeno, curcumeno e zingibereno).

O aleloquímico zingibereno, até então, não havia sido estudado no Brasil quanto à sua ação na resistência a artrópodes-praga. Em outras regiões (Kentucky - EUA), Weston et al. (1989) estudaram este composto, presente em Lycopersicon hirsutum var. hirsutum, e seu efeito na resistência da planta ao ácaro Tetranychus urticae. Estes autores relataram que os acessos de L. hirsutum var. hirsutum (PI-126445, PI-127826 e PI-127827), ricos em zingibereno, foram mais resistentes ao ácaro T. urticae do que outros sete acessos de Lycopersicon hirsutum var. glabratum, que contém apenas 2-tridecanona; constataram, ainda, que a resistência do tomateiro ao ácaro foi correlacionada com a densidade de tricomas tipo IV dos acessos de L. hirsutum var. hirsutum, mas não aos de L. hirsutum var. glabratum. Carter, Sacalis e Gianfagna (1989) e Carter, Gianfagna e Sacalis (1989) relataram que o zingibereno em L. hirsutum var. hirsutum confere resistência à Leptinotarsa decemlineata (Coleoptera, Chrysomelidae), e Eigenbrode e Trumble (1993) constataram sua atuação também na resistência do tomateiro à Spodoptera exigua (Lepidoptera, Noctuidae). O fato de o zingibereno

mediar a resistência a insetos e ácaros, e estar contido nas glândulas dos tricomas foliares (Carter, Gianfagna e Sacalis, 1989; Weston et al., 1989 e Eigenbrode, Trumble e White, 1996) torna importante o estudo dos diferentes tipos de tricomas glandulares quanto às suas densidades na matriz foliar e relações com o composto químico em questão.

O estudo dessas caracteristicas dentro de um programa de melhoramento genético do tomateiro, visando resistência a insetos-praga, poderá contribuir para que, no futuro, a incorporação dos alelos que condicionam a resistência nas plantas seja feita com maior facilidade. De acordo com Smith (1989), a incorporação, em plantas cultivadas comercialmente, de alelos que conferem resistência a insetos-praga, é uma vantagem adicional ao produtor, uma vez que o mesmo não teria custos adicionais no preço das sementes dessas cultivares. Também haveria, desta forma, uma contribuição para redução dos possíveis problemas causados pelo uso de produtos fitossanitários quando o controle dos insetos-praga envolver essa medida. Poucos são os programas de melhoramento genético do tomateiro objetivando a resistência varietal a insetos-praga (Barona, Parra e Vallejo, 1989), e os resultados são ainda modestos (Silva, 1995), ou pelo menos, os atuais níveis de resistência nas cultivares comerciais não são suficientemente altos a ponto de ocasionar uma redução significativa na quantidade de produtos fitossanitários utilizados.

O presente estudo tem os objetivos de identificar e quantificar o aleloquímico natural zingibereno e quantificar os tricomas foliares em tomateiros das espécies L. esculentum, L. hirsutum var. hirsutum e de genótipos delas derivados; determinar uma metodologia analítica rápida e de baixo custo e não destrutiva das plantas, para quantificação do zingibereno; estabelecer um critério de amostragem para quantificação de tricomas em folíolos de tomateiro; estudar a herança do nível de zingibereno nos folíolos, bem como da densidade de tricomas

foliares em tomateiro proveniente do cruzamento L. esculentum X L. hirsutum var. hirsutum PI-127826; estudar a correlação existente entre zingibereno e tricomas foliares do tomateiro; e avaliar o grau de resistência conferida pelo zingibereno à mosca branca.

2 Referencial Teórico

2.1 Principais insetos-praga do tomateiro e seus prejuízos à cultura

2.1.1 Mosca branca

Insetos conhecidos como mosca branca pertencem à ordem Hemiptera e família Aleyrodidae, com cerca de 126 gêneros e 1156 espécies. O gênero Bemisia possui 37 espécies conhecidas, sendo a B. tabaci, cosmopolita, originária do Sul da Asia, provavelmente Índia ou Paquistão. Descrito primeiramente como Aleurodes tabaci, em 1889, na Grécia, em plantas de fiumo, este inseto foi redescrito várias vezes devido às variações morfológicas apresentadas pelo pupário. De 1926 a 1981 B. tabaci foi constatada, em diversos locais no mundo, como praga esporádica e secundária, porém como importante inseto vetor de doenças em zonas tropicais e subtropicais (Vilas Bôas et al., 1997).

A partir da década de 80, a mosca branca adquiriu enorme importância nos EUA por ter sido constatada em um amplo número de plantas hospedeiras, principalmente na planta ornamental bico-de-papagaio (Euphorbia pulcherrima). Acredita-se que uma população exótica de B. tabaci tenha sido introduzida nos EUA a partir de focos do Caribe e, mais recentemente, da América Central. Inicialmente, pensou-se tratar de uma raça da espécie B. tabaci, contudo, após detalhados estudos biológicos e caracterização eletroforética, concluiu-se pela existência de uma nova espécie, então denominada Bemisia argentifolii (Bellows et al., 1994) (Vilas Bôas et al., 1997).

No Brasil o surgimento desta espécie de *Bemisia*, em densidade populacional bastante elevada, foi registrado no ano de 1991 em Holambra, Estado de São Paulo, causando expressivas injúrias às culturas de brócolos,

berinjela, abóbora, bico-de-papagaio, crisântemo e tomate. No vale do São Francisco, a partir de 1995, observou-se a ocorrência desse inseto-praga em níveis bastantes elevados nas culturas de melão, abóbora, feijão, pimentão, videira e tomate. A infestação abrange as áreas dos perímetros irrigados de Petrolina, em Pernambuco; de Sobradinho, Casa Nova, Juazeiro e Guanambí, na Bahia; assim como os perímetros irrigados de Pirapora, Jaíba e do Gorutuba, em Minas Gerais (EMBRAPA, 1998).

Segundo Ferreira e Ávidos (1998), a mosca-branca B. argentifolii também vem causando injúrias às culturas agrícolas do Centro-Oeste, Sudeste e Sul. No Estado do Mato Grosso do Sul, vêm ocorrendo perdas de até 100% nos cultivos de pimentão, repolho, pepino e tomate. Em Goiás, os plantios de soja, algodão, melancia, feijão, abóboras e jiló, bem como os cultivos de tomateiro no Distrito Federal, têm sido expressivamente atacados pela mosca. Também no Triângulo Mineiro os produtores estão tendo perdas de até 100% na cultura do jiló, e atualmente o tomateiro vem sendo atacado. No Estado do Paraná, a cultura da soja também vem sofrendo com os ataques da mosca branca. Por fim, tem-se notado que a diversidade de hospedeiros da mosca branca vem aumentando de forma expressiva, o que torna imprescindível a apresentação de medidas de controle desse inseto-praga. Face a esta situação, o Ministério da Agricultura e do Abastecimento, através da portaria nº 98 de 01/07/1998 (Diário Oficial de 6 de Julho de 1998), aprovou alguns inseticidas do grupo dos creonicotinóides, recentemente lançados no mercado e ainda sem registro, para uso em caráter emergencial, em diversas culturas, visando o controle de B. tabaci e B. argentifolii.

A espécie B. argentifolii é morfologicamente semelhante à B. tabaci, sendo as características do pupário insuficientes para diferenciá-las em relação à espécie. O emprego de técnicas moleculares vem sendo estudado pela

EMBRAPA/CENARGEN a fim de caracterizar o complexo de mosca branca presentes no tomateiro; sabe-se, também, que esta nova espécie de mosca é possível de ser identificada por observação da sintomatologia dos danos de seu ataque em Cucurbita spp., caracterizados pelo prateamento da folha (Vilas Bôas et al. 1997). De acordo em estes autores, B. argentifolii apresenta metamorfose incompleta, passando pelas fases de ovo, ninfa e adulto. O ovo é de coloração amarela, formato de pera e com cerca de 0,2 a 0,3 mm de comprimento: são depositados de maneira irregular na parte inferior da planta e duram de 6 a 15 dias, dependendo da temperatura. As ninfas são translúcidas, de coloração amarela a amarelo-pálido, e no 1º de seus quatro estádios já apresenta estilete que introduz no tecido vegetal para alimentar-se; a duração de cada estádio ou instar varia principalmente em função da temperatura e tipo de hospedeiro (4 dias em média, no tomateiro cultivado a 25 ± 2 °C); já no último ínstar, a ninfa reduz seu metabolismo e assim pode ser denominada também de "pupa" ou pseudo-pupa. O adulto possui o dorso amarelo-pálido e asas brancas, mede de 1 a 2 mm de comprimento, sendo a fêmea maior que o macho, com ciclo biológico de ovo a adulto variável de 19 a 32 dias (em média), respectivamente, nas temperaturas de 32 °C e 25 °C.

Os prejuízos decorrentes das injúrias diretas e indiretas causados por esse inseto também podem atingir 100%. Injúrias nos frutos decorrem da sucção da seiva das plantas, ocasionando má formação, desenvolvimento e maturação irregular. Além das viroses transmitidas por este inseto vetor, outras perdas indiretas poderão ocorrer em docorrência do surgimento de fungos em tomatais com alta densidade populacional da mosca branca, devido à excreção de substância adocicada pelas moscas.

2.1.2 Traça-do-tomateiro

A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae), foi detectada no Chile e em outros países da América do Sul, e segundo Vargas (1970), nesses países a população desse inseto tem aumentado ano após ano, obrigando os tomaticultores a aplicar inseticidas em doses cada vez maiores e mais frequentes. No Peru, o inseto foi encontrado em cultivos de batata e tomate, e nesta última cultura foram constatados os primeiros danos à produção no ano de 1917 (Vargas, 1970). Já na década de 70 esta praga tornou-se um fator limitante para o cultivo do tomate no Peru, Chile, Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia, Colômbia e Venezuela (Campos, 1976; Quiroz, 1976 e Ripa, 1981).

No Brasil, a traça-do-tomateiro foi encontrada pela primeira vez em Morretes - Paraná, em 1979, disseminando-se em poucos anos para as principais áreas produtoras do país e ocasionando perdas de até 100% na produção de tomates (Prando e Muller, 1987 e Souza e Reis, 1992). Conforme relatos de seu surgimento na região Sudeste brasileira, em tomatais de Jaboticabal-SP, em Outubro de 1980, sua introdução se deu a partir de países vizinhos como a Argentina, onde havia sido constatada em Mendonza no ano de 1967, em decorrência da importação de tomates chilenos em 1964. A rota de seu surgimento, bem como de sua ampla disseminação, ocorreu de forma bastante rápida devido ao clima ideal que o inseto encontrou no país. Hoje se encontra, dentre outros estados, no Ceará, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco, Minas Gerais, Goiás e Brasília (DF). Nesses estados, desde sua primeira ocorrência e disseminação, esse inseto passou a ser uma praga de grande importância econômica para a cultura, superando inclusive a broca-pequena-dofruto, Neoleucinodes elegantalis (Lepidoptera, Pyralidae), que era até então considerada a mais importante.

Gravena (1984) relata que as principais pragas do tomateiro são divididas em dois grupos: os vetores de viroses, que ocorrem até 40-50 dias após a germinação, ocasionando perdas de plantas no estande; e os insetos brocadores de frutos, que se manifestam na fase de frutificação (Neoleucinodes elegantalis e Heliothis zea - Lepidoptera, Noctuidae), podendo ocorrer também da germinação à colheita (Tuta absoluta), todas reduzindo diretamente a produção de frutos. Até por volta dos anos 80 as brocas e a mosca minadora Liriomyza spp. (Diptera, Agromyzidae) ocupavam lugar de destaque dentre as pragas do tomateiro no Brasil. De lá para cá, com o surgimento da traça-do-tomateiro nas regiões Sudeste e Nordeste do País, convive-se com enormes perdas nos tomatais. Uma redução drástica na área cultivada também foi verificada nestas regiões nos anos de 89 a 91, decorrente dos ataques e prejuízos provocados por esse inseto (Haji, 1992).

Na cultura com finalidade industrial, o tomateiro também é frequentemente atacado por insetos-praga, que além de causarem injúrias irreversíveis à planta e aos frutos, ainda podem transmitir viroses. Haji (1992) relata que a traça-dotomateiro tornou-se uma importante praga dos tomatais brasileiros, principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste, onde se encontram os Estados com maior produção. Moraes e Normanha Filho (1982), Castelo Branco (1992), Uchoa Fernandes (1992) e Souza e Reis (1994) também a destacam como um dos principais problemas na tomaticultura brasileira. Tal importância é firmada no fato de que frequentes perdas de produção podem ocorrer devido às elevadas populações desse inseto e injúrias provocados nas plantas e nos frutos (Lourenção, Nagai e Zullo, 1984).

Os prejuízos decorrentes do ataque da traça-do-tomateiro podem chegar a até 100%. Nesses casos, verificam-se injúrias como queda de botões florais, queda e/ou deformação dos frutos novos, maturação forçada dos frutos recém-

formados e tardios, apodrecimento dos frutos, e segundo Lourenção, Nagai e Zullo (1984), uma drástica redução na área foliar. Os prejuízos de ordem econômico-social (lavouras de elevado custo de produção sem retorno, perda de investimentos aplicados, elevação do preço do tomate e dispensa de mão-de-obra) também podem ocorrer.

2.2 Fontes de resistência a insetos-praga em tomateiro

O gênero Lycopersicon possui um reservatório de genes capazes de conferir resistência a insetos-praga. As espécies L. hirsutum var. glabratum, L. hirsutum var. hirsutum, L. pimpinellifolium e L. peruvianum são citadas como boas fontes de resistência a insetos-praga por Williams et al. (1980); Lourenção e Nagai (1983); França et al. (1984); Snyder et al. (1987); Barona, Parra e Vallejo (1989); Eigenbrode e Trumble (1993) e Silva (1995), dentre outros. Maluf (1995) relata que a espécie L. hirsutum apresenta resistência a uma série de artrópodes-praga de importância econômica, como coleópteros (Leptinotarsa decemlineata), dipteros (Lyriomyza spp.), homópteros (Aphis gossipi e Myzus persicae), lepidópteros (Heliothis zea, Tuta absoluta e Spodoptera exigua) e ácaros (Tetranychus urticae e Tetranychus cinnabarinum).

Envolvidos na resistência do tomateiro aos diverssos insetos-praga, temos as causas morfológica e química; esta primeira envolvendo os tricomas presentes na matriz foliar da planta, e a segunda envolvendo as substâncias químicas presentes ao natural nos tricomas glandulares de alguns taxons do gênero Lycopresicon.

Kennedy e Yamamoto (1979) relataram a presença de tricomas do tipo VI no acesso PI-134417 de *L. hirsutum* var. *glabratum* envolvendo a resistência a vários lepidópteros insetos-praga de tomateiro. Williams et al. (1980)

identificaram a presença da metil cetona 2-tridecanona nesse tipo de tricoma glandular. Os autores verificaram que este composto era tóxico à Manduca sexta, Heliothis zea e Aphis gossypii. Lin, Trumble e Kumamoto (1987) verificaram que a 2-undecanona (outra metil cetona) e a 2-tridecanona presentes em PI-134417 também são tóxicas à Keiferia lycopersicella e à Spodoptera exigua. O efeito da 2-tridecanona também foi constatado na resistência do tomateiro à Tuta absoluta (Barbosa, 1994; Labory, 1996 e Gonçalves-Gervásio, 1998) e aos ácaros Tetranychus urticae (Gonçalves, 1996 e Aragão, 1998) e Tetranychus ludeni (Gonçalves, 1996).

Barbara et al. (1995) relataram que os tricomas do tipo IV de L. pennellii possuem exudatos de acilaçúcares, que suprimem a alimentação e reduzem a oviposição da mosca branca Bemisia sp. na planta.

Carter e Snyder (1985) encontraram tricomas glandulares dos tipos IV e VI no acesso PI-251303 de *L. hirsutum* var. *hirsutum*, favorecendo a resistência ao ácaro *T. urticae*. Embora não se conhecessem ao certo os tipos de compostos químicos contidos nestes tricomas, Snyder e Hyatt (1984) haviam caracterizado-os, em sua maioria, como sendo sesquiterpenos (metabólitos secundários do grupo dos terpenos). Mais tarde, Snyder et al. (1987) detectaram, na espécie *L. hirsutum* var. *hirsutum*, o zingibereno [1,3-ciclohexadieno-5-(1,5 dimetil-4=hexenil)-2 metil] (C₁₅H₂₄), um sesquiterpeno que é biologicamente ativo no sentido de conferir resistência das plantas a artrópodes-praga. Weston et al. (1989) e Guo, Weston e Snyder (1993) verificaram que os acessos de *L. hirsutum* var. *hirsutum* foram mais resistentes ao ácaro *T. urticae* do que os de *L. hirsutum* var. *glabratum* e *L. esculentum*. Weston et al. (1989), estudando alguns acessos de *L. hirsutum* var. *glabratum* var. *glabratum* (PI-199382, PI-251305, PI-126449, PI-129157, PI-134417, PI-134418 e PI-251304) e *L. hirsutum* var. *hirsutum* (PI-126445, PI-

127826 e PI-127827) verificaram que PI-127826 foi um dos mais resistentes ao ácaro T. urticae

Todos estes estudos têm contribuído sobremaneira para o melhoramento genético do tomateiro visando a obtenção de cultivares resistentes a insetos-praga, especialmente quando a resistência é conferida por causas morfológica e química presentes naturalmente em espécies de *Lycopersicon*, como é o caso dos tricomas foliares e dos químicos pertencentes aos grupos 2-tridecanona, acilaçúcares e zingibereno.

2.3 Características do sesquiterpeno zingibereno e dos tricomas glandulares

Sesquiterpenos são substâncias aleloquímicas pertencentes a um grupo de compostos orgânicos (os terpenos), biossinteticamente derivadas de três unidades de isopreno (2-metil - 1,3 - butadieno; C₅H₈) e uma parte de um radical pirofosfato como um intermediário biossintético comum. A biossíntese do terpeno sesquiterpeno provém do acetil coenzima A (acetil - Co A) via a rota metabólica do ácido mevalônico (Figura 1) (Bonilla e Oliveira, 1996). Na sequência de reações, o ácido mevalônico (AMV) é pirofosforilado e então descarboxilado e desidratado para produzir o isopentenil pirofosfato (IPP), redução esta catalizada pela anidrodescarboxilase. O isopentenil IPP é isomerizado a dimetilalil PP (DMAPP) pela enzima IPP-isomerase (localizada provavelmente nos cloroplastos), sendo então produzidos os isoprenos (C₅). Estas estruturas de isopreno sofrem ação de várias enzimas preniltransferases, podendo gerar, então, a partir da condensação destes blocos de 5 carbonos, o farnesil pirofosfato (FPP, C₁₅), que originará, através da desfosforilação, os sesquiterpenos (C₁₅) e os triterpenos (C₃₀).

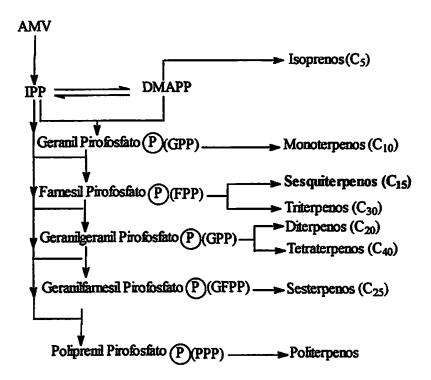


FIGURA 1. Esquema geral da biossíntese dos terpenos. (AMV: Ácido Mevalônico, IPP: Isopentenil Pirofosfato, e-DMAPP: Dimetilalil Pirofosfato). (Adaptado de Bonilla e Oliveira, 1996).

Podem ser formados também, nesta mesma rota biossintética, a partir de enzimas preniltransferases e da condensação de moléculas de isopreno, os compostos monoterpenos (C₁₀), diterpenos (C₂₀), tetraterpenos (C₄₀), sesterterpenos (C₂₅) e politerpenos. Rearranjos, degradações oxidativas ou introduções de novos átomos de carbono podem transformar um esqueleto terpênico em outro que não apresente a sequência normal de átomos de carbono que caracteriza a classe. Substâncias assim formadas também são consideradas terpenos, uma vez que a biossíntese inicial é a mesma (Roque, 1990).

No grupo dos terpenos existem, dentre outros, os hidrocarbonetos monoterpenos ($C_{10}H_{16}$) e os hidrocarbonetos sesquiterpenos ($C_{15}H_{24}$), sendo estes

últimos encontrados em maiores quantidades na natureza. El-Moghazy et al. (1995) estudaram a espécie L. hirsutum var. hirsutum e verificaram uma maior quantidade dos hidrocarbonetos sesquiterpenos comparada à dos hidrocarbonetos monoterpenos. Dentre os hidrocarbonetos sesquiterpenos, destacam-se o curcumeno, o elemeno e o zingibereno; destes, o zingibereno foi detectado em níveis mais elevados em L. hirsutum var. hirsutum (Weston et al., 1989). Os sesquiterpenos acompanham os óleos essenciais em plantas, contudo, possuem uma fração volátil menor. As atividades biológicas associadas a estas substâncias são muitas e variadas, indo desde a regulação do desenvolvimento da planta (como é o caso do ácido abcísico) até a interferência na metamorfose de insetos fitófagos (Harborne e Barberan, 1991).

O zingibereno [1,3-ciclohexadieno-5-(1,5 dimetil-4=hexenil)-2 metil] (C₁₅H₂₄) (Figura 2) é um sesquiterpeno encontrado em elevadas concentrações na planta do gengibre *Zingiber officinalis*, tendo sua ocorrência observada também no gênero *Lycopersicon*, exclusivamente em plantas de tomateiro silvestres *L. hirsutum* var. *hirsutum*. Foi detectado na introdução PI-126445 e confirmado por cromatografia gasosa e espectroscopia de massa (Carter e Snyder, 1985). Weston et al. (1989) detectaram a presença de zingibereno também no acesso PI-127826. De acordo com Carter, Sacalis e Gianfagna (1989), o zingibereno ocorre exclusivamente no ápice dos tricomas glandulares do tipo VI, não sendo encontrado em níveis substanciais em qualquer outro tipo de tricoma ou na matriz foliar do tomateiro.

FIGURA 2. Estrutura química do zingibereno [1,3-ciclohexadieno-5-(1,5 dimetil-4=hexenil)-2 metil]

Gianfagna, Carter e Sacalis (1992) atribuíram a resistência de L. hirsutum hirsutum à Leptinotarsa decemlineata (Coleoptera. Chrysomelidae) ao zingibereno presente nos tricomas glandulares do tipo VI. presentes nas folhas dessa espécie vegetal. Observaram, no entanto, que o conteúdo e a densidade deste composto nos tricomas são afetados nela temperatura e fotoperíodo. Verificaram que em dias curtos o conteúdo do zingibereno é maior do que em dias longos. A influência de fatores ambientais no conteúdo de zingibereno acumulado no tomateiro pode prejudicar a seleção de plantas superiores em função da baixa herdabilidade que o caráter pode apresentar em determinadas condições. Por outro lado, se o caráter zingibereno possui uma herança simples (Rahimi e Carter, 1993), a seleção de plantas superiores pode ser facilitada devido à maior probabilidade de se selecionar uma planta com fenótipo favorável.

A associação direta existente entre o zingibereno e o tricoma glandular do tipo VI (Carter, Sacalis e Gianfagna, 1989 e Gianfagna, Carter e Sacalis, 1992) também estimula um estudo detalhado dos diversos tipos de tricomas glandulares provenientes de L. hirsutum var. hirsutum quanto à presença ou ausência do composto zingibereno nas glândulas desses tricomas. Luckwill (1943) descreveu

sete tinos de tricomas foliares no gênero Lycopersicon (I, II, III, IV, V, VI e VII), quanto ao histórico, biologia e taxonomia. A descrição foi feita baseando-se no comprimento e número de hastes destes, bem como na presenca ou ausência de glândulas no ápice, sendo que, para esta última característica, considerou-se ainda o número de células que compõe cada glândula. Além do exudato químico presente nos tricomas do tipo VI de L. hirsutum var. hirsutum. Snyder e Hyatt (1984) relataram que a densidade desse tricoma também está envolvida na resistência a artrópodes-praga. Embora esta causa morfológica da resistência seja menor que a causa química, uma alta densidade de tricomas VI poderá funcionar bem como barreira mecânica ao ataque do inseto. Carter e Snyder (1985) verificaram que quando a densidade de tricomas é substancialmente alta, a exemplo do que ocorre em L. hirsutum var. hirsutum para os tricomas IV e V. tem-se uma causa morfológica da resistência a insetos-praga. Todos os tricomas (glandulares e não glandulares) podem atuar como causa morfológica da resistência, dependendo da densidade presente na matriz foliar do vegetal, ao passo que os exsudatos dos tricomas glandulares podem atuar como causa química da resistência. Maior ênfase nos estudos de resistência do tomateiro a insetos-praga tem sido dada aos compostos químicos, motivo pelo qual os tricomas glandulares do tipo I, IV, VI e VII, que contém esses compostos, merecem especial atenção.

Os tricomas glandulares IV e VI foram quantificados por Antonious e Snyder (1993) nas espécies L. hirsutum var. hirsutum (PI-127826 e PI-251303) e L. hirsutum var. glabratum (PI-134417) a fim de se conhecer a correlação da densidade de tricomas com a concentração de pesticida retido nas folhas desses tomateiros. Aragão (1998) também identificou e quantificou os quatro tipos de tricomas glandulares (I, IV, VI e VII) nos tomateiros L. esculentum (TOM-556), L. hirsutum var. glabratum (PI-134417) e em linhagens avançadas obtidas do

cruzamento interespecífico (TOM-556xPI-134417) com objetivo de verificar a associação desses tricomas com o composto 2-tridecanona.

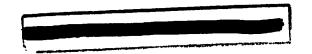
A importância de se conhecer detalhadamente todos os tipos de tricomas glandulares e sua relação com o zingibereno poderá auxiliar futuros programas de melhoramento do tomateiro visando a obtenção de cultivares resistentes a insetospraga, em função de se ter condições de estabelecer critérios indiretos de seleção de plantas com base tanto no teor de zingibereno quanto na densidade de tricomas.

3 Referências Bibliográficas

- ANTONIOUS, G.F.; SNYDER, J.C. Trichome density and pesticide retention and half-life. Journal of Environmental Science and Health, New York, v.28, n.2, p.205-219, 1993.
- ARAGÃO, C.A. Tricomas foliares associados à resistência ao ácaro rajado em linhagens de tomateiro com alto teor de 2-tridecanona nos folíolos. Lavras: UFLA, 1998. 71p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- BARBARA, E.L.; LAWSON, D.W.; WHITE, K.K.; SHAPIRO, J.A.; COHEN, D.E.; CARSON, W.G.; TRUMBLE, J.T.; MUTSCHLER, M.A. Acylsugars of wild tomato *Lycopersicon pennellii* alters settling and reduces oviposition of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Economic Entomoloy, Maryland, v.88, n.3, p.742-748, June 1995.
- BARBOSA, L.V. Controle genético e mecanismos de resistência em Lycopersicon spp à traça do tomateiro [Scrobipalpuloides absoluta (Meyrick, 1917) (Lep. Gelechiidae)]. Lavras: ESAL, 1994. 71p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- BARONA, H.G.; PARRA, A.S.; VALLEJO, C.F.C. Evaluacion de especies silvestres de *Lycopersicon* sp., como fonte de resistencia a *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) y su intento de transferencia a *Lycopersicon esculentum* Mill. Acta Agronomica, Palmira, v.39, n.1/2 p.34-45, 1989.
- BELLOWS, J.T.S.; PERRING, T.M.; GILL, R.J.; HEADRICK, D.H. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: *Aleyrodidae*). Annals of the Entomological Society of America, Maryland, v.87, n.2, p.195-206, Mar., 1994.
- BONILLA, M.G.O.; OLIVEIRA, P.R.A. Metabólitos secundários. Lavras: UFLA, 1996. 62p. (Trabalho apresentado como parte das exigências da disciplina "Bioquímica Vegetal" do curso de Doutorado em Fitotecnia)
- CAMPOS, G.R. Control químico del minador de hojas y tallos de la papa (Scrobipalpula absoluta, Meyrick) en el Valle Cañete. Revista Peruana de Entomologia, Argentina, v.19, n.1, p.102-106, 1976.

- CARTER, C.D.; GIANFAGNA, T.J.; SACALIS, J.N. Sesquiterpenes in glandular trichomes of a wuld tomato species and toxicity to the Colorado Potato beetle. Journal of Agricultural of Cultural and Food Chemistry, Washington, v.37, p.1425-1428, Sept./Oct., 1989.
- CARTER, C.D.; SACALIS, J.N.; GIANFAGNA, T.J. Zingiberene and Resistance to Colorado Potato Beetle in *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*. **Journal of Agricultural of Cultural and Food Chemistry**, Washington, v.37, p.206-210, Jan./Feb., 1989.
- CARTER, C.D.; SNYDER, J.C. Mite responses in relation to trichomes of Lycopersicon esculentum x L. hirsutum F₂ hibrids. Euphytica, Netherlands, v.34, n.1, p.177-185, Mar., 1985.
- CASTELO BRANCO, M. Flutuação populacional da traça-do-tomateiro no Distrito Federal. Horticultura Brasileira, Brasília, v.10, n.2, p.33-34, Nov., 1992.
- EIGENBRODE, S.D.; TRUMBLE, J.T. Antibiosis to bett armyworn (Spodoptera exigua) in Lycopersicon acessions. Horticultural Science, Alexandria, v.28, n.9, p.932-934, Sept., 1993.
- EIGENBRODE, S.D.; TRUMBLE, J.T.; WHITE, K.K. Trichome exudates and resistance to Beet Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in *Lycopersicon hirsutum* f. typicum accessions. Environmental Entomology, Lanham, v.25, n.1, p.90-95, Feb., 1996.
- El-MOGHAZY, S.A.; KAMEL, M.S.; MOHAMED, M.H.; KOSKINEN, A. Preliminary investigation on the leaf oil of *Lycopersicon hirsutum* Humb. et Bonpl. Journal of Essential Oil Research, Canada, v.7, n.4, p.453-455, July/Aug., 1995.
- EMBRAPA. Prospecção de demandas de pesquisa em agricultura irrigada para a região semi-árida do Norte de Minas Gerais; Seminário temático. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1998. 48p.
- FERREIRA, L.T.; AVIDOS, M.F.D. Mosca-branca Presença indesejável no Brasil. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Brasília, vl, n.4, p.22-26, Jan./Fev., 1998.

- FRANÇA, F.H.; MALUF, W.R.; ROSSI, P.E.F.; MIRANDA, J.E.C.; COELHO, M.C.F. Avaliação e seleção em tomate visando resistência a traça do tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 24., 1984, Jaboticabal. Resumo... Jaboticabal: SOB, 1984. 143p.
- GIANFAGNA, T.J.; CARTER, C.D.; SACALIS, J.N. Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*. **Plant Physiology**, Lancaster, v.100, n.3, p.1403-1405, 1992.
- GOFFREDA, J.C.; MUTSHLER, M.A.; AVÉ, D.A.; TINGEY, W.M.; STEFFENS, J.C. Aphid deterrence by glucose esters in glandular trichome exudate of wild tomato, Lycopersicon pennellii. Journal of Chemical Ecology, New York, v.15, p.2135-2147, 1989.
- GONÇALVES, M.I.F. Variação no teor de 2-tridecanona em folíolos de tomateiro e sua relação com a resistência a duas espécies de ácaros do gênero *Tetranychus*. Lavras: UFLA, 1996. 63p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R. Aspectos biológicos e parasitismo de ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-tridecanona nos folíolos. Lavras: UFLA, 1998. 71p. (Dissertação Mestrado em Entomologia)
- GRAVENA, S. Manejo integrado de pragas do tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO E REUNIÃO LATINO AMERICANA DE OLERICULTURA, 1., 1984, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: CBO, 1984. p.129-149.
- GUO, Z.; WESTON, P.A.; SNYDER, J.C. Repellency to two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, as related to leaf surface chemistry of *Lycopersicon hirsutum* accessions. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.19, n.12, p.2965-2979, 1993.



- HAJI, F.N.P. Histórico e situação atual da traça do tomateiro nos perímetros irrigados do submédio do São Francisco. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3, 1992, Águas de Lindóia. Anais... Jaguariuna: EMBRAPA/CNPDA, 1992. p.57-59.
- HARBORNE, J.B.; BARBERAN, F.A.T. Ecologial chemistry and biochemistry of plant terpenoids. Oxford: The Phytochemical Society of Europe, 1991. 483p.
- HERRERA, A. Insetos de la papa en cañete. Revista Peruana de Entomologia, Lima, v.6, n.1, p.5-7, 1963.
- KENNEDY, G.G.; YAMAMOTO, R.T. A toxic factor causing resistance in a wild tomato to the tobacco hornworm and some other insects. **Entomologia** Experimentalis Applicata, Netherlands, v.26, p.121-126, 1979.
- LABORY, C.R. Repetibilidade, herdabilidade no sentido restrito e mecanismo de resistência do teor do aleloquímico 2- Tridecanona em Lycopersicon spp. À traça do tomateiro Scrobipalpuloides absoluta (Meyrick, 1917) Lepdoptera Gelechidae. Lavras: UFLA, 1996. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- LEITE, D.; BRESCIANI, A.F.; GROPPO, A.G.; PAZINI, W.C.; GRAVENA, S. Comparação de estratégias de manejo de pragas na cultura do tomate estaqueado. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Itabúna, v.24, n.1, p.27-32, 1995.
- LIN, S.Y.H.; TRUMBLE, J.T.; KUMAMOTO, J. Activity of volatile compounds in glandular trichomes of *Lycopersicon* species against two insect herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.13, p.837-850, 1987.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H. Fontes de resistência a *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 23., 1983, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: SOB, 1983, p.53.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H.; ZULLO, M.A.T. Fontes de resistência a Scrobipalpula absoluta (Meyrick, 1917) em tomateiro. Bragantia, Campinas, v.43, n.2, p.569-577, 1984.

- LUCKWILL, L.C. The genus *Lycopersicon*: an historical, biological, and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes. Aberdeen: Aberdeen University Press, 1943. n.120, 44p.
- MALUF, W.R. Melhoramento genético de hortaliças: Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1995. 187p. (Apostila de aula)
- MORAES, G.J.; NORMANHA FILHO, J.A. Surto de Scrobipalpula absoluta (Meyrick) em tomateiro no trópico semi-árido. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.17, n.3, p.503-504, 1982.
- PRANDO, H.F.; MULLER, J.J.V. Levantamento de insetos relacionados às hortaliças. Florianópolis: EMPASC, 1987. 2p. (Comunicado Técnico, 70)
- QUIROZ, C. Nuevos antecedentes sobre la biologia de la polilla del tomate, Scrobipalpula absoluta (Meyrick) Agricultura Técnica, Chile, v.36, n.2, p.82-86, 1976.
- RAHIMI, F.R.; CARTER, C.D. Inheritance of zingiberene in *Lycopersicon*. Theoretical and Applied Genetics, Berlin, v.87, p.593-597, 1993.
- RESENDE, J.T.V. Teores de acilaçúcares mediadores da resistência a pragas e sua herança em folíolos de tomateiro, obtidos a partir do cruzamento interespecífico Lycopersicon esculentum x L. pennellii. Lavras: UFLA, 1999. 56p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia)
- RIPA, R.S. Avances en el control de la polilla del tomate Scrobipalpula absoluta (Meyrick). Il Ensaios de control químico. Agricultura Técnica, Chile, v.41, n.3, p.113-119, 1981.
- ROQUE, N.F. Identificação e determinação estrutural de terpenos. São Paulo: USP, 1990. 106p. (Trabalho apresentado ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para obtenção do título de Livre Docente)
- SILVA, C.C. Estudos de fatores químicos de resistência a Scrobipalpuloides absoluta (Meyrich, 1917), (Lepidoptera: Gelechiidae) em três genótipos de tomateiro: Lycopersicon esculentum, Lycopersicon hirsutum, Lycopersicon peruvianum. Viçosa: UFV, 1995. 63p. (Dissertação Mestrado em Agroquímica).

- SMITH, C.M. Plant resistance to insects: A fundamental approach. New York: Willey Interscience Publication, 1989. 286p.
- SNYDER, J.C.; HYATT, J.P. Influences of daylength on trichome densities and leaf volatiles of *Lycopersicon* species. Plant Science Letters, Boston, v.37, n.1/2, p.177-181, 1984.
- SNYDER, J.C.; JOHNSON, D.A.; GOOD, D.E.; WESTON, P.A. Type VI trichome exudats from genotypes of *L. hirsutum* f. glabratum. Reports Tomato Genetics Cooperative, New York, v.37, p.67-68, 1987.
- SOUZA, J.C.; REIS, P.R. Reconhecimento e controle da traça do tomateiro. Correio Agrícola, São Paulo, v.1, p.19-21, 1994.
- SOUZA, J.C.; REIS,P.R. Traça-do-tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 15p. (Boletim Técnico EPAMIG, 2)
- UCHOA FERNANDES, M.A. Comportamento da traça-do-tomateiro Scrobipalpuloides absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae), e emprego de armadilhas com feromônio natural para seu monitoramento no campo. Viçosa: UFV, 1992. 107p. (Dissertação Mestrado em Entomologia)
- VARGAS, H.C. Observaciones sobre la biologia y enemigs naturals de la polilla del tomate, *Gnorinioschema absoluta* (Meyrick) (Lep. Gelechiidae). Idesia, Arica, v.1 p.75-110, 1970.
- VILAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C. Manejo integrado da mosca-branca Bemisia argentifolii. Brasilia: EMBRAPA/CNPH, 1997. 11p.
- WESTON, P.A.; JOHNSON, D. A.; BURTON, H.T.; SNYDER, J.C. Trichome secretion composition, trichome densities, and spider mite resistance of ten accessions of *Lycopersicon hirsutum*. Journal of American Society for Horticultural Science, Mount Vermon, v.114, n.3, p.492-498, 1989.
- WILLIAMS, W. G.; KENNEDY, G.G.; YAMAMOTO, E.T.; THACKER, J.D.; BORDNER, J. 2-Tridecanone a naturally occurring insecticide from the wild tomato *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. Science, Washington, v.207, p.888-889, 1980.

CAPÍTULO 2

Metodologias para quantificação do zingibereno e tricomas glandulares em folíolos de tomateiro

1 Resumo

O aleloquímico zingibereno, um dos principais sesquiterpenos encontrados nas plantas de L. hirsutum var. hirsutum, está envolvido na resistência a artropódes-praga. Sua identificação no acesso PI-127826 de L hirsutum var. hirsutum foi feita por cromatografia de camada delgada (CCD) e confirmada em espectro de infravermelho (IV). Após a identificação do zingibereno, foram analisados os genótipos TOM-556 e TOM-600 (L. esculentum), PI-127826 (L. hirsutum var. hirsutum) e F₁ (TOM-556xPI-127826) para testar duas metodologias de quantificação deste aleloquímico (uma em espectofotômetro e outra em HPLC - cromatografia líquida de alta performance). Também buscou-se estabelecer um critério de amostragem quanto ao número de foliolos/planta e cortes/foliolo usados na quantificação de tricomas foliares do tomateiro. Estes estudos foram realizados com objetivo de se estabelecerem metodologias que possibilitem a seleção indireta de plantas resistentes aos insetos-praga e descobrir se existem diferenças quanto à densidade de tricomas nas faces abaxial e adaxial dos folíolos. Uma metodologia rápida, de baixo custo e não destrutiva das plantas, foi estabelecida constituindo-se na extração do zingibereno de 4,21 cm² de folíolos de tomateiro em 2 mL de hexano, agitados durante 40 segundos e quantificado em espectofotômetro a 270 nm. Esta metodologia apresentou correlação positiva de 85% com a metodologia estabelecida para HPLC. O protocolo para quantificação do zingibereno medido em HPLC constou dos seguintes passos: extração do zingibereno (semelhante à realizada para a metodologia anterior), quantificação em aparelho HPLC pela injeção de 20 µL do extrato de hexano contendo zingibereno, em coluna C18 de 25 cm de comprimento, ao fluxo de 1 mL/minuto e à pressão de 58 atm em fase isocrática com 100 % de acetonitrila: o tempo de retenção da substância foi de 8,83 minutos. Para quantificação dos tricomas glandulares, sugere-se a amostragem de três foliolos/planta e seis cortes/foliolo, e quando possível, maior número de cortes/foliolo. A predominância de tricomas foliares do tomateiro foi observada, em geral, na face abaxial dos folíolos.

Methodologies for quantifying zingiberene and trichomes glandular on tomato plant leaflets

2 Abstract

Zingiberene is one of the main sesquiterpenes found in plants of L. hirsutum var. hirsutum, and is involved in the resistance to arthropod pests. Zingiberene identification in access PI-127826 of L. hirsutum var. hirsutum was made by means of thin layer chromatography (TLC) and confirmed in infra-red spectrum (IRS). After identification of zingiberene, genotypes TOM-556 and TOM-600 (L. esculentum), PI-127826 (L. hirsutum var. hirsutum) and F. (TOM-556xPI-127826) were evaluated to test two quantification methodologies of this sesquiterpene spectrophotometric determination and HPLC - high performance liquid chromatography. A sampling citerion was sought to establish an adequate number of leaflet/plant and sections/leaflet, for quantification of leaf trichomes in the tomato plant. Those studies were performed with the aim to establish methodologies for indirect selection of plants resistant to insect pests. and to find whether there are differences in trichome density between the abaxial and adaxial sides of the leaflets. A fast low cost and non-destructive methodology for zingiberene quantification in plants was established; extraction of 4.21 cm² of tomato plant leaflets in 2 mL of hexane, stirred for 40 seconds and quantified in spectrophotometer at 270 nm. That methodology presents a positive correlation (r=0.85) with the methodology established for HPLC. The protocol for quantification in HPLC consisted of the following steps: zingiberene extraction (similar to that performed for the previous methodology). quantification in HPLC apparatus by means injection of 20 mL of the hexane extract containing zingiberene, in C₁₈ column of 25 cm long, at the flux of 1 mL/minute and the pressure of 58 atm at the isocratic phase with 100% of the acetonitrile; the retention time of the substance was of 8.83 minutes. For the quantification of glandular trichomes a minimum sample of 3 leaflets per plant, with 6 sections per leaflet, is suggested. Foliar trichome numbers were higher in the abaxial side than in the adaxial leaf surface

3 Introdução

Embora existam no mercado inúmeros produtos fitossanitários para o controle de insetos-praga, existem também espécies vegetais com compostos químicos naturais que são capazes de conferir resistência aos insetos. Dentre essas espécies vegetais, destacam-se, no gênero Lycopersicon, a espécie L. hirsutum var. glabratum Mull., L. pennellii e L. hirsutum var. hirsutum Humb. e Bonpl., que contêm, respectivamente, as moléculas 2-tridecanona (Barbosa, 1994; Gonçalves, 1996; Labory, 1996; Gonçalves-Gervásio, 1998 e Aragão, 1998), acilaçúcares (Goffreda et al., 1989) e zingibereno (Snyder et al., 1987; Carter, Gianfagna e Sacalis, 1989 e Eigenbrode et al., 1994), substâncias que conferem resistência múltipla a insetos-praga. O zingibereno, especificamente, confere resistência à Tetranychus urticae (Good, Jr e Snyder, 1988 e Weston, et al., 1989), Tetranychus evansi (Campos, 1999), Leptinotarsa decemlineata (Carter, Gianfagna e Sacalis, 1989 e Carter, Sacalis e Gianfagna, 1989) e Spodoptera exigua (Eigenbrode e Trumble, 1993 e Eigenbrode et al., 1994).

O zingibereno, no gênero Lycopersicon, ocorre exclusivamente em L. hirsutum var. hirsutum (Carter e Snyder, 1985). De acordo com Carter, Sacalis e Gianfagna (1988), esse composto encontra-se exclusivamente no ápice dos tricomas glandulares do tipo VI, não sendo encontrado em níveis substanciais em qualquer outro tipo de tricoma ou na matriz foliar. Carter e Snyder (1985) identificaram o zingibereno em extrato de L. hirsutum var. hirsutum PI-126445. O zingibereno também foi encontrado em concentrações variadas nos acessos PI-127826 e PI-127827 de L. hirsutum var. hirsutum por Weston et al. (1989). A concentração deste composto nas glândulas dos tricomas foliares de um mesmo acesso pode variar principalmente em função do fotoperíodo, e maiores

concentrações são detectadas nas plantas cultivadas em dias curtos (Gianfagna, Carter e Sacalis, 1992).

Tanto a identificação quanto a quantificação de uma molécula na planta envolvem metodologias refinadas e que normalmente demandam muito tempo para processar uma amostra. A cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) são técnicas comumente utilizadas na identificação e quantificação dessas moléculas, embora dificultem o trabalho quando tem-se um grande número de amostras a serem analisadas, caso comum em populações segregantes num programa de melhoramento. Carter e Snyder (1985) identificaram o zingibereno em plantas F2 de tomateiro, através da retenção de tempo da substância, obtido pela técnica de cromatografia gasosa (CG) e espectroscopia de massa (EM). Os autores compararam o pico do zingibereno das plantas F2 com o pico encontrado nas plantas da variedade hirsutum. Carter, Sacalis e Gianfagna (1989) identificaram, pela técnica de HPLC, plantas com níveis variados de zingibereno, comparando a área do pico dessa molécula nas plantas segregantes com a área do pico de L. hirsutum var. hirsutum.

Enquanto a quantificação de moléculas feita por técnicas refinadas como cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC) é demorada, a quantificação analítica de uma substância por metodologia colorimétrica pode ser uma alternativa viável (Freitas et al., 1998) se for gasto um menor tempo para analisar um grande número de plantas, sem prejuízo para o resultado obtido. Nienhuis et al. (1985) detectaram uma correlação de 95%, entre uma metodologia de cromatografia gasosa e uma colorimétrica, na quantificação da substância 2-tridecanona. Barbosa (1994) desenvolveu uma metodologia colorimétrica de quantificação da 2-tridecanona que possibilita a avaliação de um grande número de plantas, em um tempo reduzido, quando comparada com as

metodologias de CG e HPLC. A metodologia desenvolvida pela autora possibilitou a seleção indireta de plantas resistentes à traça-do-tomateiro, avaliadas em um curto espaço de tempo, sem comprometer a confiabilidade dos resultados obtidos. Resende (1999) também utilizou, com sucesso, uma metodologia colorimétrica para quantificar os teores de acilaçúcares em tomateiro, também com a finalidade de seleção indireta de plantas para resistência a insetos-praga.

Além de uma metodologia analítica de rápida execução para quantificação dos teores de zingibereno, poder-se-ia, alternativamente, adotar uma metodologia de quantificação dos tricomas, também como medida de seleção indireta de plantas. Isto seria de grande importância, principalmente se for alta a associação relatada entre o zingibereno e o tricoma glandular tipo VI de L. hirsutum var. hirsutum (Carter, Sacalis e Gianfagna, 1988 e Eigenbrode et al., 1994). Segundo Carter, Sacalis e Gianfagna (1989), a resistência do tomateiro aos insetos-praga pode ser mediada pelo zingibereno, bem como pela alta densidade de tricomas foliares dos tipos IV e V presentes no tomateiro (Carter e Snyder, 1985). No caso do tricoma tipo VI, sua maior densidade indicaria maiores teores de zingibereno, presumindo-se uma alta correlação entre o zingibereno e esse tipo de tricoma. A relação direta existente nesse caso possibilitaria, em última análise, a seleção de plantas resistentes a artrópodespraga, quer seja através da seleção indireta para alto teor de zingibereno, ou para alta densidade de tricomas tipo VI. Também seria bastante útil a seleção de plantas com alta densidade de outros tipos de tricomas, presumindo-se que esses tricomas atuem como barreira mecânica ao ataque de insetos-praga na planta. De acordo com Luckwill (1943), a identificação dos tricomas glandulares (I, IV, VI e VII) e não glandulares (II, III e V) é possível, assim como sua quantificação (Antonious e Snyder, 1993 e Aragão, 1998), a fim de se conhecer a presença e

quantidade destes tricomas na matriz foliar do tomateiro. Contudo, não se sabe ainda a melhor forma de amostragem a ser feita para uma boa quantificação dos tricomas, principalmente quando se tem um grande número de plantas a ser avaliado num espaço de tempo relativamente curto.

Este trabalho teve como objetivos desenvolver uma metodologia colorimétrica rápida, de baixo custo e não destrutiva das plantas, para identificação do sesquiterpeno zingibereno em plantas de tomateiro, viabilizando uma posterior quantificação e avaliação deste aleloquímico em um maior número de plantas, de maneira a estabelecer um critério indireto de seleção de plantas resistentes aos insetos-praga. Assim, avaliou-se ainda a correlação entre as leituras do teor de zingibereno, medidas pelo método padrão HPLC e a técnica colorimétrica de baixo custo. Teve-se também por objetivo estabelecer um melhor critério de amostragem dos vários tipos de tricomas com relação ao número de foliolos/planta e número de cortes/folíolo, de maneira que a densidade de tricomas também possa vir a ser empregada como técnica alternativa e indireta para seleção de plantas resistentes aos insetos-praga. Por fim, foram avaliadas as faces abaxial e adaxial dos folíolos de tomateiro quanto à densidade de tricomas nelas presentes.

4 Material e Métodos

4.1 Metodologias para quantificação do zingibereno em plantas do tomateiro obtidas do cruzamento L. esculentum X L. hirsutum var. hirsutum PI-127826

4.1.1 Avaliação de solventes para extração de zingibereno em folíolos do acesso PI-127826 de L. hirsutum var. hirsutum

Preliminarmente foram estudados os solventes água, hexano, acetona, metanol, etanol, clorofórmio e dioxano, em todas misturas binárias possíveis (proporção 1:1), para verificar qual o melhor extrator do zingibereno em folhas maceradas do acesso PI-127826 de L. hirsutum var. hirsutum. Inicialmente foi feita a coleta e lavagem cuidadosa dos folíolos jovens de plantas adultas de tomateiro PI-127826, que foram triturados e macerados com pistilo em cápsula de porcelana, pesando-se, em seguida, 3 gramas (aproximadamente 209,8 cm² de área foliar) deste macerado, que foram acondicionadas em tubos de ensaio contendo 10 mL da mistura binária (1:1) dos solventes testados. Após a filtragem e retirada do macerado dos tubos de ensaio, foi adicionado 1 mL da solução Br₂/CCl₄ para reação de clareamento do extrato contendo zingibereno (Figura 3). Paralelamente, foi feita uma cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando como extrator cada um dos solventes mencionados anteriormente, e como eluente a mistura binária de clorofórmio e metanol na proporção 3:1. Este estudo constou apenas de observações visuais do maior ou menor clareamento do extrato em cada solvente utilizado, bem como da presença ou ausência de manchas características do zingibereno nos cromatogramas referentes a esses solventes.

Outro estudo realizado foi aquele em que novamente se utilizou, como fonte de alto teor de zingibereno, uma amostra aleatória de folíolos jovens de 44 plantas de tomateiro (acesso PI-127826) cultivadas em vasos plástico sob estufa plástica.

FIGURA 3 - Reação da molécula de zingibereno com solução Br₂/CCl₄

Os solventes etanol, hexano e água foram utilizados juntos, em diferentes proporções, perfazendo 10 tratamentos. Cada tratamento foi composto de três volumes em mL, na respectiva ordem, dos solventes etanol, hexano e água, assim como se segue: tratamentos 1 (3:5:1), 2 (3:4:2), 3 (2:4:3), 4 (4:3:2), 5 (3:3:3), 6 (2:3:4), 7 (5:2:2), 8 (4:2:3), 9 (3:2:4) e 10 (6:2:1). Em tubos de ensaio contendo 3 gramas (aproximadamente 209,8 cm² de área foliar) de folíolos macerados, foram adicionadas as misturas dos reagentes citados acima. Agitaram-se os tubos de ensaio contendo os solventes e o macerado de folíolos em aparelho vortéx durante 3 minutos; retiraram-se os folíolos; deixaram-se em repouso e separaram-se as frações aquosa da orgânica. À fração orgânica adicionaram-se 0,36 mL da solução de Br₂/CCl₄. Esta foi vedada da luz com papel alumínio e deixada em repouso por duas horas. Decorrido este tempo, os extratos de cada tratamento foram avaliados quanto à coloração, de acordo com uma escala visual de notas variando de 1 a 6, a saber: 1: castanho escuro, 2: castanho, 3: castanho claro, 4: amarelo, 5: amarelo claro e 6: levemente amarelo a incolor. Coloração clara ou incolor do extrato pode ser considerada como resultado do rompimento das duplas ligações conjugadas do zingibereno promovida pela solução Br₂/CCl₄, reação característica de identificação de alquenos. Ao unirem-se ao zingibereno,

as moléculas de bromo deixam de contribuir para uma coloração escura do extrato. Assim, quanto maior o clareamento deste extrato, maior a nota, indicativo de maior quantidade de zingibereno extraída do macerado de folíolos.

Para certificar-se da presença do zingibereno no tomateiro PI-127826, prepararam-se extratos com raiz de gengibre Zingiber officinalis (espécie rica em zingibereno) e folhas do tomateiro PI-127826 em mistura dos solventes etanol, hexano e água na proporção 4:2:3. Após a evaporação destes, o resíduo foi cristalizado e fez-se uma cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando como eluente a mistura binária éter de petróleo e metanol (2:1). Utilizaram-se os resíduos cristalizado dos extratos obtidos de folhas do tomateiro PI-127826 e raíz de gengibre, diluídos em 2 mL de hexano. Os resultados obtidos por infravermelho e foram comparados e pôde-se verificar a existência de duplas ligações conjugadas, que são características do zingibereno, nos espectros de amobos tecidos vegetais.

4.1.2 Desenvolvimento de metodologias para quantificação do zingibereno em espectofotômetro e HPLC

Neste teste utilizou-se como padrão extrato de raízes de gengibre - Zingiber officinalis, juntamente com extrato de foliolos dos tomateiros TOM-556 - L. esculentum, PI-127826 - L. hirsutum var. hirsutum, F₁ [TOM-556xPI-127826] e PI-134417 - L. hirsutum var. glabratum. As descrições destas introduções de Lycopersicon encontram-se no Quadro 1. Tubos de ensaio contendo 0,15g de raiz de gengibre (padrão) e 4,21 cm² de folíolos jovens de tomateiro, em 2 mL de hexano (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), foram agitados em aparelho vortéx durante 40 segundos. Os extratos foram analisados em aparelho espectofotômetro com detector U.V., obtendo-se os valores de absorbância lidos a 270 nm (comprimento de onda em que se conseguiu boa leitura do zingibereno)

Quadro I. Características do gengibre e dos genótipos de tomateiro *Lycopersicon* spp. utilizados nos estudos da resistência genética do tomateiro à mosca branca. UFLA: Lavras, MG, 1999.

Genótipos:	Características:
Gengibre	Espécie rica em zingibereno
(Zingiber officinalis)	
TOM-556	Linhagem normal com ausência de tricomas IV e VI, 2-tridecanona,
(L. esculentum)	zingibereno e acilaçúcares
PI-127826	Tomateiro silvestre com tricomas VI contendo alto teor de zingibereno
(L. hirsutum vat. hirsutum)	
F ₁ [TOM-556xPI-127826]	População obtida do cruzamento interespecífico L. esculentum X L. hir. var. hirsutum
F ₂ [TOM-556xPI-127826]	População segregante obtida através da autofecundação do híbrido F_1 L. esculentum X L. hir. var. hirsutum
BPX-368#92	Planta selecionada para alto teor de zingibereno a partir da população
	F ₂ (L. esculentum TOM-556 X L. hirsutum var. hirsutum PI-127826)
BPX-368#105	Planta selecionada para alto teor de zingibereno a partir da população
	F ₂ (L. esculentum TOM-556 X L. hirsutum vas. hirsutumPl-127826)
BPX-368#179	Planta selecionada para alto teor de zingibereno a partir da população
	F ₂ (L. esculentum TOM-556 X L. hirsutum var. hirsutumP1-127826)
BPX-368#250	Planta selecionada para alto teor de zingibereno a partir da população
	F ₂ (L. esculentum TOM-556 X L. hirsutum var. hirsutumPl-127826)
PI-134417	Tomateiro silvestre com tricomas VI contendo alto teor de 2-tridecanona
(L. hirsutum var. glabratum)	
TOM-600	Linhagem selecionada para alto teor de 2-tridecanona (Barbosa, 1994), teor
(L. esculentum)	de zingibereno não previzmente conhecido, mas presumivelmente baixo.
LA-716	Tomateiro silvestre com tricomas IV contendo alto teor de acilaçicares;
(L. pennellii)	resistente a mosca branca (Liedl et al., 1995)
LA-3473	Linhagem selecionada para resistência a geminivirus, proveniente do
(L. esculentum)	Tomato Genetics Center, UC Davis; obtido a partir de L. chilense LA-1969.
<u> </u>	

após ajuste do espectofotômetro com hexano puro (branco). Utilizaram-se cubetas de quartzo que eram lavadas em hexano puro após cada leitura efetuada. Foram feitas três baterias de análises, sendo amostradas raízes comerciais de gengibre e folíolos de cinco plantas de cada tomateiro testado.

Para se estabelecer um protocolo de quantificação do zingibereno em HPLC, inicialmente foi feita uma comparação entre duas concentrações de zingibereno isolado de raízes de gengibre. O zingibereno foi extraído em hexano puro, sendo isolado após filtragem do extrato e evaporação a frio do solvente. Diluíram-se as concentrações de 17,13 e 34,26 milimols (mM) do zingibereno (PM= 204,357), em 2 mL de hexano, para serem analisadas em aparelho SPD-M10A com detector U.V., também a 270nm, através da unidade de área de pico

da molécula (U.A.). Para essas análises foram utilizados 20 μL da solução de hexano contendo zingibereno nas duas concentrações testadas. A fase móvel foi 100% acetonitrila em sistema isocrático, ao fluxo de 1 mL/minuto, em coluna C₁₈ de 25 cm. A pressão de trabalho nesta coluna variou de 57 atm a 60 atm. O ajuste do aparelho HPLC também foi feito com hexano puro (branco) antes das leituras das amostras.

Após a comparação, entre essas duas diferentes concentrações de zingibereno, os extratos de gengibre - Zingiber officinalis, TOM-556 - L. esculentum, PI-127826 - L. hirsutum var. hirsutum, F₁ [TOM-556xPI-127826] e PI-134417 - L. hirsutum var. glabratum (Quadro 1), que foram lidos em aparelho espectofotômetro, também foram avaliados em aparelho HPLC conforme protocolo descrito acima.

4.1.3 Associação entre metodologias de quantificação do zingibereno em espectofotômetro e em HPLC

Foi montado um ensaio em delineamento inteiramente casualizado com 4 genótipos de tomateiro, *L. esculentum* TOM-556 (linhagem com baixo ou nenhum teor de zingibereno - 18 plantas); *L. hirsutum* var. hirsutum PI-127826 (introdução silvestre com alto teor de zingibereno - 16 plantas); o híbrido F₁ [TOM-556xPI-127826] (7 plantas) e *L. esculentum* TOM-600 (linhagem selecionada para alto teor de 2-tridecanona - 17 plantas) (Quadro 1). Quatro baterias de extração e análises foram feitas acondicionando-se 6 discos de folíolos jovens de tomateiro de 0,7016 cm de diâmetro cada (4,21 cm² de folíolos), e 2 mL de hexano, em tubos de ensaio, que foram agitados em aparelho vortéx durante 40 segundos. Os extratos de cada extração foram analisados em aparelho espectofotômetro e seguidamente em aparelho HPLC, conforme metodologias mencionadas anteriormente. Os valores de absorbância e de unidade de área de

pico foram utilizados no estudo de correlação de acordo com Cruz e Regazzi (1994).

4.2 Validação de metodologia para quantificação de tricomas foliares em tomateiro

Utilizaram-se os genótipos de tomateiro L. esculentum TOM-556, L. hirsutum var. hirsutum PI-127826, o híbrido interespecífico $F_1[TOM-556xPI-127826]$ e a linhagem L. esculentum TOM-600 (Quadro 1) para a quantificação de tricomas glandulares dos tipos I, IV, VI, VII e não glandulares, tipos II+III+V. Essas quantificações foram realizadas em folíolos das plantas, mediante duas amostragens distintas, com objetivo de se estimar os componentes de variância entre plantas (σ^2_P) , variância entre folíolos (σ^2_F) e variância entre cortes (σ^2_C) .

Para compor a 1ª amostragem foram coletados 6 folíolos de 4 plantas/genótipo e realizados 2 cortes paradérmicos por folíolo (1 abaxial e 1 adaxial). Na 2ª amostragem foram coletados, das mesmas 4 plantas, 3 folíolos/planta e realizados 6 cortes/folíolo (3 abaxiais e 3 adaxiais). O preparo dos folíolos e dos cortes paradérmicos foi feito segundo metodologia de Jensen (1962) e a quantificação segundo metodologia adaptada por Aragão (1998). A quantificação dos tricomas foi feita observando-se as faces abaxial e adaxial dos folíolos.

As estimativas dos componentes de variâncias foram feitas para cada genótipo na 1^a e 2^a amostragens, considerando em separado cada tipo de tricoma glandular (I, IV, VI e VII) e em conjunto os tricomas não glandulares (II+III+V).

Após a estimação das variâncias para cada uma das duas amostragens, obteve-se uma média das estimativas, ponderada pelo grau de liberdade associado ao valor estimado em cada uma das amostragens.

Com os resultados da densidade de tricomas obtidos na l^a amostragem foi feita também, uma análise para se verificar a possível existência de diferenças entre as faces abaxial e adaxial quanto à densidade de tricomas nelas presentes.

5 Resultados e Discussão

5.1 Metodologias para quantificação do zingibereno em plantas do tomateiro obtidas do cruzamento L. esculentum X L. hirsutum var. hirsutum PI-127826

5.1.1 Avaliação de solventes para extração de zingibereno em folíolos do acesso PI-127826 de L. hirsutum var. hirsutum

Um maior clareamento do extrato contendo zingibereno, possivelmente decorrente da quebra das duplas ligações dessa molécula, promovida pela solução Br₂/CCl₄ e às quais se uniram moléculas de bromo, foi observado nas misturas etanol/hexano e hexano/água. Nas demais combinações binárias envolvendo os solventes água, hexano, acetona, metanol, etanol, clorofórmio e dioxano, não foram detectadas clareamento, ou pelo menos este não foi perceptível visualmente. Os resultados indicam que os solventes etanol, hexano e água, em combinações binárias na proporção 1:1, parecem ser bons extratores do zingibereno em folhas do tomateiro. Dentre os cromatogramas dos extratos obtidos com os solventes água, hexano, acetona, metanol, etanol, clorofórmio e dioxano, apenas o referente à extração feita somente com hexano revelou a presença de manchas características do zingibereno, indicando a melhor eficiência desse solvente como extrator do zingibereno.

A análise de variância para as dez proporções dos solventes etanol, hexano e água mostrou diferenças significativas entre os tratamentos, o que pode ser comprovado pelo teste de Tukey (P<0,05) (Tabela 1). Duas proporções dos solventes etanol, hexano e água (4:2:3 e 3:2:4) destacaram-se como boas combinações de solventes para extração do zingibereno em folhas maceradas do tomateiro PI-127826.

TABELA 1. Médias das notas de coloração dos extratos de folíolos de tomateiro PI-127826 em diferentes proporções de etanol, hexano e água. UFLA: Lavras-MG, 1999.

Proporções (Etanol: Hexano:	Água) Médias
(4:2:3)	6,0 a
(3:2:4)	5,8 a
(3:5:1)	5,0 a b
(2:4:3)	4,0 a bc
(3:4:2)	3,4 bc
(2:3:4)	3,2 bc
(6:2:1)	3,2 bc
(3:3:3)	2,0 cd
(5:2:2)	1,0 d
(4:3:2)	1,0 d
C.V= 27,6%	Média= 3,5

^{*} Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Os cromatogramas da cromatografía de camada delgada (CCD), dos isolados de raiz de gengibre e folhas do tomateiro PI-127826, obtidos após evaporação dos solventes etanol, hexano e água (4:2:3), revelaram manchas equivalentes em ambas as espécies vegetais, indicando mais uma vez a presença do zingibereno em PI-127826 e confirmando a boa capacidade dessa combinação dos solventes na extração do zingibereno. O espectro de infravermelho (I.V.), obtido do extrato cristalizado de folíolos do tomateiro PI-127826 após evaporação do hexano, revelou uma banda forte centralizada entre 1600-1620 cm⁻¹, confirmando a presença da dupla ligação característica do zingibereno. Em torno de 2800-2900 cm⁻¹, observaram-se bandas, às quais podem ser atribuídas a presença de grupos metilas (-CH₃), metilênicos (-CH₂) e metínicos (-CH) sobrepostos (Silverstein, Bassler e Morril, 1994). Em torno de 1375 cm⁻¹ observaram-se bandas que podem ser atribuídas às deformações das ligações C-H das ramificações metilas presentes.

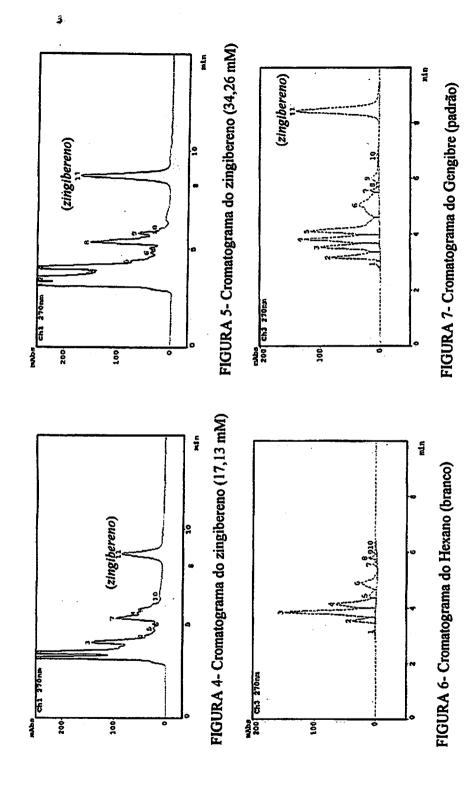
5.1.2 Desenvolvimento de metodologias para quantificação do zingibereno em espectofotômetro e HPLC

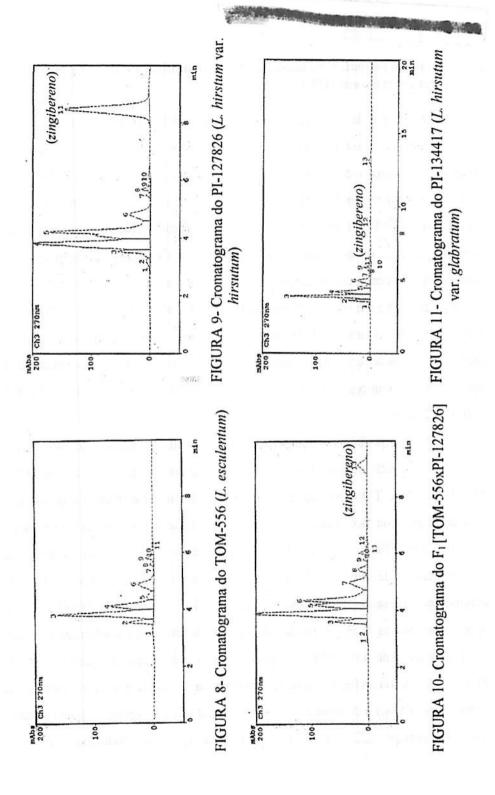
A metodologia colorimétrica de quantificação do zingibereno em aparelho espectofotômetro discriminou bem os genótipos vegetais testados quanto ao teor desta molécula, conforme os valores de absorbância que lhes foram registrados (Zingiber officinalis - 0,885; L. esculentum TOM-556 - 0,110; L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 - 0,989; F₁ TOM-556xPI-127826 - 0,719 e L. hirsutum var. glabratum PI-134417 - 0,264, respectivamente).

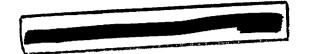
A quantificação de duas concentrações de zingibereno isolado de raízes de gengibre, feita em HPLC, revelou, respectivamente, 1.622.666 U.A. e 3.282.411 U.A. de pico para as concentrações 17,13 mM e 34,26 mM de zingibereno (pico 11, Figuras 4 e 5), comprovando a eficiência da cromatografia líquida de alta performance (HPLC) na quantificação do zingibereno. O tempo médio de retenção do pico do zingibereno foi de 8,83 minutos.

Para as condições empregadas no estudo de quantificação do zingibereno em HPLC, o pico referente à molécula (pico 11, Figuras 7 e 9, e pico 13, Figura 10) também teve um tempo médio de retenção de 8,83 minutos; este pico não foi constatado no cromatograma do hexano puro (Figura 6), tampouco nos tomateiros L. esculentum TOM-556 (Figura 8) e L. hirsutum var. glabratum PI-134417 (Figura 11). Os picos de 1 a 10 mostrados na Figura 6 provavelmente devam-se às impurezas presentes no hexano utilizado, não se descartando, também, a hipótese de outras substâncias terem sido extraídas pelo hexano. Contudo, essa hipótese parece ser pouco provável quando se compara o cromatograma do hexano (Figura 6) com o do extrato de TOM-556 (Figura 8). Nesta comparação, verificam-se praticamente os mesmos picos em ambos os cromatogramas, indicando a alta eficiência do hexano como extrator apenas do

zingibereno. O padrão raiz de gengibre obteve absorbância de 0,885 e uma maior unidade de área do pico (2.357.034 U.A. - pico 11, Figura 7). O genótipo PI-127826 obteve absorbância de 0,989 e 2.187.912 U.A. de pico (pico 11, Figura 9). Por outro lado, o genótipo TOM-556 obteve a menor absorbância (0,110), indicativo de traços bastante reduzidos de zingibereno, cujo pico foi imperceptível ao tempo de retenção de 8,83 minutos (Figura 8). O híbrido F₁ [TOM-556xPI-127826] obteve absorbância de 0,719 e 310.396 U.A. de pico (pico 13, Figura 10). O genótipo PI-134417 obteve absorbância de 0,264 e o pico (12) do zingibereno com 37.843 U.A. (Figura 11). Estes resultados indicam uma aparente associação entre o valor de absorbância do zingibereno e a unidade de área do pico dessa molécula determinada por HPLC, considerando genótipos contrastantes quanto ao teor dessa substância.







5.1.3 Associação entre metodologias de quantificação do zingibereno em espectofotômetro e em HPLC

O estudo da associação entre as metodologias de quantificação do zingibereno feita em espectofotômetro e HPLC foi realizado com os dados do ensaio de avaliação dos genótipos de tomateiro *L. esculentum* TOM-556, *L. hirsutum* var. hirsutum PI-127826, F₁ [TOM-556xPI-127826] e a linhagem de *L. esculentum* TOM-600 (Quadro 1). Os valores médios das absorbâncias e das unidades de área de pico, com seus respectivos desvios padrões, bem como os valores das porcentagens de zingibereno em cada genótipo, relativas ao valor do genótipo com alto teor de zingibereno (PI-127826), diferiram entre si pelo teste de Tukey (P<0,05) (Tabela 2). Verificou-se também, neste ensaio, que o tempo médio de retenção do zingibereno foi de 8,83 minutos, com pico perceptível apenas nos cromatogramas da introdução PI-127826 e do híbrido F₁ [TOM-556xPI-127826].

O genótipo TOM-600 apresentou baixos valores relativos de absorbância (18%) e de unidade de área de pico (23%), porém pouco superiores aos de TOM-556. O genótipo TOM-556 apresentou baixo valor de absorbância e de unidade de área de pico, respectivamente 12% e 9%, em relação aos valores do tomateiro silvestre PI-127826 (padrão 100%), que obteve os maiores valores de absorbância e de unidade de área de pico em função do elevado teor de zingibereno presente. O híbrido interespecífico F₁ [TOM-556xPI-127826] apresentou valores de absorbância e de unidade de área de pico intermediários aos dos parentais, e de 43% e 38%, respectivamente, em relação ao genitor superior PI-127826. As correlações genética, fenotípica e ambiental entre valores de absorbância (Abs.) e de unidades de área de pico (U.A.), foram, respectivamente, r_g = 0,85 (vâr r_g = 0,329, P<0,14), r_f = 0,84 e r_a = 0,40, indicando uma boa

associação entre a metodologia colorimétrica de quantificação rápida em aparelho espectofotômetro e HPLC.

TABELA 2. Valores médios de absorbância (Abs.), unidade de área de pico (U.A.) e respectivo desvio padrão ($\hat{\sigma}$) de 4 genótipos de tomateiro. Lavras: UFLA, 1999.

	espectofotômetro		HPLC		
Genótipos:	Abs. $(\pm\hat{\sigma})$	% relativa	U.A. $(\pm \hat{\sigma})$ % relativa		
TOM-600	0,142 (0,096) c	18	92,007 (173.711) c 23		
TOM-556	0,099 (0,095) c	12	36.520 (73.850) c 9		
PI-127826	0,790 (0,402) a	100	401.870 (259.292) a 100		
F ₁ [TOM-556xPI-27826]	0,337 (0,131) b	43	152.325 (90.321) b 38		

^{*/}Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

5.2 Validação de metodologia para quantificação de tricomas foliares em tomateiro

Na Tabela 3 encontram-se as estimativas de variâncias entre plantas, entre folíolos e entre cortes, bem como o número médio dos diferentes tipos de tricomas com respectivo desvio padrão para 4 genótipos de tomateiro. Encontram-se, também, nesta tabela, acompanhando cada variância estimada (onde houve presença de tricomas), a proporção de variância relativa à variância total. Portanto, toda inferência deverá ser feita analisando-se a variância estimada e sua respectiva proporção em relação à variância total.

TABELA 3. Estimativas dos componentes de variância entre plantas $(\hat{\sigma}_F^2)$, entre folíolos $(\hat{\sigma}_F^2)$ e entre cortes $(\hat{\sigma}_C^2)$; e número médio de tricomas/cm² de folíolo (nt) e respectivo desvio padrão $(\hat{\sigma})$, para tricomas foliares de 4 genótipos de tomateiro. Lavras: UFLA, 1999.

Tipos II+III+V	Tipo I	Tipo IV	Tipo VI	Tipo VII
	•	$\hat{\sigma}_P^2 = 0.000$	$\hat{\sigma}_P^2 = -0.008(0)$	$\hat{\sigma}_P^2 = 0.045 (3)$
$\hat{\sigma}_c^2 = 210,190 (95)$	$\hat{\sigma}_c^2 = 0,000$	$\hat{\sigma}_c^2 = 0,000$	$\hat{\sigma}_c^2 = 0.092 (100)$	$\hat{\sigma}_F^2 = 0,600 (42)$ $\hat{\sigma}_C^2 = 0,786 (55)$
$\hat{\sigma} = 1356,000$	$\hat{\sigma} = 0,000$	$\hat{\sigma} = 0,000$		
$\ddot{\sigma}_P^2 = 6,051 (80)$ $\dot{\sigma}_{-}^2 = 1,140 (15)$	•			$\hat{\sigma}_P^2 = 0.048 (25)$ $\hat{\sigma}_A^2 = 0.013 (7)$
$\hat{\sigma}_c^2 = 0.392 (5)$	$\hat{\sigma}_c^2 = 1,073 (97)$	$\hat{\sigma}_c^2 = 33,648 (16)$	$\hat{\sigma}_{c}^{2} = 0,668 (51)$	$\hat{\sigma}_{c}^{2} = 0,127 (68)$
$\hat{\sigma} = 328,000$	$\hat{\sigma} = 137,000$	$\hat{\sigma} = 1603,000$	nt = 159,000 $\hat{\sigma}$ = 179,000	$n\dot{t} = 129,000$ $\hat{\sigma} = 173,000$
			$\hat{\sigma}_{p}^{2} = 2,900 (24)$	$\hat{\sigma}_P^2 = 0{,}345 (56)$
$\hat{\sigma}_c^i = 123,932 (95)$	$\hat{\sigma}_{c}^{2} = 0,022 (44)$ $\hat{\sigma}_{c}^{2} = 0,026 (52)$			$\hat{\sigma}_F^2 = -0,002 (0)$ $\hat{\sigma}_C^2 = 0,275 (44)$
		nt = 367,000	nt = 41,000	
	$\hat{\sigma}_P^2 = 0,000$	$\hat{\sigma}_P^2 = 0,000 (0)$	$\hat{\sigma}_P^2 = 0.031 (11)$	$\hat{\sigma}_P^2 = 0,037 (23)$
		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		$\hat{\sigma}_{F}^{2} = -0.033(0)$
nt = 2798,000 $\hat{\sigma} = 2331,000$	nt = 0,000		nt = 64,000	$\hat{\sigma}_{c}^{2} = 0.121 (77)$ nt = 14,000 $\hat{\sigma} = 45,000$
	$\hat{\sigma}_{p}^{2} = -0.032 (0)$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = 10.535 (5)$ $\hat{\sigma}_{c}^{2} = 210.190 (95)$ $nt = 2369,000$ $\hat{\sigma} = 1356,000$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = 6.051 (80)$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = 1.140 (15)$ $\hat{\sigma}_{c}^{2} = 0.392 (5)$ $nt = 199,000$ $\hat{\sigma} = 328,000$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = 7.059 (5)$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = -22,669 (0)$ $\hat{\sigma}_{c}^{2} = 123,932 (95)$ $nt = 2322,000$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = -7.572 (0)$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = -7.572 (0)$ $\hat{\sigma}_{p}^{2} = 454,230 (94)$ $nt = 2798,000$	$\begin{array}{llll} \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& -0,032 \ (0) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,000 \ \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 10,535 \ (5) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,000 \ \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 210,190 \ (95) & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 0,000 \ \text{nt} &=& 2369,000 & \text{nt} &=& 0,000 \ \hat{\sigma} &=& 1356,000 & \hat{\sigma} &=& 0,000 \ \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 6,051 \ (80) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,029 \ (3) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,029 \ (3) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,029 \ (5) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& -0,206 \ (0) & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 0,392 \ (5) & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 1,073 \ (97) \ \text{nt} &=& 199,000 & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 1,073 \ (97) \ \text{nt} &=& 199,000 & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 1,073 \ (97) \ \text{nt} &=& 108,000 & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 1,073 \ (97) \ \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& -22,669 \ (0) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,002 \ (4) \ \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 123,932 \ (95) & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 0,022 \ (44) \ \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 123,932 \ (95) & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 0,026 \ (52) \ \text{nt} &=& 2322,000 & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,000 \ \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& -7,572 \ (0) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,000 \ \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 27,358 \ (6) & \hat{\sigma}_{p}^{2} &=& 0,000 \ \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 454,230 \ (94) & \hat{\sigma}_{c}^{2} &=& 0,000 \ \text{nt} &=& 0,000 \ \end{array}$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

Proporção de variância relativa à variância total (valor em %).

Os genótipos TOM-556 e TOM-600 de Lycopersicon esculentum apresentaram baixas variâncias entre plantas, indicando que o número de plantas avaliadas foi suficiente para uma boa quantificação de tricomas foliares, tratando-se de plantas com elevado grau de homozigose. Por outro lado, o genótipo L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 apresentou elevadas variâncias entre plantas, o que pode ser explicado pela existência de alguma taxa de alogamia neste acesso. Como consequência dessa alogamia presente em PI-127826, o híbrido F₁ desse genitor com TOM-556 também apresentou variâncias entre plantas, que foram superiores às do parental TOM-556 e TOM-600, geneticamente homozigotos. As variâncias entre foliolos foram geralmente superiores às variâncias entre plantas, mas inferiores às variâncias entre cortes, para os genótipos TOM-556 e TOM-600. Os genótipos PI-127826 e F₁ITOM-556xPI-127826] apresentaram, para a maioria dos tricomas quantificados, menores variâncias entre folíolos, comparadas às variâncias entre cortes. As variâncias entre cortes foram sempre superiores às variâncias entre foliolos e entre plantas nos genótipos TOM-556 e TOM-600, assim como as variâncias entre cortes foram, em sua maioria, superiores às variâncias entre folíolos nos genótipos PI-127826 e F1. Esses resultados indicam que as maiores variações encontradas na quantificação de tricomas foliares do tomateiro foram influências pelo número de cortes/foliolo, seguido do número de foliolos/planta. Uma atenção maior deve ser dada, portanto, ao número de folíolos e cortes amostrados. especialmente a este último em função da maior variação existente entre cortes amostrados, quando faz-se a quantificação dos tricomas foliares em tomateiro.

As amostragens 6 folíolos/planta e 2 cortes/folíolo (1ª amostragem) e 3 folíolos/planta e 6 cortes/folíolo (2ª amostragem) permitiram uma boa quantificação dos tricomas foliares, sendo preferível esta última em função do maior número de cortes/folíolo. Aragão (1998) realizou a quantificação de

tricomas foliares em tomateiro amostrando 2 folíolos/planta e 12 cortes/folíolo. O número médio de tricomas II+III+V, VI e VII encontrado pelo autor nos genótipos TOM-556 e TOM-600 são comparáveis aos encontrados neste estudo. Verificou-se, neste ensaio, que em L. esculentum predominaram os tricomas não glandulares II+III+V (TOM-556 - 2369 tricomas/cm² e TOM-600 - 2798 tricomas/cm²). Esses genótipos não apresentaram tricomas glandulares do tipo I e a densidade de tricomas tipo IV foram, respectivamente, nula (TOM-556) e baixa (TOM-600 - 6 tricomas/cm²). O genótipo TOM-556 apresentou 13 tricomas/cm² do tipo VI e 83 tricomas/cm2 do tipo VII, enquanto TOM-600 apresentou 64 tricomas/cm² tipo VI e 14 tricomas/cm² do tipo VII. A maior densidade de tricomas tipo VI em TOM-600 é resultado da seleção para alto teor de 2tridecanona a que foi submetida este genótipo (Barbosa, 1994; Labory, 1996 e Aragão, 1998). No genótipo PI-127826 predominou o tricoma tipo IV (3248 tricomas/cm²), sendo encontrados também os tricomas tipos II+III+V (199 tricomas/cm²), I (108 tricomas/cm²), VI (159 tricomas/cm²) e VII (129 tricomas/cm²). O híbrido F₁[TOM-556xPI-127826] também apresentou todos os tipos de tricomas foliares, com predominância dos não glandulares II+III+V (2322 tricomas/cm²). Quantificaram-se ainda, nesse híbrido, os tricomas de tipos I (10 tricomas/cm²), IV (367 tricomas/cm²), VI (41 tricomas/cm²) e VII (73 tricomas/cm²).

Segundo Carter e Snyder (1985), os tricomas IV e VI de L. hirsutum var. hirsutum estão associados à resistência ao ácaro Tetranychus urticae, motivo pelo qual esses tricomas têm sido amplamente estudados no gênero Lycopersicon. Estes tricomas, assim como o tricoma tipo I presente em PI-127826 e ausente em TOM-556, foram herdados pelo híbrido F₁ do cruzamento interespecífico L. esculentum TOM-556 X L. hirsutum var. hirsutum PI-127826, como se comprovou neste estudo.

Com relação às faces do folíolo (abaxial e adaxial), para os tricomas II+III+V, verificaram-se diferencas significativas (P<0.01) nos genótipos TOM-556, F1 [TOM-556xPI-127826] e TOM-600 (Tabela 4), sendo maior a densidade de tricomas na face abaxial do folíolo. No genótipo PI-127826 não se verificaram diferenças significativas quanto à densidade desses tricomas nas duas faces do folíolo. Para os tricomas tipo I, presentes somente no híbrido F1 e no parental PI-127826. verificou-se, apenas para este último genótipo, diferença significativa (P<0,05) quanto à densidade de tricomas nas faces do folíolo, sendo maior a densidade na face abaxial. O genótipo TOM-556 não apresentou tricomas tipo IV. ao passo que os genótipos PI-127826 e TOM-600 o apresentaram, todavia, sem haver diferencas significativas entre as densidades desse tricoma nas faces abaxial e adaxial. Já a densidade dos tricomas IV na face abaxial de folíolos do hibrido F₁ foi significativamente maior que a densidade encontrada na face adaxial (P<0.05). Os parentais TOM-556 e PI-127826, bem como a linhagem TOM-600, não apresentaram diferenças significativas quanto à densidade de tricomas VI nas faces dos folíolos. Por outro lado, a densidade de tricomas VI encontrada na face abaxial dos folíolos do híbrido F₁[TOM-556xPI-127826] foi significativamente superior à verificada na face adaxial (P<0,05). Quanto ao tricoma VII presente nos folíolos de TOM-556, PI-127826, F1[TOM-556xPI-127826] e TOM-600, verificou-se diferença significativa (P<0,01) entre as densidades de tricomas nas faces abaxial e adaxial apenas em PI-127826, sendo maior a densidade de tricomas VII na face abaxial do foliolo. Estes resultados não concordaram com os de Aragão (1998), que não verificou diferenças significativas para densidade de tricomas nas faces do foliolo, tendo estudado, no entanto, genótipos provenientes de outro cruzamento interespecífico. Neste estudo, porém, de um modo geral verificou-se uma predominância dos tricomas foliares na face abaxial do folíolo do tomateiro.

Tabela 4. Número médio de tricomas observados nas faces abaxial e adaxial de folíolos jovens de 4 genótipos de tomateiro. Lavras: UFLA, 1999.

Genótipos:	faces*	tipos:	tipo:	tipo:	tipo:	tipo:
_	[II+III+V	I	ĪV	VĪ	VII
		(nº/cm²)	(nº/cm²)	(n^{ϱ}/cm^2)	(n^{ϱ}/cm^2)	(n^2/cm^2)
TOM-556	abaxial=	3961 a	0	0	lla	10 a
	adaxial=	1561 Ъ	0	0	8 a	31 a
	Média=	2761	6	0	10	21
PI-127826	abaxial=	208 a	128 a	3002 a	181 a	78 a
	adaxial=	175 a	78 Ъ	2728 a	122 a	167 b
	Média=	192	103	2865	152	123
F ₁ TOM-556x	abaxial=	3392 a	14 a	511 a	56 a	131 a
PI-127826]	adaxial=	1789 в	3 Ъ	214 b	31 b	69 a
-	Média=	2591	9	363	44	100
TOM-600	abaxial=	5667 a	0	19 a	92 a	22 a
	adaxial=	2089 ъ	0	0 a	33 a	14 a
	Média=	3878	0	10	63	18

^{*} Valores seguidos de mesma letra na coluna, para cada genótipo, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

6 Conclusões

A introdução PI-127826 de L. hirsutum var. hirsutum pode ser utilizada como fonte de alto teor de zingibereno em programas de melhoramento do tomateiro visando resistência a artrópodes-praga;

Uma metodologia analítica colorimétrica rápida, de baixo custo e não destrutiva das plantas, foi estabelecida para determinação do zingibereno em folhas de tomateiro, obtendo-se uma alta correlação genética (85%) com o método padrão em HPLC; as etapas da metodologia colorimétrica rápida são: (a) extração do zingibereno em 4, 21 cm² de folíolos jovens de tomateiro em 2 mL de hexano, seguida de agitação por 40 segundos; (b) leitura do extrato em espectofotômetro a 270 nm;

O critério de amostragem de 3 folíolos/planta e 6 cortes/folíolo possibilita uma discriminação adequada de plantas de tomateiro com diferentes densidades de tricomas foliares;

A densidade de tricomas não glandulares tipos II+III+V nos foliolos de L. esculentum TOM-556 foi 2369 tricomas/cm², enquanto em L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 foram encontrados 3248 tricomas/cm²;

Verificou-se predominância dos tricomas foliares do tomateiro no lado abaxial do folíolo.

7 Referências Bibliográficas

- ANTONIOUS, G.F.; SNYDER, J.C. Trichome density and pesticide retention and half-life, Journal of Environmental Science and Health, New York, v.28, n.2, p.205-219, 1993.
- ARAGÃO, C.A. Tricomas foliares associados à resistência ao ácaro rajado em linhagens de tomateiro com alto teor de 2-tridecanona nos folíolos. Lavras: UFLA, 1998. 71p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- BARBOSA, L.V. Controle genético e mecanismos de resistência em Lycopersicon spp. à traça do tomateiro [Scrobipalpuloides absoluta (Meyrick, 1917) (Lep. Gelechiidae)]. Lavras: ESAL, 1994. 71p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- CAMPOS, G.A. Inter-relações entre teor de zingibereno, tipos de tricomas foliares e resistência a ácaros *Tetranychus evansi* em tomateiro. Lavras: UFLA, 1999. 65p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia).
- CARTER, C.D.; GIANFAGNA, T.J.; SACALIS, J.N. Sesquiterpenes in glandular trichomes of a wild tomato species and toxicity to the Colorado Potato beetle. Journal of Agricultural of Cultural and Food Chemistry, Washington, v.37, n.5, p.1425-1428, Sept./Oct., 1989.
- CARTER, C.D.; SACALIS, J.N.; GIANFAGNA, T.J. Resistance to Colorado Potato Bettle in relation to zingiberene contente of *Lycopersicon* species. Reports of Tomato Genetics Cooperative, New York, v.38, p.11-12, 1988.
- CARTER, C.D.; SACALIS, J.N.; GIANFAGNA, T.J. Zingiberene and Resistance to Colorado Potato Beetle in *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*. Journal of Agricultural of Cultural and Food Chemistry, Washington, v.37, n.1, p.206-210, Jan./Feb., 1989.
- CARTER, C.D.; SNYDER, J.C. Mite responses in relation to trichomes of *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum* F₂ hibrids. Euphytica, Netherlands, v.34, n.1, p.177-185, Mar., 1985.

- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 1994. 390p.
- EIGENBRODE, S.D.; TRUMBLE, J.T. Antibiosis to bett armyworn (Spodoptera exigua) in Lycopersicon acessions. Horticultural Science, Alexandria, v.28, n.9, p.932-934, Sept., 1993.
- EIGENBRODE, S.D.; TRUMBLE, J.T.; MILLAR, J.G.; WHITE, K.K. Topical toxicity of tomato sesquiterpenes to the beet armyworm and the role of these compounds in resistance derived from an accession of *Lycopersicon hirsutum* f. typicum. Journal of Agricultural of Cultural and Food Chemistry, Washington, v.42, n.3, p.807-810, 1994.
- FREITAS, J.A.; CARDOSO, M.G.; MALUF, W.R.; SANTOS, C.D.; NELSON, D.L.; COSTA, J.T.; SOUZA, E.C.; SPADA, L. Identificação do sesquiterpeno zingibereno, aleloquímico responsável pela resistência à *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) na cultura do tomateiro. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.22, n.4, p.483-489, Out./Dez., 1998.
- GIANFAGNA, T.J.; CARTER, C.D.; SACALIS, J.N. Temperature and Photoperiod Influence Trichome Density and Sesquiterpene Content of Lycopersicon hirsutum f. hirsutum. Plant Physiology, Lancaster, v.100, n.3, p.1403-1405, 1992.
- GOFFREDA, J.C.; MUTSHLER, M.A.; AVÉ, D.A.; TINGEY, W.M.; STEFFENS, J.C. Aphid deterrence by glucose esters in glandular trichome exudate of wild tomato, *Lycopersicon permellii*. Journal of Chemical Ecology, New York, v.15, p.2135-2147, 1989.
- GONÇALVES, M.I.F. Variação no teor de 2-tridecanona em folíolos de tomateiro e sua relação com a resistência a duas espécies de ácaros do gênero *Tetranychus*. Lavras: UFLA, 1996. 63p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)

- GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R. Aspectos biológicos e parasitismo de ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-tridecanona nos folíolos. Lavras: UFLA, 1998. 71p. (Dissertação Mestrado em Entomologia)
- GOOD, D.E.; Jr; SNYDER, J.C. Seasonal variation of leaves and mite resistence of Lycopersicon interespecific hybrids. HortScience, Alexandria, v.23, n.5, p.891-894, Oct., 1988.
- JENSEN, W.A. Botanical histochemistry: principles and pratice. San Francisco: W. H. Freeman, 1962. 408p.
- LABORY, C.R. Repetibilidade, herdabilidade no sentido restrito e mecanismo de resistência do teor do aleloquímico 2- Tridecanona em Lycopersicon spp. À traça do tomateiro Scrobipalpuloides absoluta (Meyrick, 1917) Lepidoptera Gelechiidae. Lavras: UFLA, 1996. 59p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- LIEDL, B.E.; LAWSON, D.M.; WHITE, K.K.; SHAPIRO, J.A.; COHEN, D.E.; CARSON, W.G.; MUTSCHLER, M.A. Acylsugars of wild Tomato Lycopersicon pennellii alters settling and reduces ovposition of Bemisia argentifolii (Homoptera: Aleyrodidae). Entomological Society of America, Lanham, v.88, n.3, p.742-748, 1995.
- LUCKWILL, L.C. The genus *Lycopersicon*: an historical, biological, and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes. Aberdeen: Aberdeen University Press, 1943, n.120, 44p.
- NIENHUIS, J.; KLOCKE, J.; LOCY, R.; BUTZ, A.; BALANDRIN, M. Colorimetric assay for 2-tridecanone mediated insect resistance in *Lycopersicon* species. HortScience, Alexandria, v.20, n.3, p.590, June 1985.
- RESENDE, J.T.V. Teores de acilaçúcares mediadores da resistência a pragas e sua herança em folíolos de tomateiro, obtidos a partir do cruzamento interespecífico Lycopersicon esculentum x L. pennellii. Lavras: UFLA, 1999. 56p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia)

- SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, TC. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1994. 387p.
- SNYDER, J.C.; JOHNSON, D.A.; GOOD, D.E.; WESTON, P.A. Type VI trichome exudats from genotypes of *L. hirsutum* f. glabratum. Reports of Tomato Genetics Cooperative, New York, v.37, p.67-68, 1987.
- WESTON, P.A.; JOHNSON, D. A.; BURTON, H.T.; SNYDER, J.C. Trichome secretion composition, trichome densities, and spider mite resistance of tem accessions of *Lycopersicon hirsutum*. Journal of the American Society for Horticultural Science, Mount Vernon, v.114, n.3, p.492-498, 1989.

CAPÍTULO 3

Controle genético do teor de zingibereno e tricomas glandulares em tomateiro, e suas inter-relações com a resistência à mosca branca *Bemisia* spp.

1 Resumo

As populações de tomateiro L. esculentum TOM-556 (P1), L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 (P2), F1 (P1xP2) e F2 (P1xP2), foram utilizadas em estudos de herança das características teor de zingibereno e densidade de tricomas tipos I, IV, VI e VII. Inicialmente foram estimadas as herdabilidades no sentido amplo, seguidas dos testes do modelo genético aditivo-dominante e da hipótese de heranca monogênica para cada uma das características. Correlações entre teor de zingibereno e densidade de tricomas de tipos I, IV, VI e VII também foram estimadas, e a resistência à Bemisia spp. foi avaliada em plantas selecionadas para alto teor de zingibereno. Para quantificação do zingibereno foram utilizadas 45, 50, 50 e 295 plantas, respectivamente, das populações P₁, P₂, F₁ e F₂; e 9, 10, 10 e 200 plantas, dessas respectivas populações, para a quantificação dos tricomas de tipos I, IV, VI e VII. As herdabilidades de 0,68, 0.83, 0.99, 0.78 e 0.72 foram estimadas, respectivamente, para teor de zingibereno e densidade dos tricomas I, IV, VI e VII, indicando que para essas características a seleção individual de plantas é eficiente. O teor de zingibereno possui heranca monogênica, não se excluíndo a existência de genes modificadores: a ação gênica é de dominância incompleta no sentido de menor teor da substância, em que alelos recessivos condicionam os maiores teores. Tricomas glandulares de tipos I, IV, VI e VII possuem herança simples, com ação gênica de dominância incompleta no sentido de menor densidade. Esses tricomas apresentaram correlações positivas com teor de zingibereno, destacando-se os de tipos IV e VI, de maiores correlações genéticas 0,51 e 0,83, respectivamente, indicando que a seleção indireta para tricomas glandulares também pode ser usada quando se desejam plantas com zingibereno. Este aleloquímico derivado de L. hirsutum var. hirsutum contribuiu efetivamente para aumentar o grau de resistência do tomateiro à mosca branca.

Genetic control of the zingiberene content and glandular trichomes in tomato plants and its relationship with resistance to the silverleaf whitefly

2 Abstract

Tomato populations L. esculentum TOM-556 (P1), L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 (P2), F1 (P1xP2) and F2 (P1xP2) were utilized in inheritance studies of zingiberene content and densities of types I, IV, VI and VII trichomes. Broad-sense heritabilities, and tests of the dominant-additive genetic models and of the monogenic inheritance hypothesis were studied for each trait. Correlations between zingiberene content and trichome types I, IV, IV and VII density were estimated and the resistence to Bemisia spp. was evaluated on plants selected for high zingiberene content. For the quantification of zingiberene were utilized 45, 50, 50 and 295 plants, respectively, from the populations P1, P2, F1 and F2; and 9, 10, 10 and 200 plants from those populations for the quantification of the type I, IV, VI and VII trichomes. Heritabilities of 0.68, 0.83, 0.99, 0.78 and 0.72 were estimated respectively for the zingiberene content and density of trichomes I, IV, VI and VII, inidicating that the selection for those characteristics is efficient at the level of individual plants. Zingiberene content showed a monogenic inheritance, with possible modifiers genes; gene action is of partial dominance in the direction of lower content of the substance, where recessive alleles are responsable the greatest contents. Glandular trichomes of types I, IV, VI and VII possess simple inheritance, with partial dominance in the direction of lower trichome density. Positive correlations were found between glandular trichome density and zingiberene content (especially for types IV and VI trichomes, where correlations were 0.51 and 0.83 respectively). This indicates that selection for high number of glandular trichomes is a good indicator of high zingiberene content. The sesquiterpene zingiberene contributed effectively for an increased degree of tomato plant resistance to whiteflies.

3 Introdução

A obtenção de cultivares resistentes a insetos-praga é mais rápida quando a fonte de resistência já se encontra em germoplasma adaptado. Todavia, em muitos casos isso não é possível, aumentando o tempo necessário para se atingir esse objetivo. O tempo médio de obtenção de uma cultivar resistente varia principalmente em função da espécie vegetal e do grau de adaptação por ela apresentada. No gênero *Lycopersicon* existem pelo menos nove espécies reconhecidas taxonomicamente (Rick, 1978) e algumas são tidas como reservatórios de genes envolvidos na defesa da planta a insetos-praga. No entanto, a maioria destas espécies de tomateiro não possuem valor comercial imediato, decorrente das muitas características agronômicas indesejáveis que apresentam.

No gênero Lycopersicon, os taxons L. esculentum (espécie cultivada), L. esculentum var. cerasiforme, L. pimpinellifolium e L. cheesmanii apresentam compatibilidade bilateral entre si. Já as espécies L. parviflorum, L. chmielewskii, L. hirsutum var. hirsutum e var. glabratum, L. pennellii, L. chilense e L. peruvianum possuem compatibilidade unilateral com L. esculentum, sendo as duas últimas de maior dificuldade de cruzamento com L. esculentum, ainda que este seja o genitor feminino. A dificuldade inicial de obtenção de cultivares resistentes reside na obtenção de sementes de hibridos interespecíficos, quando um dos genitores possui o mecanismo de incompatibilidade cruzada, com L. esculentum (caso de L. chilense e L. peruvianum). Contribui para a dificuldade o fato de alguns taxons (como L. hirsutum var. hirsutum) serem auto-incompatíveis e alógamos, o que pode levar à seleção de plantas auto-incompatíveis em populações segregantes. Como consequência, os estudos genéticos para as características encontradas em genótipos auto-incompatíveis ficam dificultados até que os alelos que condicionam os fenótipos das características de interesse

estejam fixados em um germoplasma adaptado. Ainda assim, pesquisas no sentido de transferir alelos do tomateiro silvestre para tomateiro cultivado têm contribuído para elucidar o controle genético de algumas características envolvidas na resistência aos insetos-praga. Nienhuis et al. (1985) realizaram o cruzamento interespecífico entre *L. esculentum* e *L. hirsutum* var. glabratum (um acesso auto-compatível) e selecionaram plantas F₂ com altos teores da 2-tridecanona, indicando que os alelos responsáveis pela produção dessa substância são ativos em populações segregantes. Espécies como *L. hirsutum* var. glabratum (Barbosa, 1994), *L. pennellii* (Resende, 1999) e *L. hirsutum* var. hirsutum têm sido estudadas para se conhecer a forma de atuação dos genes responsáveis pela resistência a artropódes-praga.

O zingibereno presente, dentre outros, no acesso PI-127826 de L. hirsutum var. hirsutum (Weston et al., 1989), tem sido estudado quanto à sua ação na resistência do tomateiro aos insetos-praga. Os possíveis efeitos deste aleloquímico na biologia da mosca branca ainda não são bem conhecidos, embora efeitos antibióticos em Spodoptera exigua (Lepidoptera, Noctuidae) (Eigenbrode e Trumble, 1993) e efeitos antixenóticos em ácaros T. urticae (Guo, Weston e Snyder, 1993) e T. evansi (Campos, 1999) tenham sido relatados. A adversidade na biologia de B. tabaci (Channarayappa et al., 1992) e a repelência para oviposição de B. argentifolii (Heinz e Zalom, 1995) explicariam a resistência de tomateiro contendo zingibereno.

A herança da presença ou ausência do zingibereno, composto do grupo dos terpenos que condiciona a resistência de tomateiros a insetos-praga (Guo, Weston e Snyder, 1993), foi estudada por Rahimi e Carter (1993) utilizando as espécies L esculentum, L hirsutum var. hirsutum e var. glabratum. Estes autores concluiram que a presença ou ausência de zingibereno era controlada por um loco gênico com três alelos diferentes de uma série alélica ($Z^2 > Z^1 > Z^3$).

sendo, respectivamente, Z^2 de L. hirsutum var. glabratum, Z^1 de L. hirsutum var. hirsutum e Z^3 de L. esculentum. O alelo Z^1 que condiciona a presença de zingibereno é recessivo relativamente a Z^2 e dominante relativamente a Z^3 , ambos condicionadores de ausência de zingibereno nos cruzamentos com L. hirsutum var. glabratum e L. esculentum, respectivamente. O modelo proposto não exclui, no entanto, a possibilidade de existência de outros locos gênicos responsáveis pelas amplas variações no teor de zingibereno entre as plantas que o possuissem.

O conhecimento da base genética e das causas e mecanismos da resistência a artrópodes-praga pode contribuir para aumento da eficiência nos programas de melhoramento genético do tomateiro com vistas a obter cultivares resistentes. Deste modo, o presente trabalho pretende estudar a herança do teor de zingibereno e da densidade de tricomas foliares em população segregante proveniente do cruzamento interespecífico *L. esculentum* TOM-556 *X L. hirsutum* var. hirsutum PI-127826; quantificar os tipos de tricomas presentes nas plantas do referido cruzamento e suas inter-relações com o teor de zingibereno; verificar o possível efeito do zingibereno na resistência de plantas de tomateiro à mosca branca *Bemisia* spp.; e analisar se há possibilidades de se obter ganhos genéticos relativos à resistência a artrópodes-praga por meio da seleção indireta de plantas para características a ela associadas.

4 Material e Métodos

4.1 Herança do teor de zingibereno e da densidade de tricomas foliares em tomateiro

4.1.1 Estimação de herdabilidade para teor de zingibereno e densidade de tricomas foliares

Os valores de absorbância do zingibereno e do número de tricomas foliares de tipos II+III+V, I, IV, VI e VII foram utilizados na escala original para as estimativas de herdabilidade no sentido amplo. Utilizaram-se os dados de 45, 50, 50 e 295 plantas, respectivamente, das populações TOM-556 (P₁), PI-127826 (P₂), F₁ (P₁xP₂) e F₂ (P₁xP₂) (Quadro 1) (Capítulo 2), para as estimativas de herdabilidade do teor de zingibereno. Para estimativas de herdabilidades da densidade de tricomas foliares, utilizaram-se 9, 10, 10 e 200 plantas, respectivamente, das populações TOM-556 (P₁), PI-127826 (P₂), F₁ (P₁xP₂) e F₂ (P₁xP₂).

Inicialmente, estimaram-se as médias e variâncias fenotípicas de P₁ (TOM-556), P₂ (PI-127826), F₁ [TOM-556xPI-127826] e F₂, bem como as variâncias ambiental e genética, para teor de zingibereno e densidade de tricomas não glandulares (II+III+V) e glandulares (I, IV, VI e VII). A estimativa da variância ambiental foi obtida considerando a média geométrica das variâncias ambientais, dada pela raiz cúbica do produto das variâncias das populações P₁, P₂ e F₁ (Mather e Jinks, 1984), em função das altas discrepâncias das variâncias entre os parentais. De posse dos valores das variâncias, estimaram-se as herdabilidades no sentido amplo (Warner, 1952) e os erros a elas associados (Vello e Vencovsky, 1974) (Quadro 2), para as seis características consideradas.

QUADRO 2. Expressões de estimação dos valores de herdabilidade e de seu erro associado

Herdabilidade no sentido amplo (Warner, 1952).

$$h_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_{F_2} - \hat{\sigma}_E}{\hat{\sigma}_{F_2}}$$

Erro associado à estimativa da herdabilidade (Vello e Vencovsky, 1974).

$$s_{\left(h_{a}^{2}\right)} = \left\{ \frac{2}{9} \left[\frac{1}{\left(\hat{\sigma}_{F_{2}}^{2}\right)^{2}} \left(\frac{\left(\hat{\sigma}_{F_{1}}^{2}\right)^{2}}{n_{1}+2} + \frac{\left(\hat{\sigma}_{F_{2}}^{2}\right)^{2}}{n_{2}+2} + \frac{\left(\hat{\sigma}_{F_{1}}^{2}\right)^{2}}{n_{3}+2} \right) + \left(\frac{1}{n_{4}+2} \right) \left(3 - h_{a}^{2}\right)^{2} \right] \right\}^{\frac{1}{2}}$$

4.1.2 Teste do modelo genético aditivo-dominante e da hipótese de herança monogênica para teor de zingibereno e densidade de tricomas I, IV, VI e VII

Utilizaram-se, para o teste do modelo genético aditivo-dominante (teste de escala conjunto), os valores de absorbância relativos ao teor de zingibereno e os do número de tricomas glandulares tipos I, IV, VI e VII. Não se utilizaram os valores do número de tricomas não glandulares (II+III+V) em virtude destes tricomas não estarem associados à causa química da resistência do tomateiro a artrópodes-praga (Guo, Weston e Snyder, 1993).

Com base no modelo genético aditivo-dominante proposto por Cavalli, apresentado por Mather e Jinks (1984), realizou-se o teste de escala conjunto para estimativa dos parâmetros [m], [a] e [d] (Rowe e Alexander, 1980). Estes foram estimados pelo método dos quadrados mínimos ponderados (Mather e Jinks 1984), servindo como peso a razão inversa da variância de cada população. As estimativas dos erros associados para cada parâmetro [m], [a] e [d] foram obtidas extraíndo-se a raiz quadrada do produto de χ^2 versus o respectivo valor contido na diagonal da matriz informação, dividido pelo número de graus de liberdade (Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993).

Após a obtenção das estimativas de [m], [a] e [d], calcularam-se, para as populações P_1 , P_2 , F_1 e F_2 , os valores esperados (segundo o modelo) das características teor de zingibereno e densidade de tricomas tipos I, IV, VI e VII. Para testar o ajuste do modelo genético aditivo-dominante, aplicou-se um teste de χ^2 (com 1 grau de liberdade) a fim de verificar sua significância. Posteriormente, foi estimado o grau médio de dominância (GMD=[d]/[a]).

A distribuição de frequências de plantas quanto ao teor de zingibereno e densidade de tricomas tipos I, IV, VI e VII foi determinada, para cada população, escolhendo-se um ponto de truncagem, abaixo do qual se situassem a maioria das plantas do genitor P₁, e acima do qual se situassem a maioria das plantas do genitor P₂. Sob vários graus médios de dominância presumidos, foi testada a hipótese de herança monogênica, segundo Maluf, W.R. e adotado por Resende (1999), baseando-se nas seguintes premissas:

- (a) A distribuição dos fenótipos de cada caráter nas populações P₁, P₂, F₁
 e F₂ segue uma distribuição normal;
- (b) Para cada uma das populações parentais, a média verdadeira de P_1 e P_2 foi considerada igual à respectiva média estimada, e a variância verdadeira considerada igual à respectiva variância estimada a partir dos dados experimentais;
- (c) Com base nas respectivas curvas normais, foram calculadas as frequências de plantas em P₁ e P₂ com teores de zingibereno e densidade de tricomas, menores ou iguais ao ponto de trucagem (PT) (admitindo como sendo PT= 0,3 unidades de absorbância para o zingibereno; PT= 20 tricomas tipo I/cm² folha; PT= 400 tricomas tipo IV e VI/cm² folha; e PT= 100 tricomas tipo VII/cm² folha);

- (d) A média verdadeira da população F_1 foi admitida como sendo F_1 = $(P_1+P_2)/2 + GMD \cdot (P_2-P_1)/2$, e a variância verdadeira da população F_1 foi admitida como sendo igual à respectiva variância estimada;
- (e) Com base na distribuição normal da população F₁, foi calculada, para esta população, a frequência de plantas com valores ≤ PT;
- (f) Sob a hipótese de herança monogênica, a frequência esperada de plantas em F_2 , com valores \leq PT, foi calculada como sendo a média ponderada das frequências esperadas em P_1 , F_1 e P_2 (com pesos 1, 2 e 1, respectivamente);
- (g) As frequências das plantas com valores \leq PT obtidas para (P_1 e P_2 item "c"), F_1 (itens "d" e "e") e F_2 (item "f") foram multiplicadas pelo número de plantas avaliadas em cada população, obtendo-se, assim, o número esperado de plantas com valores \leq PT sob a hipótese de herança monogênica em diferentes graus médio de dominância considerados;
- (h) Os números esperados de plantas com valores \leq PT, para (P₁+P₂+F₁) e F₂, foram comparados com os números efetivamente obtidos em cada população, verificando-se a significância dos desvios pelo teste de chi quadrado (χ^2) com 1 grau de liberdade; a soma das frequências em P₁, P₂ e F₁ foi feita em virtude de se terem frequências esperadas nulas nestas populações;
- (i) A significância do valor de χ^2 obtido levará à rejeição da hipótese de herança monogênica, sob o grau de dominância considerado. Por outro lado, a não significância de χ^2 levará à não rejeição dessa hipótese, admitindo-se, então, a possibilidade de tratar-se de herança monogênica, sob o GMD considerado.

O número de gene (s) envolvido (s) no controle das cinco características avaliadas foi estimado de acordo com Burton (1951) (Quadro 3), e comparado ao teste da hipótese de herança monogênica, a exemplo do realizado por Resende (1999).



QUADRO 3. Expressões de estimação do número de genes

Número de genes (Burton, 1951).

$$n = \frac{\frac{1}{4} \left(\frac{3}{4} - h + h^2 \right) D^2}{\hat{\sigma}_{F_2} - \hat{\sigma}_E}; \quad h = \frac{\overline{F}_1 - \overline{P}_1}{\overline{P}_2 - \overline{P}_1} \quad e \ D = \overline{P}_2 - \overline{P}_1$$

n: número de genes;

 \overline{P}_1 , \overline{P}_2 e \overline{F}_1 : médias gerais dos parentais P_1 , P_2 e F_1 , respectivamente.

$$\hat{\sigma}_E^2 = \sqrt[3]{\hat{\sigma}_{P_1}^2 \times \hat{\sigma}_{P_2}^2 \times \hat{\sigma}_{F_1}^2}$$

 $\hat{\sigma}_{F_2}^2$: variância fenotípica de F_2

4.2 Estimação de correlações fenotípicas, ambientais e genéticas entre teor de zingibereno e densidade de tricomas foliares em tomateiro

Plantas dos tomateiros *L. esculentum* TOM-600 e TOM-556 (P₁), *L. hirsutum* var. *hirsutum* PI-127826 (P₂), TOM-556xPI-127826 (F₁) e F₂ (Quadro 1) (Capítulo 2) foram avaliadas quanto ao teor de zingibereno e a densidade de tricomas na matriz foliar a fim de se estudar as correlações existentes entre esses caracteres. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 204 genótipos, sendo, respectivamente, 10, 9, 10 e 10 plantas dos genótipos TOM-600, TOM-556, PI-127826 e F₁, e 1 planta de cada um dos 200 genótipos F₂. Foram feitas duas baterias de análises colorimétricas do zingibereno, em aparelho espectofotômetro, utilizando-se extrato de folíolos com 50 dias de idade, conforme metodologia descrita no Capítulo 2. Para a quantificação dos tricomas foram amostrados folíolos jovens das mesmas plantas analisadas pelo método colorimétrico. Para este fim, empregou-se a metodologia adaptada por Aragão (1998), e a amostragem de 3 folíolos/planta e 6 cortes/folíolo (Capítulo 2) foi feita quantificando-se os tricomas não glandulares (II+III+IV) e glandulares (I, IV, VI e VII) (Luckwill, 1943). Devido à condição de desbalanceamento do



número de plantas de cada genótipo, foi estimada uma média harmônica "k", indicativa do número médio de plantas avaliadas em cada genótipo (repetições). As correlações fenotípicas (r_f) e ambientais (r_a) foram estimadas de acordo com Cruz e Regazzi (1994), e as genótípicas (r_g) de acordo com Falconer (1987) em virtude de se ter avaliado uma única planta de cada um dos 200 genótipos da população F₂. A estimação dos erros associados às estimativas da correlação genética [Vâr_(rg)] foi feita de acordo com Vencovsky e Barriga (1992). As expressões utilizadas nessas estimações encontram-se no Quadro 4.

QUADRO 4. Expressões utilizadas nas estimativas da média harmônica, das correlações fenotípica, ambiental e genética, e do erro associado à correlação genética.

```
Média harmônica "k".
           K=1/I-1[N-(\sum n^2)/N]
           K: média harmônica das repeticões:
           I: nº de genótipos (I=204);
           N: nº total de plantas (N=239):
           n<sub>i</sub>: nº de repetições do genótipo i (i=1, ..., 204).
 Correlações fenotípica e ambiental (Cruz e Regazzi, 1994).
           Correlação fenotípica r_f = PMT_{XY} / (QMT_X \cdot QMT_V)^{0.5}
           Correlação ambiental r_a = PMR_{XY}/(QMR_X \cdot QMR_Y)^{0.5};
           PMT_{XY} = (QMT_{X+Y} - QMT_X - QMT_Y) / 2
           PMR_{XY} = (QMR_{X+Y} - QMR_X - QMR_Y) / 2;
           QMT: quadrado médio dos tratamentos:
           QMR: quadrado médio dos resíduos;
          x e y: assumem valores das variáveis consideradas na correlação.
Correlação genética (Falconer, 1987).
          Correlação genotípica r_g = r_f - (e_x e_v r_a) / (h_x^2 h_v^2);
          r<sub>f</sub>: correlação fenotípica:
          r<sub>a</sub>: correlação ambiental:
          e_x = (1 - h_x^2)^{0.5};
          e_y = (1 - h_y^2)^{0.5};
          h<sup>2</sup>x: herdabilidade no sentido amplo da variável x;
          h<sup>2</sup>v: herdabilidade no sentido amplo da variável y.
Erro associado à estimativa da correlação genética (Vencovsky e Barriga, 1992).
          Var(r_g) = \{1/g_1 b^2 t_1 t_2 [1+(b-1) t_1] [1+(b-2) t_2 + r_f^2]\} +
                       \{1/g_2b^2t_1t_2[(1-t_1)(1-t_2)+r_1^2]\}:
          g<sub>1</sub>, g<sub>2</sub>: nº de G.L. relativos à tratamentos e resíduo, respectivamente:
          b: nº de repetições do ensaio (média harmônica k= 1,165);
          t_1 = \sigma_{xx}^2 / \sigma_{xx}^2 + \sigma_{ex}^2;
         t_{z} = \sigma_{gy}^{2} / \sigma_{gy}^{2} + \sigma_{ey}^{2};
t_{f} = \sigma_{gxy}^{2} + \sigma_{exy}^{2} / [(\sigma_{gx}^{2} + \sigma_{ex}^{2}) (\sigma_{gy}^{2} + \sigma_{ey}^{2})]^{0.5}.
```

4.3 Resistência de plantas de tomateiro à mosca branca *Bemisia* spp. e sua relação com o teor de zingibereno nos folíolos

Em um primeiro ensaio utilizaram-se os genótipos de tomateiro TOM-556, PI-127826, BPX-368#92, BPX-368#250, BPX-368#179 e LA-716 (Quadro 1, Capítulo 2) para avaliação da resistência à mosca branca. Cinco clones desses genótipos foram cultivados em vasos plásticos com capacidade de 5 L de substrato, sob estufa plástica, em delineamento inteiramente casualizado, na Fazenda Experimental do Gorutuba, em Nova Porteirinha, MG. As plantas foram mantidas em casa de vegetação e protegidas das infestações de mosca branca dentro de gaiolas vedadas com tecido voil, até uma semana antes das avaliações, iniciadas quando as plantas atingiram 50 cm de altura. A infestação com mosca branca Bemisia spp. foi natural. De acordo com Vilas Bôas et al. (1997), na ausência de B. tabaci pode-se inferir que a espécie B. argentifolii esteja presente quando ocorrem os sintomas de prateamento nas folhas de Cucurbita spp., conforme foram verificados nas folhas de C. moschata, aos redores da casa de vegetação onde foi instalado o experimento. As avaliações do número de adultos presentes em cada genótipo foram realizadas durante oito dias consecutivos, com o auxílio de uma sacola plástica transparente, acoplada à abertura no ápice de uma gaiola de madeira vedada da luz (50cm x 80cm).

Posteriormente, num segundo ensaio, foram avaliadas duas plantas dos genótipos TOM-556, PI-127826, BPX-368#92, BPX-368#105, BPX-368#179, BPX-368#250, PI-134417, TOM-600, LA-716 e LA-3473 (Quadro 1, Capítulo 2), que foram cultivadas nas mesmas condições experimentais descritas anteriormente. A infestação das plantas com mosca branca *Bemisia* spp. também foi natural, e as avaliações do número de ninfas do inseto (sem separação das fases) foram feitas em cinco folíolos/planta (4 cm²/folíolo), durante sete dias.

5 Resultados e Discussão

- 5.1 Herança do teor de zingibereno e da densidade de tricomas foliares em tomateiro
- 5.1.1 Estimativas de herdabilidades para teor de zingibereno e densidade de tricomas foliares

As características teor de zingibereno - zgb e densidade de tricomas II+III+V, I, IV, VI e VII possuem herdabilidade alta (0,678 - zgb; 0,888 - tipos II+III+V; 0,831 - tipo I; 0,996 - tipo IV; 0,799 - tipo VI e 0,717 - tipo VII) (Tabela 5), permitindo dizer que a seleção individual de plantas com base nestas características pode ser bastante eficiente. O envolvimento do zingibereno e tricoma VI na resistência a artrópodes-praga (Weston et al., 1989; Gianfagna, Carter e Sacalis, 1992; Guo, Weston e Snyder, 1993) sugere que a seleção de plantas com elevado teor da substância, ou com maior número desse tricoma, poderá levar a ganhos genéticos satisfatórios no melhoramento do tomateiro visando resistência a artrópodes-praga. Os dados obtidos sugerem que os tricomas tipos IV e VII, notadamente os primeiros, também variam no mesmo sentido que o teor de zingibereno, de maneira que a afirmativa também pode ser estendida para estes tipos de tricomas. As altas herdabilidades no sentido amplo indicam que a grande parte da variação para estas caracterísitcas entre plantas na população F2 é de natureza genética, o que permitiria ganhos genéticos satisfatórios, a exemplo do obtido na seleção indireta de plantas com alto teor de 2-tridecanona (Barbosa e Maluf, 1996) a partir de cruzamentos com L. hirsutum var. glabratum. Para que os ganhos com a seleção indireta de plantas resistentes a artrópodes-praga sejam satisfatórios, a herdabilidade para o caráter associado à resistência deve ser maior que a herdabilidade da própria resistência medida diretamente com o inseto, sob iguais intensidades de seleção (Falconer, 1987).

TABELA 5. Valores de herdabilidades no sentido amplo e respectivos desvios para absorbância de zingibereno (zgb) e densidade de tricomas (II+III+V), (I), (IV), (VI) e (VII). UFLA: Lavras, MG, 1999.

Estimativas:	zgb	II+III+V	I	IV	VI	VII
h _a (original)	0,678	0,888	0,831	0,996	0,799	0,717
$s(h_a^2)$	(0,608)	(0,110)	(0,119)	(0,072)	(0,130)	(0,106)

Assim, os altos valores de herdabilidades estimadas (Tabela 5) podem refletir em ganhos genéticos satisfatórios para resistência a artrópodes-praga quando for feita a seleção indireta de plantas com alto teor de zingibereno e/ou alta densidade de tricomas glandulares.

5.1.2 Teste do modelo genético aditivo-dominante e da hipótese de herança monogênica para teor de zingibereno e densidade de tricomas I, IV, VI e VII

5.1.2.1 Teste do modelo aditivo-dominante e da herança monogênica para teor de zingibereno

O modelo genético aditivo-dominante (ausência de epistasia) sob hipótese pode ser aceito para explicar a independência dos efeitos gênicos envolvidos no controle desse caráter (χ²= 0,04), em que o grau médio de dominância pontual estimado foi de -0,66 (Tabela 6). A distribuição de frequências dos teores de zingibereno em plantas F₁ também suporta a idéia de dominância que ocorre no sentido do genitor TOM-556, cujas plantas apresentaram baixos teores de zingibereno, contrário ao genitor PI-127826 (Figura 12). Na população F₂ houve predominância de plantas com baixos teores de zingibereno, o que também pode ser reflexo da dominância do (s) alelo (s) que condicionam esse fenótipo. Os resultados indicam uma ação gênica predominantemente de dominância parcial no sentido de menores teores de zingibereno.

TABELA 6. Estimativas dos componentes de médias e teste do chi-quadrado de validade do modelo genético aditivo-dominante do cruzamento L. esculentum X L. hirsutum var. hirsutum; e número estimado de genes para as características teor de zingibereno (zgb) e densidade de tricomas (I), (IV), (VI) e (VII). UFLA: Lavras, MG, 1999.

	zgb	I	IV	VI	VII
Populações:		Mé	dias observadas		
TOM-556	0,081	0,000	0,622	50,000	69,156
PI-127826	0,830	20,560	487,220	442,790	127,770
$\mathbf{F_i}$	0,181	2,230	38,330	261,090	111,680
F ₂	0,244	14,840	363,612	322,663	115,975
[m]	0,3744	11,8416	247,5315	251,8159	98,7122
	(±0,0739)	(±4,9383)	(±21,9307)	(±26,5889)	(±2,3159)
[a]	0,2934	10,2800	246,9090	201,7798	29,4710
	(±0,0739)	(±5,1794)	(±21,9307)	(±26,5942)	(±2,3235)
[d]	-0,1948	-6,4884	-209,1740	11,0585	13,5066
	(±0,0768)	(±8,8339)	(±22,2195)	(±31,4530)	(±4,1448)
χ²	0,04 ^{ns}	8,03 *	340,75	16,85 *	1,05 ^{ms}
GMD= [d]/[a]	-0,66	-0,63	-0,85	0,05	0,45
n° estimado de genes	14,2	0,2	0,3	1,1	0,1

m e ° 7 não significativo e significativo ao nível de 5%, respectivamente; GMD: grau médio de dominância.

A hipótese de herança monogênica também foi aceita na faixa de GMD que vai de -1,2 a -0,8 (Figura 13), embora a estimativa de Burton (1951) (cuja estimativa de erro é desconhecida) tenha indicado que o número de genes controlando o caráter seja 14 (Tabela 6). Rahimi e Carter (1993) estudaram a herança do zingibereno em tomateiro e concluíram que o caráter presença ou ausência do zingibereno é controlado por um único loco gênico com três alelos em série. Os autores verificaram, no entanto, que entre as plantas contendo

zingibereno, os teores variaram bastante (1% a 100% do encontrado no genitor PI-127826), sugerindo que genes adicionais possam estar modificando os teores de zingibereno produzido. A hipótese de uma herança monogênica, com um alelo parcialmente dominante no sentido de produzir menores teores de zingibereno, explicaria os resultados obtidos neste estudo, embora a hipótese não exclua a possibilidade da existência de genes modificadores. Tendo-se em vista que os alelos efetivos na produção de altos teores de zingibereno são recessivos, sugerese que um maior número de plantas em populações segregantes deva ser avaliado para aumentar a probabilidade de se encontrar pelo menos uma que recupere o maior teor de zingibereno possível, presente no genitor PI-127826.

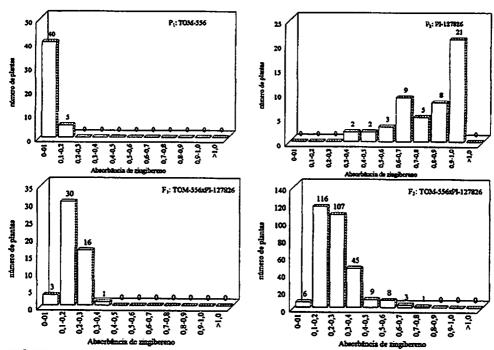


FIGURA 12. Distribuição de frequência dos teores de zingibereno das populações P₁, P₂, F₁ e F₂, do cruzamento L. esculentum x L. hirsutum var. hirsutum. UFLA: Lavras, MG, 1999.

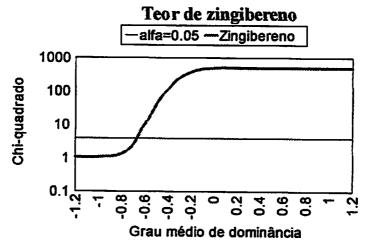


FIGURA 13. Gráfico da evolução dos valores de χ² em função do grau médio de dominância, para teor de zingibereno sob a hipótese de herança monogênica. UFLA: Lavras, MG, 1999.

5.1.2.2 Teste do modelo aditivo-dominante e da herança monogênica para densidade de tricomas tipo I

O modelo genético aditivo-dominante não foi suficiente para explicar a independência dos efeitos gênicos envolvidos no controle do caráter, não se podendo descartar a hipótese de epistasia (Tabela 6). O grau médio de dominância estimado (-0,63) indica que ocorre dominância parcial no sentido de menores densidades de tricomas tipo I. A ação gênica de dominância incompleta no sentido de menores densidades de tricomas tipo I explicaria a distribuição de frequências da densidade desses tricomas nas populações avaliadas (Figura 14).

A hipótese de herança monogênica não pode ser descartada para o caráter, o que pode ser explicado pela estimativa do número de gene (0,2) e pela significância do teste desta hipótese, na faixa de GMD que vai de -0,4 a -0,6 (Figura 15).

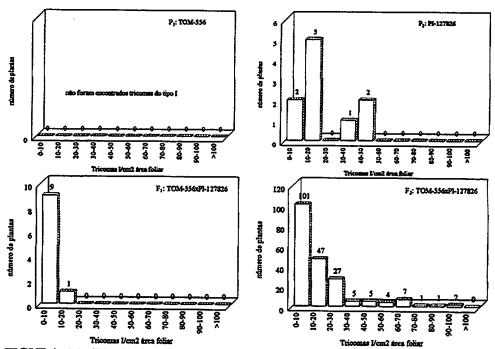


FIGURA 14. Distribuição de frequência da densidade de tricomas tipo I, das populações P₂, F₁ e F₂, do cruzamento L. esculentum x L. hirsutum var. hirsutum. UFLA: Lavras, MG, 1999.

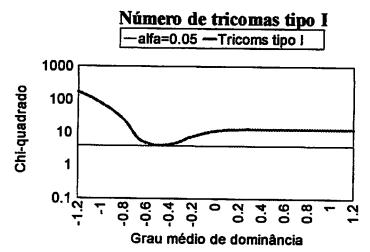


FIGURA 15. Gráfico da evolução dos valores de χ² em função do grau médio de dominância, para número de tricomas tipo I, sob a hipótese de herança monogênica. UFLA: Lavras, MG, 1999.

5.1.2.3 Teste do modelo aditivo-dominante e da herança monogênica para densidade de tricomas tipo IV

O modelo genético aditivo-dominante também não foi adequado para explicar as variações fenotípicas observadas nas populações, indicando que a hipótese de ausência de epistasia não pode ser descartada para a expressão do caráter densidade de tricomas tipo IV (Tabela 6). O grau médio de dominância pontual estimado para esta característica foi de -0,85, indicando tratar-se de uma ação gênica predominantemente de dominância incompleta do (s) alelo (s) que confere (em) o fenótipo baixa densidade de tricomas tipo IV. A distribuição de frequências das diferentes densidades desse tricoma também pode ser explicada pela presença de dominância no sentido de menor densidade de tricomas (Figura 16).

A hipótese de herança monogênica não é rejeitada com GMD de -0,6 (Figura 17). Isto e a baixa estimativa do número de genes envolvidos (0,3) levam a crer que o caráter seja controlado basicamente pela ação de um único loco, onde o alelo recessivo (presente em L. hirsutum var. hirsutum) é o responsável pelo grande número de tricomas tipo IV.

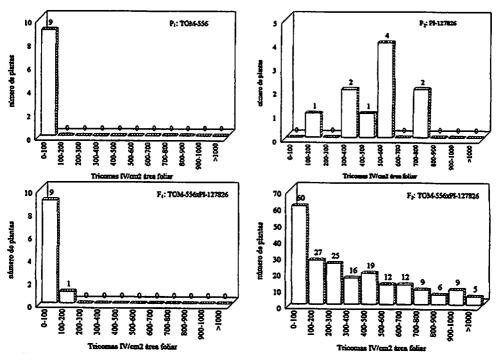


FIGURA 16. Distribuição de frequência da densidade de tricomas tipo IV, das populações P₁, P₂, F₁ e F₂, do cruzamento L. esculentum x L. hirsutum var. hirsutum. UFLA: Lavras, MG, 1999.

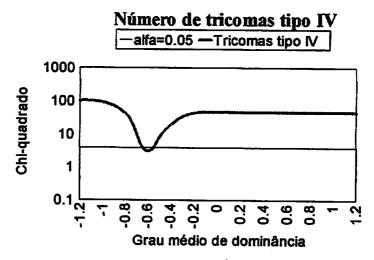


FIGURA 17. Gráfico da evolução dos valores de χ² em função do grau médio de dominância, para número de tricomas tipo IV, sob a hipótese de herança monogênica. UFLA: Lavras, MG, 1999.

5.1.2.4 Teste do modelo aditivo-dominante e da herança monogênica para densidade de tricomas tipo VI

A hipótese de epistasia para o controle da densidade de tricomas tipo VI não pode ser rejeitada devido ao modelo genético aditivo-dominante não ter sido suficiente para explicar os efeitos de independência do (s) gene (s) envolvido (s) no controle desse caráter (Tabela 6). A estimativa do GMD foi baixa (0,05), embora uma tendência de dominância incompleta no sentido de menor densidade de tricoma tipo VI pode ser observada na distribuição de frequências da densidade desses tricomas na população F₁ (Figura 18). Uma menor divergência entre os genitores TOM-556 e PI-127826 quanto ao número de tricomas nas plantas pode ter favorecido uma menor estimativa do GMD, sugerindo ação genica aditiva para o caráter, embora mesmo em condições de pouca divergência entre os genitores, a dominância pode estar presente (Falconer, 1987).

A hipótese de herança monogênica para o caráter não pode ser descartada na faixa de GMD que vai de -0,4 a -0,6, (Figura 19), bem como pelo número estimado de genes (1,1).

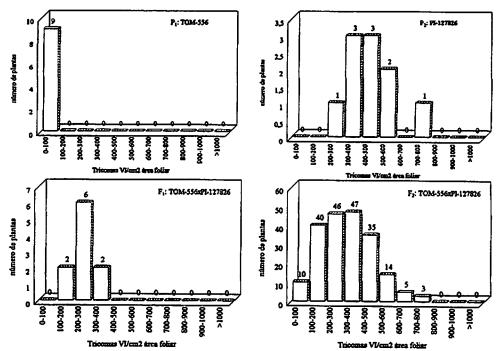


FIGURA 18. Distribuição de frequência da densidade de tricomas tipo VI, das populações P₁, P₂, F₁ e F₂, do cruzamento L. esculentum x L. hirsutum var. hirsutum. UFLA: Lavras, MG, 1999.

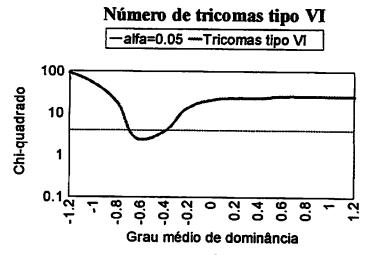


FIGURA 19. Gráfico da evolução dos valores de χ² em função do grau médio de dominância, para número de tricomas tipo VI, sob a hipótese de herança monogênica. UFLA: Lavras, MG, 1999.

5.1.2.5 Teste do modelo aditivo-dominante e da herança monogênica para densidade de tricomas tipo VII

Para a densidade de tricomas tipo VII, os dados de média obtidos para as populações testadas se ajustaram ao modelo genético aditivo-dominante (Tabela 6), indicando ausência de epistasia no controle do caráter. O grau médio de dominância pontual estimado foi de 0,45, indicando ação gênica de dominância incompleta no sentido da maior densidade de tricomas tipo VII. Em função da baixa divergência entre os genitores quanto ao número de tricomas tipo VII (Figura 20), e do pequeno número de plantas amostradas, a análise da distribuição de frequência do híbrido F₁ fica prejudicada por não se poder definir o sentido da dominância que possa estar ocorrendo. Observando-se, porém, a distribuição do F₂, nota-se uma predominância de plantas com menor densidade de tricomas tipo VII, conforme foi verificado também no genitor TOM-556, podendo ser reflexo da dominância no sentido de menor número de tricomas tipo VII.

Na faixa de GMD que vai de -1,0 a 0,0 (Figura 21), a hipótese de herança monogênica pode ser aceita, em conformidade com a estimativa obtida para número de gene (0,1).

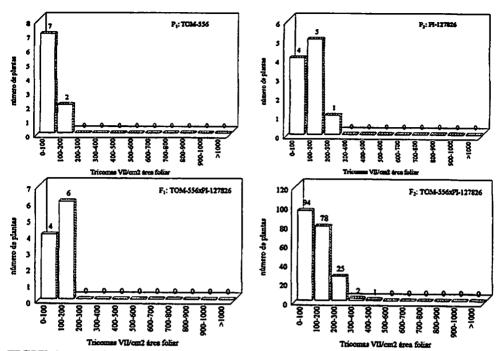


FIGURA 20. Distribuição de frequência da densidade de tricomas tipo VII, das populações P₁, P₂, F₁ e F₂, do cruzamento L. esculentum x L. hirsutum var. hirsutum. UFLA: Lavras, MG, 1999.

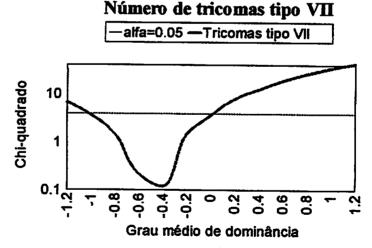


FIGURA 21. Gráfico da evolução dos valores de χ² em função do grau médio de dominância, para número de tricomas tipo VII, sob a hipótese de herança monogênica. UFLA: Lavras, MG, 1999.

5.2 Correlações fenotípicas, ambientais e genéticas, entre teor de zingibereno e densidade de tricomas foliares em tomateiro

As correlações genética e ambiental entre teor de zingibereno e densidade de tricomas II+III+V, I, IV, VI e VII (Tabela 7) apresentaram sempre o mesmo sinal. Falconer (1987) relata que nessas condições as causas de variação genética e de ambiente afetam os caracteres por meio de diferentes mecanismos fisiológicos. As correlações genéticas foram superiores às fenotípicas em seis das sete correlações estimadas. Apenas para zgb vs. tricoma I, a correlação genética foi inferior à correlação fenotípica. Esses resultados sugerem que os ganhos genéticos com a seleção para caracterísitcas correlacionadas podem ser satisfatórios.

TABELA 7. Correlações fenotípica (r_f) de ambiente (r_a) e genética (r_g), entre teor de zingibereno (zgb) e densidade de tricomas (tric.) I, IV, VI e VII presentes na matriz foliar do tomateiro. UFLA: Lavras, MG, 1999.

Parâme- tro:	zgb vs. tric. II+III+V	zgb vs. tric. I	zgb vs. tric, IV	zgb vs. tric. VI	zgb vs. tric. VII	zgb vs. tric. I+IV+VI+VII	zgb vs. tric. IV+VI
Tf.	-0,324	0,252	0,344	0,570	0,195	0,439	0,437
Γa	-0,013	0,698	0,427	0,538	0,013	0,552	0,575
Tg	-0.563	0,151	0,512	0,829	0,414	0,584	0,589
vâr (rg)	(0,026)	(0,020)	(0,015)	(0,051)	(0,022)	(0,024)	(0,024)
α (r_g)	0,001	0,150	0,001	0,001	0,010	0,001	0,001

As correlações entre zgb vs. tricomas II+III+V foram negativas, mostrando que estes tricomas não carreiam esse aleloquímico. Por outro lado, todas as correlações entre zgb e tricomas glandulares foram positivas, evidenciando a presença do zingibereno em maior ou menor quantidade nesses tipos de tricomas. A menor correlação genética foi obtida entre zgb vs. tricoma I (0,151), cuja glândula no ápice do tricoma é unicelular, além desse ser um tricoma com distribuição bem esparsa na matriz foliar do tomateiro. A correlação genética entre zgb vs. tricoma IV (0,512) sugere a presença do zingibereno nas

glândulas deste tipo de tricoma. De acordo com Carter, Gianfagna e Sacalis (1989), o zingibereno está presente apenas em tricomas VI. Contudo, a correlação genética verificada neste estudo, entre zgb e tricoma IV, sugere a presença de zingibereno também neste tipo de tricoma. A correlação genética de 0,829 entre zgb e tricoma VI indica maior acúmulo da substância na glândula tetracelular desse tricoma. O tricoma do tipo VII também possui distribuição esparsa na matriz foliar do tomateiro. Todavia, sua correlação genética com teores de zingibereno foi de 0,414, indicando que sua glândula também acumula alguma quantidade de zingibereno. A correlação genética de 0,584 existente entre zgb e os tricomas I+IV+VII+VII situou-se próxima de uma média das correlações genéticas entre zgb e cada um dos tricomas independentemente (0,478), indicando que estes tricomas possuem entre si uma alta associação, a exemplo do observado por Campos (1999). As correlações genética entre zgb e tricomas IV+VI (0,589) e entre zgb e tricomas I+IV+VI+VII (0,584) indicam que os tricomas glandulares tipos I e VII contribuem pouco para o acúmulo de zingibereno nos folíolos do tomateiro

Pode-se inferir que a seleção de plantas com alto teor de zingibereno ou alta densidade de tricomas glandulares (especialmente os de tipo IV e VI) pode em última análise, servir como técnica de seleção indireta de plantas resistentes a artrópodes-praga, em especial a traça-do-tomateiro e mosca branca.

5.3 Resistência de plantas de tomateiro à mosca branca *Bemisia* spp. e sua relação com o teor de zingibereno nos folíolos

Os genitores L. esculentum TOM-556 e L. hirsutum var. hirsutum PI-127826 que apresentaram, respectivamente, valores médios de absorbância do zingibereno de 0,081 e 0,830, foram, na respectiva ordem, suscetível e resistente à mosca branca Bemisia spp. (Tabelas 8 e 9). Plantas F₂ do cruzamento TOM-

556xPI-127826 foram selecionadas somente com base nos altos teores de zingibereno, tendo-se por critério de seleção as plantas com maiores valores de absorbância (Abs.) mensurada. Os clones F₂ BPX-368#92 (Abs= 0,605), BPX-368#105 (Abs= 0,649), BPX-368#179 (Abs= 0,775) e BPX-368#250 (Abs= 0,623) apresentaram grau de resistência à mosca branca intermediário aos genitores e na maioria dos casos, mais semelhantes ao genitor mais resistente PI-127826 (Tabelas 8 e 9).

A linhagem L. hirsutum var. glabratum PI-134417, que contém altos teores de 2-tridecanona, assim como a linhagem L. esculentum TOM-600, selecionada com base no alto teor de 2-tridecanona (Barbosa, 1994, Gonçalves, 1996 e Labory, 1996), foram resistentes à mosca branca, comparativamente à linhagem susceptível TOM-556 que não contém 2-tridecanona. A seleção indireta para alto teor de zingibereno realizada neste estudo, assim como a seleção indireta para alto teor de 2-tridecanona feita por Barbosa (1994), Gonçalves (1996) e Labory (1996), mostraram que estas duas substâncias são efetivas em aumentar o grau de resistência do tomateiro à mosca branca Bemisia spp.

A resistência de *L. pennellii* LA-716 à mosca branca, que a literatura atribui aos acilçúcares (Goffreda et al., 1989), confirmou-se (Tabelas 8 e 9). Também se constatou a resistência de LA-3473 (Tabela 9); essa linhagem é presumivelmente resistente a geminivirus (gene T_y-1), com resistência proveniente de *L. chilense* LA-1969.

TABELA 8. Número médio de adultos de mosca branca por planta, em 6 genótipos de tomateiro avaliados em oito dias consecutivos. EPAMIG/CTNM: Nova Porteirinha, MG, 1999.

Avaliações/Dias:									
Genótipos:	1	2	3	4	5	6	7	8	Média:
TOM-556	17,5 в	7,5 Ь	6,0 ь	10,0 Ъ	9,0 ъ	16,5 c	14,0 c	16,0 c	12.06 d
PI-127826	1,0 a	1,2 a	0,0 a	0.8 a	1,0 a	3,0 ab	0,8 a	0,8 ab	1,08 ab
BPX-368#92	8,4 ab	4,4 ab	1,6 a	4.4 ab	4,8 ab	8,2 b	7,2 ab	8,6 c	5,95 c
BPX-368#179	2,5 a	1.0 a	1,5 a	0.5 a	0,5 a	1.0 ab	1,5 a	1,5 ab	1,25 ab
BPX-368#250	3,8 a	2,6 ab	0,8 a	3.4 ab	4,0 ab	7,4 ab	4,8 ab	4,2 b	3,88 c
LA-716	0.0 a	0,0 a	0,0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a
Média:	5,5	2,8	1,7	3,2	3,2	6,0	4,7	5,2	4,04
R ² :	0,79	0,66	0.85	0,67	0,69	0,81	0,86	0,94	0,90
C.V. (%):	81,25	88.76	79,21	103,44	90,65	56.77	55,61	36,73	44,18

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de

Tukey ao nível de 5%.

TABELA 9. Número médio de ninfas de mosca branca por 4 cm² de área foliar. em 10 genótipos de tomateiro avaliados em sete dias consecutivos. EPAMIG/CTNM: Nova Porteirinha, MG, 1999.

Avaliações/Dias:								
1	2	3	4	5	6	7	– Média:	
41,4 b	15,7 с	47.9 b	21.3 с	29.7 с	173 c	199h	27,60 e	
0,0 a	4,8 ab						1,33 ab	
2,7 a	6,4 abc						6,14 cd	
1.7 a	12.2 bc							
3.9 a						13,50	8,70 d 2,30 abc	
6.5 a				2.7 sh	_	263	3,26 abc	
							0,69 a	
				•	۵ درب	•		
					-	-	9,50 d	
				- 11ah	23 shc	54.	0,10 a 4,20 bc	
							6,38	
111,89	122,47						0,94 31,67	
	2,7 a 1,7 a 3,9 a 6,5 a 0,6 a 9,6 a 0,1 a 0,4 a 6,7 0,76	0,0 a 4,8 ab 2,7 a 6,4 abc 1,7 a 12,2 bc 3,9 a 2,7 ab 6,5 a 7,5 abc 0,6 a 1,1 a 9,6 a 7,2 abc 0,1 a 0,2 a 0,4 a 21 ab 6,7 6,0 0,76 0,36	0,0 a 4,8 ab 0,4 a 2,7 a 6,4 abc 5,0 a 1,7 a 12,2 bc 1,6 a 3,9 a 2,7 ab 1,7 a 6,5 a 7,5 abc 1,9 a 0,6 a 1,1 a 1,2 a 9,6 a 7,2 abc 9,6 a 0,1 a 0,2 a 0,1 a 0,4 a 2,1 ab 2,9 a 6,7 6,0 7,2 0,76 0,36 0,69	1 2 3 4 41,4 b' 15,7 c 47,9 b 21,3 c 0,0 a 4,8 ab 0,4 a 0,2 a 2,7 a 6,4 abc 5,0 a 6,5 ab 1,7 a 12,2 bc 1,6 a 7,3 ab 3,9 a 2,7 ab 1,7 a 0,9 a 6,5 a 7,5 abc 1,9 a 1,1 a 0,6 a 1,1 a 1,2 a 0,1 a 9,6 a 7,2 abc 9,6 a 11,6 b 0,1 a 0,2 a 0,1 a 0,0 a 0,4 a 2,1 ab 2,9 a 9,2 ab 6,7 6,0 7,2 5,8 0,76 0,36 0,69 0,55	1 2 3 4 5 41,4b 15,7 c 47,9 b 21,3 c 29,7 c 0,0 a 4,8 ab 0,4 a 0,2 a 0,2 a 2,7 a 6,4 abc 5,0 a 6,5 ab 4,0 ab 1,7 a 12,2 bc 1,6 a 7,3 ab 11,5 b 3,9 a 2,7 ab 1,7 a 0,9 a 6,5 a 7,5 abc 1,9 a 1,1 a 2,7 ab 0,6 a 1,1 a 1,2 a 0,1 a 0,8 ab 9,6 a 7,2 abc 9,6 a 11,6 b 0,1 a 0,2 a 0,1 a 0,0 a 0,4 a 2,1 ab 2,9 a 9,2 ab 1,1 ab 6,7 6,0 7,2 5,8 7,1 0,76 0,36 0,69 0,55 0,64	1 2 3 4 5 6 41,4b 15,7 c 47,9 b 21,3 c 29,7 c 17,3 c 0,0 a 4,8 ab 0,4 a 0,2 a 0,2 a 2,7 ab 2,7 a 6,4 abc 5,0 a 6,5 ab 4,0 ab 10,1 ab 1,7 a 12,2 bc 1,6 a 7,3 ab 11,5 b 6,7 ab 3,9 a 2,7 ab 1,7 a 0,9 a 1. 6,7 ab 6,5 a 7,5 abc 1,9 a 1,1 a 2,7 ab 0,5 a 0,6 a 1,1 a 1,2 a 0,1 a 0,8 ab 0,3 a 9,6 a 7,2 abc 9,6 a 11,6 b - - 0,1 a 0,2 a 0,1 a 0,0 a - 0,4 a 2,1 ab 2,9 a 9,2 ab 1,1 ab 8,3 abc 6,7 6,0 7,2 5,8 7,1 6,6 0,76 0,36 0,69 0,55 0,64 0,49	1 2 3 4 5 6 7 41,4b 15,7 c 47,9b 21,3 c 29,7 c 17,3 c 19,9 b 0,0 a 4,8 ab 0,4 a 0,2 a 0,2 a 2,7 ab 1,0 a 2,7 a 6,4 abc 5,0 a 6,5 ab 4,0 ab 10,1 ab 8,3 a 1,7 a 12,2 bc 1,6 a 7,3 ab 11,5 b 6,7 ab 19,9 b 3,9 a 2,7 ab 1,7 a 0,9 a 1 0,5 a 2,6 a 6,5 a 7,5 abc 1,9 a 1,1 a 2,7 ab 0,5 a 2,6 a 0,6 a 1,1 a 1,2 a 0,1 a 0,8 ab 0,3 a 0,7 a 9,6 a 7,2 abc 9,6 a 11,6 b - - - 0,1 a 0,2 a 0,1 a 0,0 a - - - 0,1 a 0,2 a 0,1 a 0,0 a - - - 0,4 a 2,1 ab 2,9 a 9,2 ab	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de

Tukey ao nível de 5%. (-) dados não obtidos.

5.4 Discussão geral

A seleção de plantas resistentes a insetos-praga nem sempre é uma tarefa fácil. Além da inconstância com que o inseto pode ocorrer, seu ataque às plantas em observação pode ser desuniforme, prejudicando os resultados do estudo. Desta forma, a criação massal do inseto em laboratório pode contribuir para a garantia de infestação nas plantas em época e níveis adequados para se realizar a seleção. Como não se dispõem ainda de técnicas de criação massal da maioria dos insetos que atacam as espécies cultivadas, e de qualquer modo, essas técnicas são dispendiosas, poder-se-ia, alternativamente, fazer uso da seleção indireta de plantas baseada na seleção para características envolvidas na resistência. Para isto, faz-se necessário conhecer melhor tais características, tanto quanto à maneira mais rápida, barata e eficaz de identificação e/ou quantificação destas, bem como quanto ao tipo de controle genético que possuem.

Neste estudo, o teor de zingibereno e as densidades de tricomas glandulares envolvidos na resistência do tomateiro a insetos-praga foram identificados e quantificados em plantas individuais do cruzamento L. esculentum TOM-556 X L. hirsutum var. hirsutum PI-127826. Foi desenvolvida uma metodologia colorimétrica rápida, de baixo custo e não destrutiva das plantas, para quantificação do teor de zingibereno em folíolos de tomateiro, como alternativa à metodologia padrão em aparelho HPLC, relativamente mais dispendiosa e demorada. Para ambas as metodologias constatou-se que o solvente hexano foi o melhor extrator do zingibereno em folíolos do tomateiro. A metodologia desenvolvida consiste na extração do zingibereno em hexano, seguida da leitura da absorbância, em espectofotômetro a 270 nm (ultra-violeta).

Um critério de amostragem de foliolos/planta e cortes/foliolo para quantificação de tricomas foliares foi estabelecido mediante estudos de variâncias

da densidade de tricomas entre plantas, folíolos e cortes. Variâncias crescentes foram verificadas, em geral, entre plantas, folíolos e cortes, sugerindo que maior número de cortes paradérmicos no folíolo deva ser feito sempre que possível. A amostragem para quantificação de tricomas em populações segregantes do cruzamento TOM-556xPI-127826 foi feita tomando-se 3 folíolos/planta e 6 cortes/folíolo, sendo 3 cortes adaxial e 3 abaxial.

O estudo genético das populações P1 (TOM-556), P2 (PI-127826), F1 e F2, para teor de zingibereno, mostrou tratar-se de uma característica de herança poligênica, com possibilidade de um gene com efeito maior e outros modificadores na ausência de efeitos epistáticos; a ação desses genes parece ser predominantemente de dominância incompleta no sentido de reduzir o teor da substância. As características densidade de tricomas I, IV, VI e VII possuem herança simples (provavelmente 1 único gene), com ação gênica de dominância incompleta do alelo que condiciona menores densidades desses tricomas. Os dados não permitem concluir, no entanto, se o loco gênico envolvido é o mesmo para todos tipos de tricomas glandulares, embora essa hipótese também não possa ser descartada. A forte associação existente entre estes tricomas, em que se verifica a tendência de segregarem juntos (Campos, 1999), sugere um possível efeito pleiotrópico. Contudo, essa forte associação entre os diferentes tipos de tricomas também pode ser explicada pela proximidade dos genes que controlam cada tipo de tricoma em um mesmo cromossomo (ligação gênica), o que refletiria em altas correlações entre eles.

Os altos valores de herdabilidade para teor de zingibereno e densidade de tricomas I, IV, VI e VII possibilitarão ganhos genéticos satisfatórios na seleção de plantas para resistência a insetos-praga com base nessas características. As correlações genéticas entre teor de zingibereno e tricomas glandulares, especialmente os tipos IV e VI, refletem a presença do zingibereno nesses

tricomas glandulares. Embora Carter, Gianfagna e Sacalis (1989) tenham relatado a associação de zingibereno e tricomas tipo VI, as correlações genéticas encontradas sugerem que todos os tricomas glandulares contenham a substância.

Ficou também demonstrado, nos ensaios, que maiores teores de zingibereno leva a maiores níveis de resistência da planta à mosca branca B. argentifolii, confirmando a eficiência do critério de seleção indireta no sentido de aumentar o nível de resistência a insetos. Deste modo, fica evidente que tanto a seleção para maior teor de zingibereno quanto a seleção para maiores densidades de tricomas glandulares (especialmente tipos IV e VI) são eficientes critérios de seleção indireta quando se visa obter cultivares resistentes à mosca branca.

Em material genético também derivado do cruzamento TOM-556xPI-127826, Campos (1999) demonstrou a associação dos níveis de zingibereno a maiores densidades de tricomas glandulares (praticamente tipo IV) e a níveis mais elevados de repelência aos ácaros *T. evansi* no tomateiro. Similarmente, Azevedo et al. (1999) demonstraram, no mesmo material genético, que os níveis de sesquiterpeno estavam associados a maiores níveis de resistência a *T. absoluta*.

Fica evidente, a partir deste conjunto de ensaios, que o zingibereno derivado de L. hirsutum var. hirsutum, presente nos tricomas glandulares, é um princípio ativo que confere resistência múltipla a artrópodes-praga do tomateiro. Ganhos genéticos relativos à resistência à mosca-branca foram demonstrados quando se fez seleção indireta para alto teor de zingibereno, o que pode ser esperado, também, quando for feita seleção para maiores densidades de tricomas glandulares, especialmente os de tipo IV e VI.

Assim, este estudo contribuiu para conhecer melhor as inter-relações do complexo zingibereno, tricomas glandulares e resistência do tomateiro à mosca branca, além de permitir o avanço de gerações com vistas à obtenção de cultivar resistente a esse inseto-praga.

6 Conclusões

As altas herdabilidades para teor de zingibereno e densidade de tricomas foliares possibilitam boa eficiência na seleção de plantas do tomateiro para estas características;

O teor de zingibereno possui herança monogênica, com dominância incompleta no sentido de menor teor, não se excluindo, no entanto, a existência de genes modificadores; a ausência de efeitos epistáticos foi constatada para teor de zingibereno;

A densidade de tricomas glandulares também possui herança simples, com dominância parcial no sentido de menor número de tricomas nos folíolos;

As correlações genéticas entre teor de zingibereno e densidade de tricomas I, IV, VI e VII indicam a presença desta substância nesses tricomas, especialmente nos de tipo IV e VI;

O aleloquímico zingibereno é efetivo em conferir resistência do tomateiro à mosca branca *Bemisia* spp.;

A seleção indireta de plantas para alto teor de zingibereno e/ou densidade de tricomas IV e VI é eficiente no sentido de obter genótipos de tomateiro resistentes a artrópodes-praga.

7 Referências Bibliográficas

- ARAGÃO, C.A. Tricomas foliares associados à resistência ao ácaro rajado em linhagens de tomáteiro com alto teor de 2-tridecanona nos folíolos. Lavras: UFLA, 1998. 71p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- AZEVEDO, S.M.; MALUF, W.R.; FARIA, M.V.; OLIVEIRA, A.C.B.; RIBEIRO, C.A.; GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C. Resistência à traça (*Tuta absoluta*) em genótipos de tomateiro com diferentes teores de sesquiterpenos nos folíolos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 39., 1999, Tubarão. Resumo... Tubarão: SOB, 1999. 38p.
- BARBOSA, L.V. Controle genético e mecanismo de resistência em Lycopersicon spp. à traça do tomateiro [Scrobipalpuloides absoluta (Meyrickl,1917) (Lep. Gelechiidae)]. Lavras: ESAL, 1994. 69p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- BARBOSA, L.V.; MALUF, W.R. Heritability of 2-tridecanone-mediated arthropod resistance in an interespecific segregating generation of tomato. Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, v.19, n.3, p.465-468, 1996.
- BURTON, G.W. Quantitative inheritance of pearl millet (*Pennisectum glaucum*). Agronomy Journal, Madison, v.43, n.9, p.409-416, 1951.
- CAMPOS, G.A. Inter-relações entre teor de zingibereno, tipos de tricomas foliares e resistência a ácaros *Tetranychus evansi* em tomateiro. Lavras: UFLA, 1999. 65p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia)
- CARTER, C.D.; GIANFAGNA, T.J.; SACALIS, Sesquiterpenes in glandular trichomes of a wild tomato species and toxicity to the colorado potato beetle. Journal of Agricultural of Cultural and Food Chemistry, Washington, v.37, n.5, p.1425-1428, 1989.
- CHANNARAYAPPA; SHIVASHANKAR, G.; MUNIYAPPA, V.; FRIST, R.H. Resistance of *Lycopersicon* species to *Bemisia tabaci*, a tomato leaf curl virus vector. Canadian Journal of Botany, Ottawa, v.70, n.1, p.2184-2192, 1992.

- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 1994. 390p.
- EIGENBRODE, S.D.; TRUMBLE, J.T. Antibiosis to bett armyworn (Spodoptera exigua) in Lycopersicon acessions. Horticultural Science, Alexandria, v.28, n.9, p.932-934, Sept., 1993.
- FALCONER, D.S. Introdução à genética quantitativa. Tradução de M. A. Silva e J.C. Silva. Viçosa: UFV, 1987. 279p. Tradução de: Introdution to quantitative genetics.
- GIANFAGNA, T.J.; CARTER, C.D.; SACALIS, J.N. Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of Lycopersicon hirsutum f. hirsutum. Plant Physiology, Lancaster, v.100, n.3, p.1403-1405, 1992.
- GOFFREDA, J.C.; MUTSHLER, M.A.; AVÉ, D.A.; TINGEY, W.M.; STEFFENS, J.C. Aphid deterrence by glucose esters in glandular trichome exudate of wild tomato, Lycopersicon pennellii. Journal of Chemical Ecology, NewYork, v.15, p.2135-2147, 1989.
- GONÇALVES, M.I.F. Variação no teor de 2-tridecanona em folíolos de tomateiro e sua relação com a resistência a duas espécies de ácaros do gênero *Tetranychus*. Lavras: UFLA, 1996. 63p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- GUO, Z.; WESTON, P.A.; SNYDER, J.C. Repellency to two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, as related to leaf surface chemistry of *Lycopersicon hirsutum* accessions. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.19, n.12, p.2965-2979, 1993.
- HEINZ, K.M.; ZALOM, F. Variation in trichome based resistance to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition on tomato. Entomological Society of America, Lanham, v.88, n.5, p.1494-1502, 1995.
- LABORY, C.R. Repetibilidade, herdabilidade no sentido restrito e mecanismo de resistência do teor do aleloquímico 2- Tridecanona em Lycopersicon spp. À traça do tomateiro Scrobipalpuloides absoluta (Meyrick, 1917) Lepidoptera Gelechiidae. Lavras: UFLA, 1996. 59p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)

- LUCKWILL, L.C. The genus *Lycopersicon*: an historical, biological, and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes. Aberdeen: Aberdeen University Press, 1943, n.120, 44p.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. Introdução à genética biométrica. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242p.
- NIENHUIS, J.; KLOCKE, J.; LOCY, R.; BUTZ, A.; BALANDRIN, M. Colorimetric assay for 2-tridecanone mediated insect resistance in *Lycopersicon* species. HortiScience, Alexandria, v.20, n.3, p.590, June 1985. (Abstract)
- RAHIMI, F.R.; CARTER, C.D. Inheritance of zingiberene in *Lycopersicon*. Theoretical and Applied Genetics, Berlin, v.87, p.593-597, 1993.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; ZIMMERMANN, M.G. Genética quantitativa em plantas autógamas; aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271p.
- RESENDE, J.T.V. Teores de acilaçúcares mediadores da resistência a pragas e sua herança em folíolos de tomateiro, obtidos a partir do cruzamento interespecífico *Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii*. Lavras: UFLA, 1999. 56p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia)
- RICK, C.M. El tomate. Investigacion y Ciencia, Santo Domingo, v.25, p.45-55, 1978.
- ROWE, K.E.; ALEXANDER, W.L. Computations for estimating the genetic parameters in joint-scaling test. Crop Science, Madison, v.20, p.109-110, 1980.
- VELLO, N.A.; VENCOVSKY, R. Variâncias associadas às estimativas da variância genética e coeficiente de herdabilidade. In: ESALQ. Relatório científico de 1974, 8. Piracicaba: ESALQ, 1974. p.238-248.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto: SBG, 1992. p.444-446.

- VILAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C. Manejo integrado da mosca-branca Bemisia argentifolii. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1997. 11p.
- WARNER, D.N. A method for estimating heritability. Agronomy Journal, Madison, v.44, n.8, p.427-430, 1952.
- WESTON, P.A.; JOHNSON, D. A.; BURTON, H.T.; SNYDER, J.C. Trichome secretion composition, trichome densities, and spider mite resistance of ten accessions of *Lycopersicon hirsutum*. Journal of the American Society for Horticultural Science, Mount Vernon, v.114, n.3, p.492-498, 1989.