

**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

JULIANO TADEU VILELA DE RESENDE

STREET ADDRESS

U.S.A.

PHONE

TELETYPE

JULIANO TADEU VILELA DE RESENDE

**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

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós - Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de "Mestre".

ORIENTADORA

Dra. Maria das Graças Cardoso

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

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

Resende, Juliano Tadeu Vilela

Teores de acilalúcares, mediadores da resistência a pragas e sua herança em folíolos de tomateiro, obtidos a partir do cruzamento interespecífico *Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii* / Juliano Tadeu Vilela Resende. – Lavras : UFLA, 1999.

56 p. : il.

Orientadora: Maria das Graças Cardoso.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Acilalúcares. 2. Tomate. 3. *Lycopersicon pennellii*. 4. Resistência. 5. Praga. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.64223

JULIANO TADEU VILELA DE RESENDE

**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*

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Curso
de Pós - Graduação em Agronomia,
área de concentração Fitotecnia para
obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 19 de abril de 1999

Wilson Roberto Maluf, PhD

UFLA

Samuel Pereira de Carvalho, Dr.

UFLA

David Lee Nelson, PhD

FAFAR/UFMG

Maria das Graças Cardoso
Dra. Maria das Graças Cardoso
UFLA
(Orientadora)

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

**Aos meus pais Daniel e Nilza, às
minhas filhas Nathalia e Millena
com carinho e amor**

DEDICO

**Aos meus irmãos Luciane, Francisco,
Josane, Nilton.
Aos meus sobrinhos e a todos os meus
familiares.
Pelo apoio e compreensão**

OFEREÇO

**Aos professores Wilson Roberto Maluf e
Maria das Graças Cardoso, grandes
seres humanos, meus sinceros
agradecimentos e minha**

HOMENAGEM

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo.

À Universidade Federal de Lavras; aos Departamentos de Agricultura e de Química, pela minha formação, especialmente, aos Professores Rovilson, Samuel, Mário e Custódio, pelas dicas e ensinamentos; à Nelzy e Rose, pelas informações e dicas, à Nelza e Vicentina pelos momentos de descontração.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual não seria possível minha formação.

À Prof^a. Maria das Graças Cardoso pela orientação e pela amizade.

Ao Prof. Wilson Roberto Maluf pela co-orientação.

À Hort. Agro pelos recursos financeiros e ajuda na condução dos experimentos.

Aos proprietários Luis, Paulo Moretto e Vicente Licursi.

Aos funcionários: Ná, Major, Luis, Heitor.

A minha irmã Luciane pelos ensinamentos e pela paciência.

À meu irmão Chicão pelo auxílio nas análises.

Ao meu cunhado Wilson pelos conselhos.

Aos alunos Luciano (Borinho), Fred, Roberto, Eduardo e Andréa pelo auxílio nas análises de laboratório e condução dos experimentos.

À Erika, Dona Lia, Sr. Walter e Elaine, pelo apoio, carinho e compreensão.

Aos meus amigos de pós- graduação Tião, Marcos, Nuno, Carlos, Artiaga, Valter, Faustinho, Ernane, Suzan, Heráclito, Gustavo, José Antônio, Joelson, Max, Estér, Meire, Dênmore, Márcia pela amizade e ensinamentos.

Aos amigos do Laboratório, pelo companheirismo.

À Cristina, Sr. João, Dona Ana, Gorete e crianças pela amizade.

Aos alunos de iniciação científica orientados do Prof. Maluf.

Um agradecimento especial à Rozane, grande amiga e conselheira nos momentos difíceis (Meu Anjo da Guarda).

Enfim, a todos aqueles que contribuíram diretamente ou indiretamente na realização deste trabalho.

“O trabalho científico é lento na maioria das vezes, monótono e quase sempre sujeito às adversidades. Somente a disposição, a perseverança e o amor ao estudo e à pesquisa científica de interesse podem manter o pesquisador ligado ao seu trabalho. Não se devem esperar compensações financeiras ou gratidões humanas. O trabalho científico honesto é acompanhado sempre pela recompensa espiritual e, eventualmente, por alguma homenagem que florescerá de suas verdades.” PETROIANUA

Biografia do Autor

Juliano Tadeu Vilela de Resende, filho de Daniel de Resende e Nilza Diniz Vilela Resende, nasceu em Lavras – MG, em 27 de outubro de 1971.

Em julho de 1997 obteve o diploma de Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal de Lavras – UFLA.

Em agosto de 1997 iniciou o curso de Pós – Graduação em Agronomia – área de concentração Fitotecnia, a nível de Mestrado, na Universidade Federal de Lavras.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	04
2.1 Gênero <i>Lycopersicon</i>	04
2.2 <i>Lycopersicon esculentum</i> - Aspectos Gerais.....	06
2.3 <i>Lycopersicon pennellii</i> - Aspectos Gerais.....	07
2.4 Mecanismo de resistência de plantas a artrópodes.....	11
2.5 Resistência de <i>Lycopersicon pennellii</i> à mosca branca.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Obtenção dos cruzamentos interespecíficos.....	15
3.1.1 Semeadura dos genitores para obtenção da geração F ₁	15
3.1.2 Obtenção da geração F ₂	16
3.2 Identificação de acilaçúcares em folíolos de tomateiro.....	16
3.3 Padronização do método colorimétrico.....	17
3.3.1 Descrição do método.....	17
3.3.2 Curva padrão.....	19
3.3.2.1 Transformação dos dados da curva padrão.....	19
3.4 Instalação experimental da população F ₂	21
3.4.1 Substrato utilizado.....	22
3.4.2 Número de plantas analisadas.....	22
3.5 Controle genético dos teores de acilaçúcares.....	23
3.6 Componentes de média.....	23
3.7 Teste da hipótese de herança monogênica.....	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1 Identificação do aleloquímico.....	27
4.2 Padronização do método colorimétrico.....	33
4.3 Quantificação dos teores de acilaçúcares em <i>Lycopersicon</i> spp.....	35
4.4 Controle genético dos teores de acilaçúcares em folíolos.....	36
4.5 Teste de herança monogênica para o caráter teores de acilaçúcares.....	39
4.6 Discussão geral.....	40

5 CONCLUSÕES.....	43
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
APÊNDICE.....	55

RESUMO

RESENDE, JULIANO TADEU VILELA. 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)*

Os acilaçúcares são aleloquímicos, presentes nos tricomas glandulares tipo IV, em folíolos do tomateiro selvagem (*Lycopersicon pennellii* LA716) e conferem resistência a uma vasta gama de artrópodos – pragas que são limitantes ao cultivo dessa hortaliça no Brasil e no Mundo. Este trabalho teve como objetivo padronizar uma metodologia eficiente, de baixo custo, que permita avaliar não destrutivamente um grande número de plantas, de modo a identificar e quantificar níveis de acilaçúcares em genótipos resultantes do cruzamento de *Lycopersicon esculentum* 'TOM 584'. x *Lycopersicon pennellii* 'LA716' e estudar a base genética da variação nos teores de acilaçúcares nesse cruzamento. A metodologia aplicada consistiu-se na quantificação de acilaçúcares presentes em discos foliares de tomateiro dos genótipos P₁(*L.esculentum*), P₂(*L.pennellii*), F₁(TOM-584 x LA716) e F₂, através de espectrofotometria para açúcares redutores a 540nm. Verificou-se que a linhagem TOM - 584 de *Lycopersicon esculentum* apresentou um teor substancialmente menor (28.26 nanomols/cm²) de acilaçúcares do que o acesso selvagem LA716 de *Lycopersicon pennellii* (63.75nanomols/cm²). O híbrido F₁(TOM-584 x LA716) apresentou teor ligeiramente superior (32.87 nanomols/cm²) ao TOM-584, substancialmente inferior ao de LA716, sugerindo que, um ou mais alelos recessivos, presentes em LA716, sejam responsáveis pelos altos teores de acilaçúcares nele encontrado. Um modelo genético, aditivo-dominante, ajustou-se aos dados obtidos não havendo evidências de ação gênica epistática. O grau médio de dominância estimada foi de -0.74, confirmando a indicação de que um ou mais alelos recessivos presentes em LA716 são responsáveis pelos altos teores de acilaçúcares. Um valor moderadamente alto (0.48) foi encontrado para a estimativa de herdabilidade, no sentido amplo, indicando que grande parte de variação entre plantas na geração é de natureza genética. A hipótese de herança monogênica dos teores de acilaçúcares não pode ser descartada. A seleção indireta e não destrutiva de plantas com altos teores de acilaçúcares (caráter de herdabilidade moderadamente alta), que pode ser efetuada rapidamente, num número bastante grande de plantas, pode levar a ganhos genéticos mais rápidos nos níveis de resistência a artrópodos -pragas, do que a própria seleção direta para resistência.

* Comitê de Orientação: Dra. Maria das Graças Cardoso (Orientadora), Wilsom Roberto Maluf Phd, David Lee Nelson, Phd e Dr. Samuel Pereira de Carvalho.

ABSTRACT

RESENDE, JULIANO TADEU VILELA. Acylsugar contents, mediators of the resistance to pests and their inheritance in tomato plant leaflets obtained from the interspecific cross *Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii*.

Acylsugars are allelochemicals present in type IV glandular trichomes of the wild tomato species *Lycopersicon pennellii* 'LA 716', and are responsible for the resistance to a wide array of tomato pests found in this species. This work had the objective of establishing an efficient low-cost method to quantify acylsugars in tomato leaflets, and studying the mode of inheritance of acylsugar content in genotypes derived from the interspecific cross *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' x *L. pennellii* 'LA-716'. Total acylsugar contents were measured in leaflets of P₁ (= *L. esculentum* 'TOM-584'), P₂ (= *L. pennellii* 'LA-716'), F₁ (= P₁ x P₂), and F₂ by spectrophotometric determination of reducing sugars at 540 nm. Acylsugar content in *L. esculentum* 'TOM-584' (28.26 nanomols. cm⁻²) was substantially lower than in *L. pennellii* 'LA-716' (63.75 nanomols.cm⁻²). Acylsugar content in F₁ was slightly higher (32.87 nanomols.cm⁻²) than in 'TOM-584', and substantially lower than in 'LA-716', suggesting that recessive allele(s) in LA-716 may be responsible for the high contents found in the latter species. An additive-dominant model was adequate to explain the variation found in the generations under study, and there was no evidence of epistatic gene action. The estimate of the mean degree of dominance was -0.74, indicating that recessive allele(s) present in LA-716 are responsible for the high acylsugar content found in this wild species. A moderately high broad-sense heritability (0.48) was found for the trait, indicating that a major portion of the variation among plants is of genetic nature. The hypothesis of monogenic control of acylsugar contents in the interspecific cross could not be ruled out. The indirect non-destructive selection of plants based on acylsugar content (a trait with moderately high heritability), associated with the possibility of a quick screening of a large number of plants, may lead to higher and faster genetic gains for pest resistance than direct selection for pest resistance.

Guidance Committee: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Major Professor), Wilson Roberto Maluf - UFLA, David Lee Nelson - FAFAR/UFMG and Samuel Pereira de Carvalho - UFLA

1- INTRODUÇÃO

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é um produto destinado à alimentação humana sob a forma industrializada e "in natura". É cultivado em todo território nacional, onde ocupa o segundo lugar em ordem de importância econômica, entre as hortaliças mais consumidas no Brasil. O período de plantio é peculiar à cada região geográfica, dependendo das condições climáticas. Atualmente, cerca de 93% do total de tomate produzido e consumido, no mercado brasileiro, "in natura," é do tipo Santa Cruz, sendo cultivado ainda o tipo multilocular e cereja.

A expansão da área de cultivo dessa solanácea, entretanto, favoreceu, substancialmente, o surgimento de pragas e doenças de difícil controle, que afetam, significativamente, a sua produção. Em função disso é considerada uma cultura de alto risco, com elevado custo de produção, principalmente no que diz respeito ao uso de agrotóxicos. Estes, além de onerosos, constituem-se numa preocupação crescente, em função da degradação do meio ambiente e também à saúde pública. Na cultura do tomate, fazem-se necessárias, múltiplas aplicações de produtos químicos, onde os períodos de carência, estabelecidos pela legislação nem sempre são obedecidos. Dessa forma, torna-se crucial a necessidade de se buscarem métodos alternativos de controle de pragas e doenças, que sejam menos poluentes e que onerem menos os produtores.

Diante da necessidade de se obterem resultados imediatos, o uso de controle biológico de pragas tem-se mostrado eficiente, em alguns casos, mediante à liberação de espécies de himenópteros: (*Trichogramma* sp e *Apantheles gilichiidivoris*) e de inseticidas biológicos (*Bacillus thuringiensis*), (Barona et al., 1989). A resistência varietal, apesar dos sucessos em termos de

cultivares comerciais serem ainda modestos, constituir-se-ia na alternativa mais viável, dentro de um manejo integrado de pragas, uma vez que os níveis de resistência apresentados pelas atuais cultivares comerciais não são suficientemente altos, de modo a permitir uma redução significativa, na quantidade de defensivos químicos utilizados no cultivo do tomate.

Algumas espécies selvagens de tomate, como: *Lycopersicon pennellii*, *Lycopersicon peruvianum* e *Lycopersicon hirsutum* têm-se mostrado boas fontes de resistência a pragas (França et al., 1984 a; França et al., 1984 b), mas essas introduções não apresentam valor comercial imediato.

O *Lycopersicon pennellii* acesso 'LA 716' tem-se mostrado resistente a um grande número de pragas: a mosca branca (*Bemisia tabaci*, *Bemisia argentifolii*); pulgões, como: o *Microsiphum euphorbiae*, *Myzus persicae* e muitas espécies de ácaros, bem como as pragas do tomateiro pertencentes à ordem Lepidoptera (Gentile et al, 1968, 1969; Juvik et al., 1982), inclusive a traça do tomateiro (França et al., 1989).

A resistência a insetos proveniente do *Lycopersicon pennellii*, acesso 'LA 716' é devida à presença de tricomas glandulares, tipo IV, que ocupam toda a superfície da planta, juntamente a fitoquímicos viscosos, que são secretados por eles (Gentile et al., 1968). Estes fitoquímicos são ésteres (de glicose e sacarose) de ácidos graxos, sendo denominados de acilaçúcares. Os acilaçúcares funcionam como armadilhas para as pragas, devido ao aspecto pegajoso que é dado a toda a superfície da planta e podem desempenhar um importante papel na resistência às pragas do tomateiro. Enquanto os acilaçúcares são encontrados principalmente em espécies selvagens, sua transferência à espécie cultivada comercialmente, promete contribuir grandemente para o melhoramento, visando resistência às pragas. Informações sobre o controle genético da produção de acilaçúcares e regiões cromossômicas associadas a essa produção, facilitariam a transferência dessas características para o tomate cultivado.

Este trabalho teve como objetivos: a) padronizar uma metodologia eficiente, de baixo custo, que permita avaliar, não destrutivamente, a um grande número de plantas, de modo a identificar e quantificar níveis de acilaçúcares, em genótipos resultantes do cruzamento de *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon pennellii*; b) estudar a base genética da variação, no teor de acilaçúcares nesse cruzamento.

2- REFERENCIAL TEÓRICO

2.1- Gênero *Lycopersicon*

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pertence à família Solanaceae, sendo uma espécie olerácea cultivada no mundo inteiro.

Segundo Rick (1978), nove espécies pertencentes ao gênero *Lycopersicon* são reconhecidas taxonomicamente. Essas espécies constituem-se num valioso banco de genes, que poderão ser usados através de cruzamentos interespecíficos. Algumas espécies não se cruzam normalmente, devendo ser observados vários aspectos, no que se refere aos cruzamentos, inclusive à utilização da cultura de tecidos, para superar incompatibilidades. Todas as espécies da sub-família Solanoideae possuem número de cromossomos uniforme ($2n = 2x = 24$). As flores são constituídas, normalmente, de 5 anteras, embora algumas variedades de *Lycopersicon esculentum* apresentem 6, os estames são fundidos, dando a forma de um cone, no que se mostra como característica do gênero. As anteras fendem-se lateralmente, o pólen é liberado dentro do cone de anteras e emerge através do canal comum, formado pela junção de cada antera alongada (Taylor, 1986). Algumas espécies silvestres apresentam-se como uma grande fonte de variabilidade genética, podendo-se fazer cruzamentos interespecíficos. No entanto, existem casos onde o cruzamento não é possível devido à incompatibilidade.

Grupos taxonômicos aceitos:

Espécies/taxons com compatibilidade bilateral:

Lycopersicon esculentum Mill.

Lycopersicon esculentum var. *cerasiforme* Gray

Lycopersicon pimpinellifolium Mill.

Lycopersicon cheesmanni Riley

Espécies/taxons com compatibilidade unilateral com *Lycopersicon esculentum* Mill.:

Cruzam-se, facilmente, com *Lycopersicon esculentum* Mill., desde que este seja o genitor feminino:

Lycopersicon pennellii Correll

Lycopersicon parviflorum Rick, Kesicki , Fobes e Holle

Lycopersicon chmielewskii Rick, Kesicki , Fobes e Holle

Lycopersicon hirsutum var. *hirsutum* e var. *glabratum* Mill.

Espécies do gênero *Lycopersicon*, com dificuldades no cruzamento, com a espécie *Lycopersicon esculentum* Mill., ainda que este seja o genitor feminino:

Lycopersicon chilense Dunal.

Lycopersicon peruvianum Mill.

Todas essas espécies de *Lycopersicon* têm seu habitat natural, na Costa Oeste da América do Sul, numa área, que se estende do Sul do Equador ao Norte do Chile (0° a 23° de latitude), além das ilhas Galápagos (Warnock, 1991). O habitat natural mostra-se altamente diversificado, isolado e de difícil acesso. A geografia diversificada da área e do habitat natural contribuem grandemente para variabilidade do gênero (Warnock, 1991). O centro de domesticação da espécie *Lycopersicon esculentum* é o México, onde era conhecida desde os tempos pré-colombianos.

2.2- *Lycopersicon esculentum* - Aspectos Gerais

A espécie *Lycopersicon esculentum*, destaca-se quanto à sua importância econômica, sendo largamente consumida. Quando se refere a valores nutritivos, o tomate compara-se, desfavoravelmente, em relação a muitas outras hortaliças, contendo baixos níveis de vitaminas e sais minerais. O fruto ao natural contém em torno de 94% de água; dentre as vitaminas, oferece uma maior quantidade da vitamina C, com um teor, que varia de 11.2 a 21.6 mg/100g (Silva e Casali, 1979).

No Brasil, o tomateiro é amplamente cultivado, praticamente em todos os estados. Devido à frequência de consumo e à quantidade consumida comparativamente às outras hortaliças, o tomate apesar de seu baixo valor nutricional, acaba sendo importante fonte de vitaminas e sais minerais, na dieta dos brasileiros (Filgueira, 1982). Em nível nacional, os tomates para consumo "in natura" se enquadram, basicamente, em dois grupos morfo-anatômicos: Santa Cruz e multilocular, com destaque para o primeiro (frutos oblongos).

Embora amplamente difundida, a cultura do tomate ainda apresenta uma série de problemas, tais como: manejo, tratamentos culturais, exigências de mercado para formato e tamanho, conservação pós-colheita (Silva e Casali, 1979) e, sobretudo, problemas fitossanitários. Apesar das diversas cultivares do grupo Santa Cruz presentes no mercado serem resistentes a alguns patógenos, outras continuam a causar perdas na cultura, chegando a limitar o cultivo. Como exemplo, podemos citar as bactérias [*Erwinia carotovora*, *Xantomonas campestris* pv *visicatoria* (Malavolta Jr. e Rodrigues Neto, 1991)]; os fungos: pinta preta, septoriose, requeima, etc (Modesto, 1991); os vírus: TMV, PVY, TYTV, TCTV, TSWV, TCSV, GRSV, INSV (Lima, 1986) e as pragas: traça do

tomateiro, ácaros, pulgões, mosca branca, larva minadora, broca do fruto e outras (França et al., 1984 a).

2.3 - *Lycopersicon pennellii* - Aspectos Gerais

O *Lycopersicon pennellii* é natural de uma faixa estreita central, junto aos Andes Peruanos, ao longo do oceano Pacífico (Warnock, 1991). Esse habitat costeiro, árido, é marcado por vales profundos, formados por rios, que correm para o oeste e para o Pacífico. Esses vales e rios são separados por montanhas maciças, que caminham em direção à costa (Rick e Tanksley, 1981). Pequenas populações de *L. pennellii*, geralmente habitam áreas com ambientes extremamente secos e pedregosos, especialmente em áreas com inundações rápidas (Holle et al., 1978, 1979).

A espécie ocupa uma área restrita de elevação de 500 a 2000 metros, embora seja ocasionalmente encontrada, em solos de vales mais baixos e úmidos (Rick e Tanksley, 1981). Os ecotipos de *Lycopersicon pennellii* possuem alto nível de resistência à mosca branca (*Bemisia* sp.), (Ponti et al., 1975; Berlinger e Dahan, 1984) e a um outro grande número de pragas (Gentile et al., 1968, 1969; Juvik et al., 1982), inclusive à traça do tomateiro (*Tuta absoluta*) (França et al., 1984).

Espécies selvagens de tomate têm sido amplamente usadas, no melhoramento de cultivares de tomate, de importância comercial (Rick, 1976), visto que, os prejuízos causados por pragas e doenças, na cultura do tomate, são economicamente substanciais (Schuwartz e Klassen, 1981). Schuster et al. (1989), relataram que os danos causados por *Bemisia argentifolii* foram estimados em 25 milhões de dólares, no estado da Florida, no ano de 1989. Lentere van e Noldus (1990) descreveram que os danos provocados pela mosca

branca podem ser diretos, quando se alimentam da seiva elaborada e indireta, através da transmissão de viroses.

A resistência de *Lycopersicon pennellii* 'LA 716' a múltiplas pragas é conferida pelas concentrações de acilaçúcares exudados pelos tricomas glandulares do tipo IV, contidos em toda superfície aérea das plantas (Goffreda et al., 1989). A presença, ou ausência de tricomas glandulares tipo IV, que exudam acilaçúcares tem herança simples, sendo controlada, por no máximo dois genes não ligados, em cruzamentos de *L. pennellii* com *L. esculentum* (Lenke e Mutschler, 1984). Shapiro et al. (1994) relataram que em plantas do acesso de *L. pennellii* var. *puberulum*, as quantidades de acilaçúcares foram nulas, o que se explica pela ausência de tricomas glandulares tipo IV. Os acilaçúcares purificados agem como meio de impedir a alimentação do pulgão da batata (*Macrosiphum euphorbiae*), pulgão verde do pêssego (*Myzus persicae*), broca do fruto do tomate (*Helicoverpa zea*) e lagarta militar da beterraba (*Spodoptera exigua*). Impedem também a ovoposição e, principalmente, a alimentação da larva minadora das folhas (*Liriomyza trifolii*) e da mosca branca da batata-doce – raça B (*Bemisia tabaci*, biótipo B), hoje *Bemisia argentifolii* (Goffreda et al., 1988, 1989; Hawthorne et al., 1992; Rodriguez et al., 1993 ; Juvik et al., 1994). Além disso, esses compostos exercem um efeito deletério no desenvolvimento larval e sobrevivência da *Spodoptera exigua* e *Helicoverpa zea* (Juvik et al., 1994). As larvas de ambas as espécies, quando submetidas à dieta artificial, contendo acilaçúcares, mostraram um retardamento na taxa de crescimento (Juvik et al., 1994). Em bioensaios comportamentais, a *Spodoptera exigua*, constantemente mostrou maior sensibilidade à presença dos compostos do que *Helicoverpa zea*. Uma simulação dos efeitos acumulativos dos compostos, no desenvolvimento da população de ambas as espécies, numa cultura de plantas de tomate produtoras de acilaçúcares, apresentou um decréscimo no número de

gerações por cultivo e drásticas reduções, no tamanho da população do inseto, relativos ao campo testemunha de cultivares comerciais (Juvik et al., 1994).

Segundo Shapiro (1994), ensaios com vários acessos de *L. pennellii* foram realizados em dois ambientes distintos, com o objetivo de estudar a influência do ambiente sobre os níveis de acumulados de acilaçúcares. O plantio foi efetuado, simultaneamente, em ambiente de casa de vegetação e a nível de campo. Os resultados observados mostraram uma significativa superioridade dos acessos cultivados, em casa de vegetação (155-439 microgramas/cm²), quando comparados aos acessos cultivados em campo (23-141 microgramas/cm²). Os níveis diferenciados de acilaçúcares, observados nos dois ambientes, são reflexos das condições desfavoráveis impostas pelo ambiente.

Severson et al. (1985a) relataram que as chuvas diminuem os níveis de exudatos glandulares na superfície da planta. Embora os acilaçúcares sejam compostos relativamente estáveis, é importante frisar que o intemperismo pelo vento e sol e abrasão por partículas de poeira, ou até mesmo por folhas, reduzem drasticamente o acúmulo de acilaçúcares (Shapiro et al., 1994).

Os acilaçúcares foram identificados em outros membros do gênero *Lycopersicon*, bem como em outros gêneros de Solanaceae, incluindo *Solanum*, *Nicotiana* e *Datura* (Schumacher, 1970; Severson et al., 1985a; King et al., 1986, 1987, 1988, 1990; King e Calhoun, 1988; Shinozaki et al., 1991), podendo ainda desempenhar um papel na resistência às pragas e às doenças em algumas dessas outras espécies (Severson et al., 1985b; Holley et al., 1987; Neal et al., 1990; Kennedy et al., 1992).

Os acilaçúcares encontrados em *Lycopersicon pennellii* 'LA716' são complexos formados, principalmente, de 2,3,4-tri-O- éster de glicose, possuindo ácidos graxos com 4 a 12 átomos de carbono (Burke et al., 1987) (Figura 1), o que se constitui em aproximadamente 90% do exudato do tricoma tipo IV, do *Lycopersicon pennellii* 'LA716' (Fobes et al., 1985).

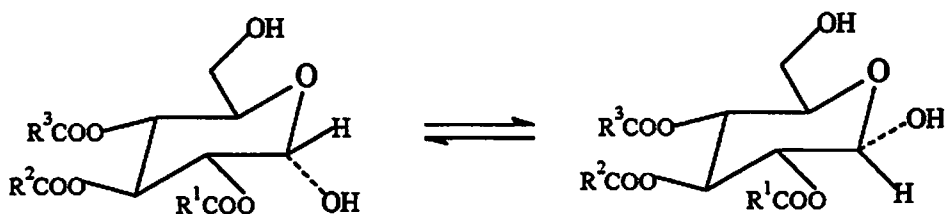


FIGURA 1- Fórmula estrutural da molécula de acilaçúcar, onde R^1 , R^2 , R^3 podem ser:

- 1- $R^1, R^2, R^3 = 3 \times (\text{Me})_2\text{CH}$
- 2- $R^1, R^2, R^3 = 2 \times (\text{Me})_2\text{CH}; \text{MeCH}_2(\text{Me})\text{CH}$
- 3- $R^1, R^2, R^3 = 2 \times (\text{Me})_2\text{CH}; (\text{Me})_2\text{CHCH}_2$
- 4- $R^1, R^2, R^3 = 2 \times (\text{Me})_2\text{CH}; (\text{Me})_2\text{CH}(\text{CH}_2)_6$
- 5- $R^1, R^2, R^3 = 2 \times (\text{Me})_2\text{CH}; \text{Me}(\text{CH}_2)_8$
- 6- $R^1, R^2, R^3 = (\text{Me})_2\text{CH}; \text{MeCH}_2(\text{Me})\text{CH}; (\text{Me})_2\text{CH}(\text{CH}_2)_6$
- 7- $R^1, R^2, R^3 = (\text{Me})_2\text{CH}; (\text{Me})\text{CHCH}_2; (\text{Me})_2\text{CH}(\text{CH}_2)_6$
- 8- $R^1, R^2, R^3 = (\text{Me})_2\text{CH}; \text{MeCH}(\text{Me})\text{CH}; \text{Me}(\text{CH}_2)_8$
- 9- $R^1, R^2, R^3 = (\text{Me})_2\text{CH}; (\text{Me})\text{CHCH}_2; \text{Me}(\text{CH}_2)_8$

onde: Me = metila

Há considerável variação entre os acessos de *Lycopersicon pennellii*, quanto aos níveis de acilaçúcares produzidos, quanto ao tipo de açúcares (glicose vs sacarose) e, quanto aos ácidos graxos incorporados aos acilaçúcares (Shapiro et al., 1994).

Os tomates cultivados não acumulam níveis detectáveis de acilaçúcares, mas plantas F_1 do cruzamento de *L. esculentum* x *L. pennellii* 'LA716' acumularam níveis moderados de 3',3,4-tri-O-acilsacarose. 3'.3,4,6-tetra-O-

acilsacarose e 2,3,4-tri-O-acilglicose a uma razão aproximada de 60:40 de acilsacarose para acilglicoses respectivamente.

A diversidade de estruturas de acilaçúcar implica numa diversidade correspondente de rotas biossintéticas (Walters e Steffens, 1990). A catalogação da diversidade química presente dentro e entre acessos, podem proporcionar discernimento sobre a distribuição e evolução de *L.pennellii*, e pode ter importância relevante para a transferência de resistência a outras espécies.

2.4- Mecanismo de resistência de plantas a artrópodes

Painter (1951) relatou que a resistência de plantas a insetos pode ser definida como "a soma relativa das qualidades herdáveis apresentadas pela planta, as quais influenciam à intensidade do dano provocado pelo inseto". Esta definição na prática agrícola representa a capacidade de certas variedades apresentarem uma maior quantidade de produtos de boa qualidade que outras variedades em geral, em igualdade de condições (Gallo, 1988).

A constatação da resistência de uma planta, ou variedade de uma praga pode ser feita em condições de campo, casa de vegetação, ou laboratório, através de diversas técnicas, o que pode ser constatada diretamente, ou indiretamente, através de escalas e de índices, quando estes fornecem certa relação com a área danificada (Lara, 1979). Existem 3 mecanismos básicos para se descreverem os mecanismos de resistência a insetos: antixenose (não - preferência), antibiose e tolerância.

Antixenose ou não-preferência descreve: "o grupo de características e resposta do inseto que o conduzem, ou o repelem com relação ao uso de uma planta, ou variedade, para ovoposição, alimentação ou abrigo". Dentre essas três modalidades de antixenose, com certeza, as mais importantes,

conseqüentemente, as mais estudadas, são as que se referem à alimentação e ovoposição.

Antibiose: compreende "os efeitos adversos da planta sobre a biologia do inseto".

Tolerância: refere-se à "habilidade da planta para desenvolver vegetativamente e reprodutivamente, reparando-se os danos e suportando dessa forma a infestação de uma população de insetos, aproximadamente, igual àquela capaz de danificar severamente um hospedeiro susceptível (Painter, 1951).

Existe a possibilidade dessas três características ocorrerem juntas em uma planta hospedeira resistente, onde elas podem ter um efeito cumulativo sobre o inseto.

Resistência é um conceito relativo que lida com interações específicas e bem definidas entre a planta e o artrópodo, que ocorre numa amplitude de graus consideráveis (Gallo, 1988). Harris (1975) relata ainda que a importância da resistência do hospedeiro é determinada pela sua utilidade na agricultura. Uma planta resistente deve ser identificável e o caráter geneticamente transmissível, agronomicamente compatível e relativamente permanente, para sua utilização de forma eficiente. O método tradicional, utilizado para identificação de plantas resistentes, tem sido através da avaliação de genótipos recentemente desenvolvidos, cultivares antigas, materiais introduzidos de outros países, formas silvestres e, finalmente, espécies afins.

Características bioquímicas e morfológicas constituem as defesas naturais das plantas, que podem afetar o comportamento e/ou processos metabólicos dos artrópodos. Estão associadas a mecanismos de defesa e atração de insetos e ácaros, em diversas espécies de hortaliças (França et al., 1996). A manipulação genética dessas características, através de seleção dirigida, pode resultar no melhor entendimento das interações planta-artrópodo, com significativos benefícios para o homem.

2.5- Resistência de *Lycopersicon pennellii* à mosca branca

De acordo com Salgueiro (1993), a mosca branca apresenta ampla distribuição, em toda região tropical e pode causar três tipos de danos: sucção direta, vetor de viroses, e aparecimento de fumagina, devido às excreções açucaradas. Em tomate industrial, Alvarez et al. (1993) relataram os seguintes danos: clorose, nanismo e encrespamento das folhas, pouca floração e frutos com áreas descoloridas e redução do teor de sólidos solúveis.

No Brasil (Distrito Federal), colônias de moscas coletadas diretamente em tomateiros foram preparadas e enviadas à Dra. J.K.Brown, Departamento de Ciências e Plantas, Universidade do Arizona, Tucson, Arizona, EUA, em julho de 1993. Os resultados obtidos indicaram tratar-se do biótipo B, *Bemisia argentifolii*, sendo que a identificação foi baseada em análises sobre a ausência de setas ASMS4 (França et al., 1996).

Liedl et al. (1995) relataram que a redução na população de insetos adultos de *B. argentifolii* estava relacionada com aplicações de acilaçúcares purificados sobre essas populações através de pulverizações sobre as plantas. Observaram também que a ovoposição era afetada pelos acilaçúcares, resultando em uma redução no número de ninfas e ovos encontrados. Entretanto, os acilaçúcares não afetaram o desenvolvimento das ninfas. A quantidade desses compostos necessária para impedir a infestação e a ovoposição da *B. argentifolii* se aproxima de 29 microgramas/cm² e está abaixo da quantidade de 50 a 70 microgramas/cm² que é necessário para o controle de outras pragas. Os efeitos dos acilaçúcares extraídos do *L. pennellii*, quando aplicados em plantas de *L. esculentum*, persistiam por um longo período. A contagem dos insetos foi feita 2, 4, 6 e 24 horas após às aplicações. Observou-se que todos os insetos

contidos na gaiola já se encontravam presos e mortos no ato da primeira contagem. Os acilaçúcares extraídos do *L. pennellii* atuam principalmente como barreira para a ovoposição das moscas e os efeitos desses compostos sobre as ninfas são resultado do seu efeito sobre a ovoposição e não na eclosão e sobrevivência das larvas.

A escolha do substrato pela mosca branca *B. argentifolii* pode ser um fator fundamental, visto que esse inseto se alimenta e ovoposita na mesma folha. Essa seleção é baseada em estímulos visuais, olfativos e gustativos (Lentere e Noldus, 1990).

Em trabalhos anteriores foi expressa a preocupação de que os acilaçúcares, em quantidades elevadas, poderiam causar interferência na ação de parasitóides, que viriam atuar no controle biológico da mosca (Berlinger e Dahan, 1984; Ponti et al., 1975). A transferência da capacidade de produção de acilaçúcares para tomate cultivados mostrou que os níveis de açúcares acumulados, apresentam-se em níveis satisfatórios para o controle da mosca branca, contudo, ocorre a diminuição da pegajosidade, não afetando assim o uso simultâneo de controle biológico (Lield et al., 1995).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em três etapas distintas: a primeira foi realizada sob estufas plásticas, localizadas na estação de pesquisa e produção de sementes de hortaliças, localizada na Fazenda Palmital, município de Ijací - MG, sob o convênio da Fundação de Apoio ao Ensino Pesquisa e Extensão (FAEPE), com o professor Wilson Roberto Maluf, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras; as duas últimas etapas dos trabalhos foram desenvolvidas na Universidade Federal de Lavras, junto aos Departamentos de Agricultura e de Química.

3.1- Obtenção das gerações do cruzamento interespecífico

3.1.1- Semeadura dos genitores para obtenção da geração F₁

Os genitores *Lycopersicon pennellii* 'LA716' – fonte de pólen; acesso selvagem com alto teor de acilacúcares e fonte da resistência a insetos e *Lycopersicon esculentum* Mill. 'TOM-584' – genitor feminino; linhagem resistente a tospovírus com background Santa Clara – foram semeados em bandejas de semeadura e posteriormente repicados para bandejas de 128 células tipo "speedling". As mudas foram transplantadas para o campo 15 dias após terem sido repicadas. Foram transplantadas 40 plantas do genitor masculino e 30 plantas do genitor feminino. Realizaram-se regas diárias, tanto nas bandejas quanto no campo, e pulverizações, preventivas ou curativas, com fungicidas ou inseticidas, de acordo com a necessidade.

No início do florescimento das plantas foram realizados os cruzamentos artificiais, com emasculação e polinizações manuais. Dessa forma, obtiveram-se frutos dos quais as sementes eram híbridos F_1 .

3.1.2 - Obtenção da geração F_2

As sementes F_1 foram semeadas obedecendo-se aos mesmos critérios utilizados para os genitores, diferindo apenas no estabelecimento final, no qual foram utilizados vasos de polietileno com capacidade 5 litros em casa de vegetação. A partir da autofecundação de plantas F_1 foi possível obter-se, aproximadamente, 5 g de sementes F_2 .

3.2- Identificação de acilacúcares em folíolos de tomateiro

Para a identificação dos acilacúcares, utilizaram-se 2 g de folíolos jovens e expandidos dos genitores *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' e *Lycopersicon pennellii* 'LA716' e, do seu respectivo híbrido F_1 . As folhas coletadas de cada genótipo foram colocados em 50 mL de metanol, permanecendo neste por 24 horas. A solução obtida foi filtrada a vácuo e, em seguida, levada ao evaporador rotatório, obtendo-se um resíduo de cada genótipo. Secou-se em estufa a 50°C para evaporar o metanol remanescente. Decorrido um tempo de 48 horas, as amostras foram armazenadas em geladeira e, posteriormente, preparadas em pastilhas com KBr e analisadas no espectrofotômetro de infravermelho, IV – marca Shimadzu, modelo FTIR - 8201 A – tendo como padrão comparativo um espectro de IV de sacarose (Figura 3).

3.3 - Padronização do método colorimétrico.

Os genótipos *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' e *Lycopersicon pennellii* 'LA716' foram utilizados para testes, com o intuito de se obter um método padrão, para quantificação de aleloquímicos do grupo acilaçúcares.

3.3.1- Descrição do método

O método consistiu na retirada, com perfurador de disco de 3/8" de diâmetro (Figura 2), de seis amostras de discos de folhas – total 4,21cm² de área foliar – localizadas no terço superior, para a extração dos acilaçúcares. As plantas amostradas apresentavam idade entre 40 e 70 dias, após a repicagem.

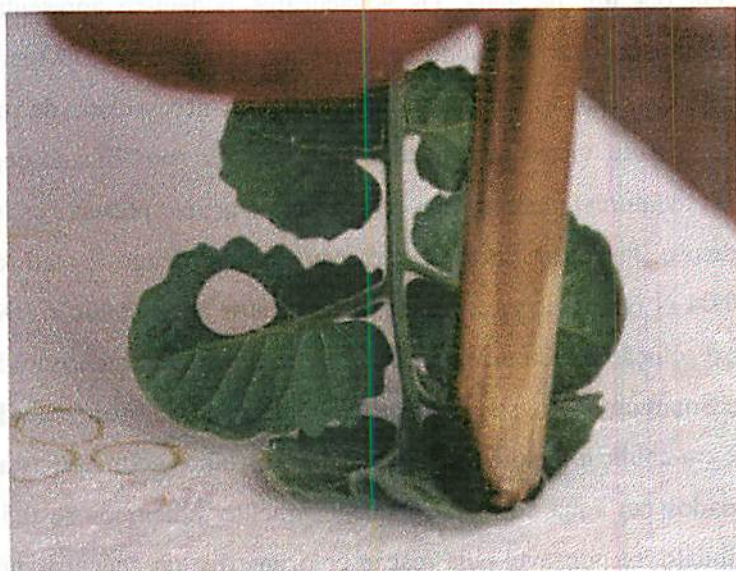


FIGURA 2 – Retirada dos discos foliares de *Lycopersicon pennellii* 'LA716,' utilizando vasador com diâmetro 0.70138 cm, UFLA – Lavras – MG, 1999.

Os discos provenientes dos folíolos foram acondicionados em tubos de ensaio, onde adicionou-se 1 mL de diclorometano (CH_2Cl_2) para a extração dos acilacúcares presentes. Agitou-se em aparelho vórtex, por 30 segundos, retiraram-se os folíolos, evaporou-se o solvente e, em seguida, adicionou-se 0.5 mL de hidróxido de sódio 0.1 N (NaOH), dissolvido em metanol (Merck), evaporando-o em seguida. O resíduo foi mantido em alta temperatura (100°C), no qual adicionou-se metanol por três vezes, em intervalos de 2 minutos, de forma a garantir o processo de reação. O hidróxido de sódio, dissolvido em metanol adicionado, teve como objetivo promover a saponificação dos grupos acilados constituintes da molécula do acilacúcar, liberando, dessa forma, somente o açúcar presente. Após a evaporação total do metanol, o resíduo foi dissolvido em 0.4 mL de água. Os acilacúcares podem-se apresentar como acilglicose e acilsacarose, de modo que, após a saponificação, obtem-se uma mistura de glicose e sacarose. Desse modo, houve a necessidade de inverter a sacarose para glicose, visto que o método colorimétrico (modificado de Nelson, para açúcares redutores), necessitaria de que todo o açúcar presente estivesse na forma de glicose. Para a inversão de sacarose, foi adicionado 0.1 mL de ácido clorídrico 0,04 N (HCl), aquecendo-se por 5 minutos até à ebulição. Decorrido esse tempo, a solução obtida foi resfriada e, em seguida, adicionou-se 0.5 mL do reagente de Somogy e Nelson (reagente A + reagente B; proporção de 25:1). Aqueceu-se em ebulição por 10 minutos e, após, os tubos contendo as amostras foram resfriados em água corrente. Sequencialmente, adicionou-se 0.5 mL de arseniomolibdato, responsável pela reação colorimétrica do açúcar redutor com o reagente de Somogy e Nelson. Agitou-se por 15 segundos, no vórtex e submeteu-se à leitura espectrofométrica (espectrofotômetro, marca Varian, modelo Cary 50), para absorbância na faixa de 540 nm (Somogy, citado por Nelson, 1944).

3.3.2- Curva padrão

Para obtenção da curva padrão (Tabela 1), preparou-se uma solução padrão de glicose 80 mg/L, através da adição de 800 mg (0.8 g) de glicose em 1 L de água, diluindo-a por 10 vezes, para se obter a concentração desejada. As concentrações indicadas para cada ponto na curva foram expressas no seu equivalente em nanomols /cm² de área foliar, de forma a se obter, após a leitura em espectrofotômetro, as concentrações, nos folíolos, expressas nessa última unidade.

3.3.2.1 Transformação dos dados da curva padrão

O método utilizado para quantificação dos teores de açúcares, em genótipo de tomateiro, foi padronizado a partir da modificação da metodologia para açúcares redutores descrita por Nelson (1944). Fizeram-se algumas alterações nas unidades utilizadas para medição dos teores de açúcares. A unidade utilizada nos padrões eram mg/L, enquanto que, para medir as concentrações de açúcares, em folíolos de tomateiro, a mensuração em nanomols/cm² de área foliar foi considerada a mais adequada (Tabela 2). Procedeu-se da seguinte maneira: a) a concentração da solução-estoque utilizada para montagem da curva padrão foi de 80 mg/L, sendo que os pontos da curva possuem cada um valores diferentes de concentração e, conseqüentemente, de volume. O primeiro passo foi obter as concentrações de glicose contidas em cada ponto da curva, de acordo com o volume da solução-estoque utilizada; b) as concentrações em mg/L, obtidas em cada ponto da curva, foram transformadas para mol (s) de glicose e, posteriormente em nanomols (10⁻⁹ mols) de glicose; c) essa quantidade de glicose corresponderia à leitura de um tubo, onde por sua vez, teriam sido colocadas amostras correspondentes a 6 folíolos (com 0.70138

cm de diâmetro cada), perfazendo uma área foliar total de 4.21 cm²; d) portanto, a leitura em nanomols de glicose obtida em (b) foi dividida por 4.21, para que as unidades fossem expressas em nanomols/cm² de área foliar.

TABELA 1. Curva padrão para teores de acilaçúcares. UFLA - Lavras - MG, 1998.

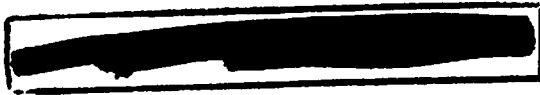
Trat.	Volume da sol.padrão de glicose (mL)	Volume H ₂ O (mL)	Volume R.Nelson (mL)	Conc. glicose (mg/mL)		Volume Arsenio-molibdato (mL)	Volur final (mL)
1	0.05	0.45	0.50	0.004	E	0.50	1.50
2	0.10	0.40	0.50	0.008	B	0.50	1.50
3	0.15	0.35	0.50	0.012	U	0.50	1.50
4	0.20	0.30	0.50	0.016	L	0.50	1.50
5	0.25	0.25	0.50	0.020	I	0.50	1.50
6	0.30	0.20	0.50	0.024	Ç	0.50	1.50
7	0.35	0.15	0.50	0.028	Ã	0.50	1.50
8	0.40	0.10	0.50	0.032	O	0.50	1.50
9	0.45	0.05	0.50	0.036	(10')	0.50	1.50
10	0.50	-	0.50	0.040		0.50	1.50
B	-	0.50	0.50	-		0.50	1.50
B	-	0.50	0.50	-		0.50	1.50

TABELA 2. Transformação das concentrações mg /L para nanomols /cm² da solução padrão da curva. UFLA - Lavras - MG, 1998.

Tratamento	Volume da solução-estoque de glicose (mL)	Concentração nmols/cm ²
1	0.05	5.273
2	0.10	10.546
3	0.15	15.819
4	0.20	21.092
5	0.25	26.389
6	0.30	31.638
7	0.35	36.912
8	0.40	42.185
9	0.45	47.458
10	0.50	52.779
B	-	-
B	-	-

3.4-Instalação experimental da população F₂

Os pais (*Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' e *Lycopersicon pennellii* 'LA716'); as gerações F₁ e F₂ foram semeadas em bandejas de semeadura. Após 15 dias, as plântulas foram repicadas para bandejas de isopor (128 células) tipo "speedling". Posteriormente, as mudas foram transplantadas para vasos, com capacidade para 500 mL de substrato e mantidas sob casa de vegetação.



3.4.1- Substrato utilizado

O substrato utilizado nas bandejas de semeadura foi constituído de palha de arroz carbonizada e substrato comercial Plantimax® na proporção de 1:1. As mesmas proporções de substratos acima, porém acrescidos com 300 g de adubação química, foram utilizadas para as bandejas tipo "speedling".

O substrato utilizado para os vasos, no estabelecimento final do experimento, constituiu-se de uma mistura de 60 kg de terra de barranco, tratada com brometo de metila, 30 kg de areia lavada, 15 kg de humus de minhoca, 12 kg de substrato comercial Plantimax® e 3kg de fertilizante 04-30-16.

3.4.2 Número de plantas analisadas

(P₁) *Lycopersicon esculentum* 'TOM -584' – 48 plantas

(P₂) *Lycopersicon pennellii* 'LA716' – 48 plantas

(F₁) *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' x *Lycopersicon pennellii* 'LA716' – 48 plantas

(F₂) *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' x *Lycopersicon pennellii* 'LA716' – 256 plantas

As plantas dos diferentes tratamentos foram dispostas numa bancada em casa de vegetação. Os génotipos foram distribuídos em 8 blocos com 50 plantas cada. Cada bloco foi constituído de 6 plantas de cada genitor, 6 plantas da geração F₁ e 32 plantas da população F₂, distribuídos em posições aleatórias dentro dos blocos. As análises dos teores de açúcares foram feitas ao longo de 8 dias, correspondendo cada dia, a um bloco completo de 50 plantas.

Os teores de açúcares foram estimados, pela análise de amostras de folhas das plantas, através do método colorimétrico de quantificação citado anteriormente.

3.5-Controle genético dos teores de açúcares

Foram estimadas as médias e variâncias de TOM-584 e LA716, das gerações F_1 e F_2 . Posteriormente, foi estimada a variância genética (V_G) e a herdabilidade, no sentido amplo (h^2_a), utilizando o procedimento semelhante a Ramalho et al. (1990), em que:

$$h^2_a = V_G/V_{F_2}$$

sendo:

h^2_a = Herdabilidade no sentido amplo

V_G = Variância genética entre as médias dos genótipos

V_{F_2} = Variância fenotípica na geração F_2

$V_G = V_{F_2} - V_E$

V_E = Variância ambiental.

A variância ambiental (V_E) pode ser obtida, segundo a metodologia proposta, por Vencovsky e Barriga (1992), através das variâncias na geração F_1 e nos parentais:

$$V_E = (V_{P_1} \cdot V_{F_1} \cdot V_{P_2})^{1/3}$$

3.6 - Componentes de média

Os componentes de médias foram estimados, segundo a metodologia de Mather e Jinks (1984), através do método dos quadrados mínimos ponderados, servindo como pesos à razão inversa das variâncias das médias de cada população. Foi necessário utilizar-se dessa ponderação, uma vez que as estimativas das médias não foram obtidas com a mesma precisão.

A metodologia consiste em estimar os parâmetros m , $[a]$ e $[d]$, a partir das médias das populações disponíveis.

$$\bar{P}_1 = [m] - [a]$$

$$\bar{P}_2 = [m] + [a]$$

$$\bar{F}_1 = [m] + [d]$$

$$\bar{F}_2 = [m] + [d]/2$$

Em que:

[m] = média dos materiais parentais

[a] = soma ponderada dos efeitos aditivos

[d] = soma ponderada dos efeitos de dominância.

Estas estimativas foram então utilizadas para o cálculo do valor esperado de cada população e, posteriormente, foi realizado o teste chi-quadrado, para a validade do modelo genético assumido.

Em caso de não-rejeição do modelo, estimou-se o grau médio de dominância (GMD): $GMD = [d]/[a]$.

Para estimativa do número de genes(n) foram utilizadas as expressões de Burton (1951):

$$n = \frac{1/4(3/4 - h + h^2)D^2}{V_{F_2} - V_E} ; \quad h = \frac{\bar{F}_1 - \bar{P}_1}{\bar{P}_2 - \bar{P}_1} \quad \text{e} \quad D = \bar{P}_2 - \bar{P}_1$$

3.7 - Teste da hipótese de herança monogênica

Os dados obtidos para teores de acilaçúcares, observados por plantas nas diferentes gerações, foram utilizados para verificação da hipótese de herança monogênica, sob diferentes graus médios de dominância. A distribuição de frequências de plantas de cada geração, quanto ao teor de acilaçúcares, foi determinada para cada população.

Escolheu-se um ponto de truncagem (PT), abaixo do qual se situassem a maioria das plantas do genitor P_1 e acima do qual se situassem a maioria das plantas do genitor P_2 . Sob vários graus médios de dominância (GMD) presumidos foi testada a hipótese de herança monogênica.

O teste da hipótese de herança monogênica, sob um grau médio de dominância (GMD) considerado, baseou-se nas seguintes suposições e procedimentos:

- a) a distribuição dos teores de acilaçúcares (fenótipos) em cada uma das gerações (P_1 , P_2 , F_1 , F_2) segue uma distribuição normal;
- b) para cada uma das gerações parentais, a média verdadeira (\bar{P}_1, \bar{P}_2) foi considerada igual à respectiva média estimada, e a variância verdadeira considerada igual à respectiva variância estimada;
- c) com base nas respectivas curvas normais, foram estimadas as porcentagens esperadas de plantas em P_1 e P_2 com teor de acilaçúcar menor ou igual ao ponto de truncagem (PT) (admitindo como sendo $PT = 40 \text{ nanomols/cm}^2$ de área foliar);
- d) a média verdadeira da população F_1 foi admitida, como sendo:

$$\bar{F}_1 = (\bar{P}_1 + \bar{P}_2) / 2 + GMD(\bar{P}_2 - \bar{P}_1) / 2$$

A variância verdadeira da população F_1 foi admitida como sendo igual à respectiva variância estimada;

e) com base na distribuição normal da população F_1 , foi calculada para esta população a porcentagem esperada de plantas com teores de acilaçúcares $\leq PT$;

f) sob hipótese de herança monogênica, calculou-se para F_2 , a frequência esperada do número de plantas com teores de acilaçúcares $\leq PT$, como sendo a média ponderada das frequências esperadas em P_1 , F_1 e P_2 , com ponderações de 1 : 2 : 1 respectivamente;

g) as frequências esperadas das plantas com teores de acilaçúcares $\leq PT$, obtidas para P_1 (item c), P_2 (item c), F_1 (item d), F_2 (item e) foram multiplicadas pelo número de plantas avaliadas por geração, obtendo-se, assim, o número esperado de plantas com teores de acilaçúcares $\leq PT$, sob a hipótese de herança monogênica com o grau de dominância GMD considerado;

h) os números esperados de plantas em P_1 , P_2 , F_1 e F_2 com teores de acilaçúcares $\leq PT$ foram comparados aos números efetivamente obtidos, computando-se o valor de chi - quadrado com 3 g.l.;

i) a significância do valor de chi - quadrado obtido levará à rejeição da hipótese de herança monogênica, sob o grau de dominância considerado. Por outro lado, a não significância do valor de chi - quadrado obtido levará a não rejeição dessa hipótese, admitindo-se então, a possibilidade de tratar-se de herança monogênica, sob o GMD considerado;

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Identificação do aleloquímico

Para confirmação da presença dos acilaçúcares fez-se uso da análise de dados obtidos através do espectro de Infravermelho (IV). Os extratos dos genótipos *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584', *Lycopersicon pennellii* 'LA716', e da geração F₁ foram submetidos a essa técnica. Como padrão comparativo utilizou-se o espectro de infravermelho da glicose (Figura 3). O espectro de infravermelho dos extratos obtidos do genótipo selvagem (*Lycopersicon pennellii* 'LA716'), não submetidos à saponificação e inversão (Figura 4), mostrou-se bem característico de um composto com grupos acilas presentes. Em torno de 3470 cm⁻¹, aparece uma banda que é atribuída aos estiramentos das ligações O-H presentes. No intervalo de 2958 - 2761 cm⁻¹ observa-se uma banda, que é característica dos estiramentos simétricos e assimétricos dos grupos metilas (-CH₃), metilênicos (-CH₂) e metínicos (-CH) sobrepostos. A presença de um sinal forte em 1728 cm⁻¹ evidencia a presença da carbonila de um éster, enquanto as deformações axiais da ligação O-C-C- destas moléculas aparecem como um sinal em 1274 cm⁻¹.

Em 1122 cm⁻¹ aparece uma banda característica da deformação axial assimétrica da ligação C-O-C do anel (Silverstein, 1994; Pavia et al., 1996; Shiriner et al., 1983). O espectro de infravermelho (IV) do genótipo acima, submetido ao tratamento apresentou bandas similares àquelas encontradas no padrão de glicose, antes e depois do tratamento, caracterizando dessa forma a presença de aleloquímico do grupo acilaçúcares. Em ambos os espectros observa-se uma banda larga, no intervalo de 3700 - 2800 cm⁻¹, caracterizando a presença dos estiramentos simétricos da ligação O-H, sobrepostos com os

estiramentos simétricos e assimétricos das ligações dos grupos metílicos ($-\text{CH}_3$), metilênicos ($-\text{CH}_2$) e metínicos ($-\text{CH}$). Esta banda aparece bem larga devido aos grupos hidroxílicos presentes nos açúcares livres, o que não ocorre com o espectro do acilaçúcar sem os respectivos tratamentos.

O espectro do genótipo comercial, *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' (Figura 5), não apresentou bandas, que caracterizassem a presença do acilaçúcar. O híbrido F_1 (Figura 6), apresentou em seu espectro, bandas, caracterizando pequenas quantidades de acilaçúcares, quando comparadas ao genótipo selvagem e ao padrão de glicose.

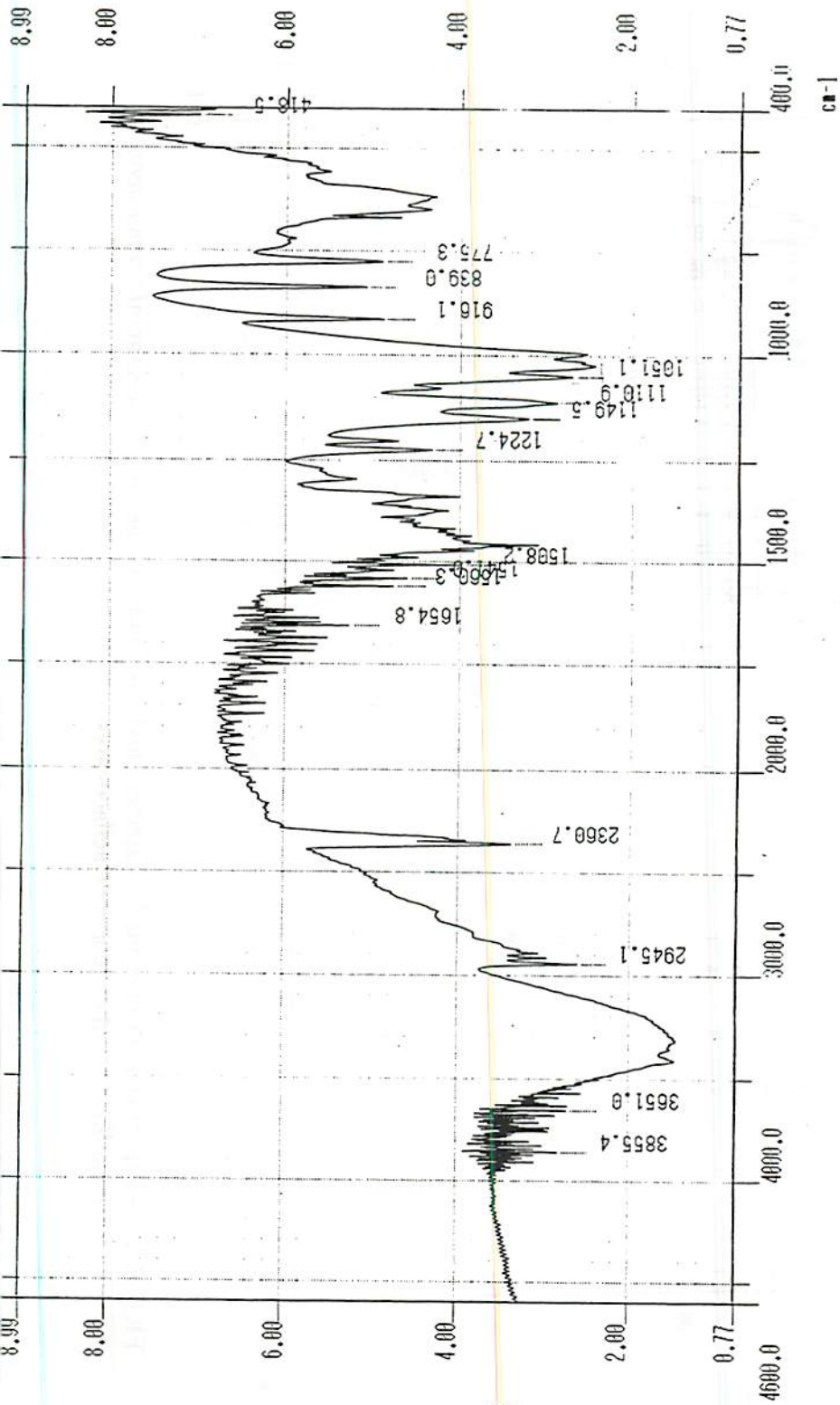


FIGURA 3 – Espectro de infravermelho caracterizando as bandas do padrão de glicose para fins de identificação das moléculas de acilafúcares.

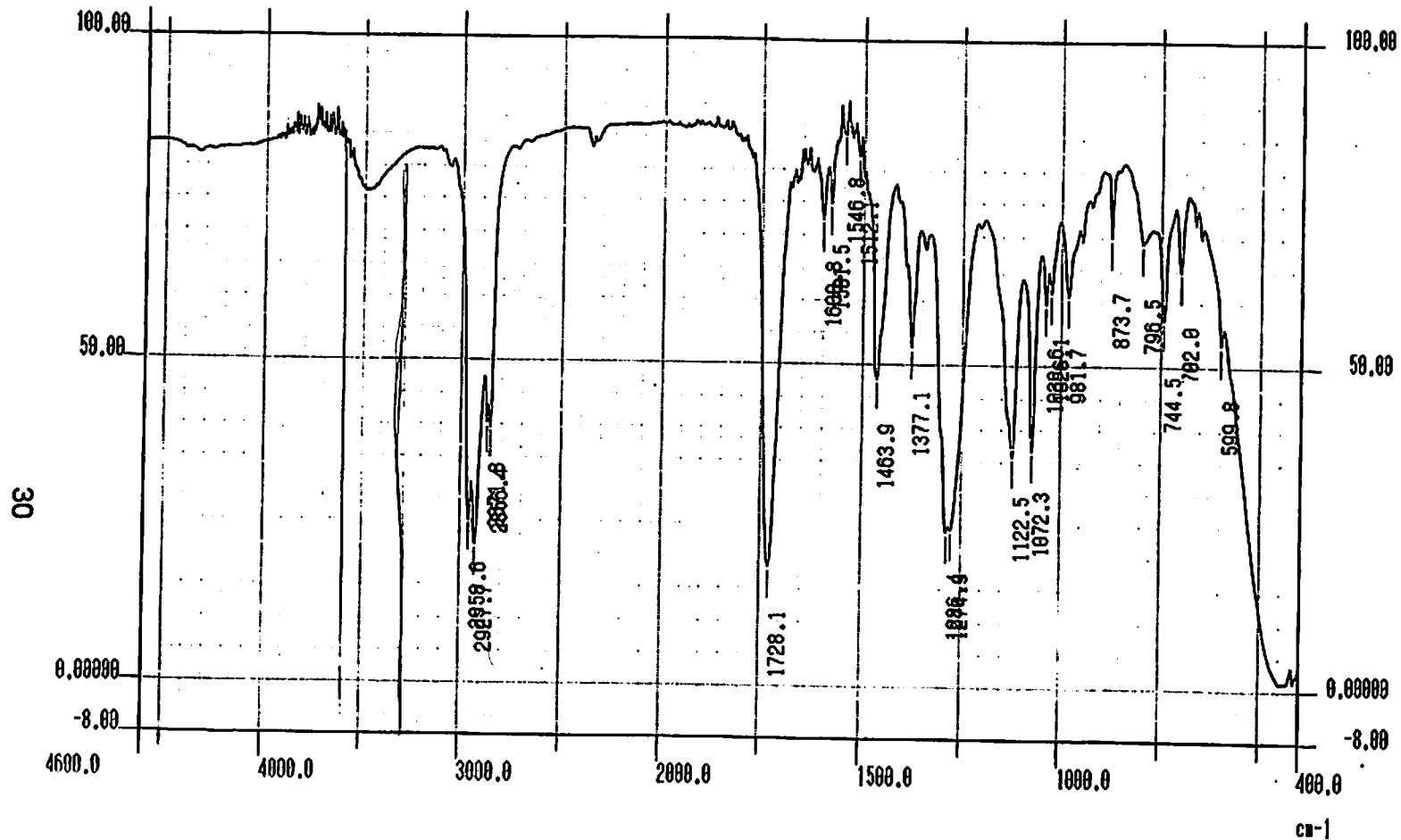


FIGURA 4 – Espectro de infravermelho caracterizando as bandas no genótipo selvagem *Lycopersicon pennellii*, para altos teores de acilaçúcares

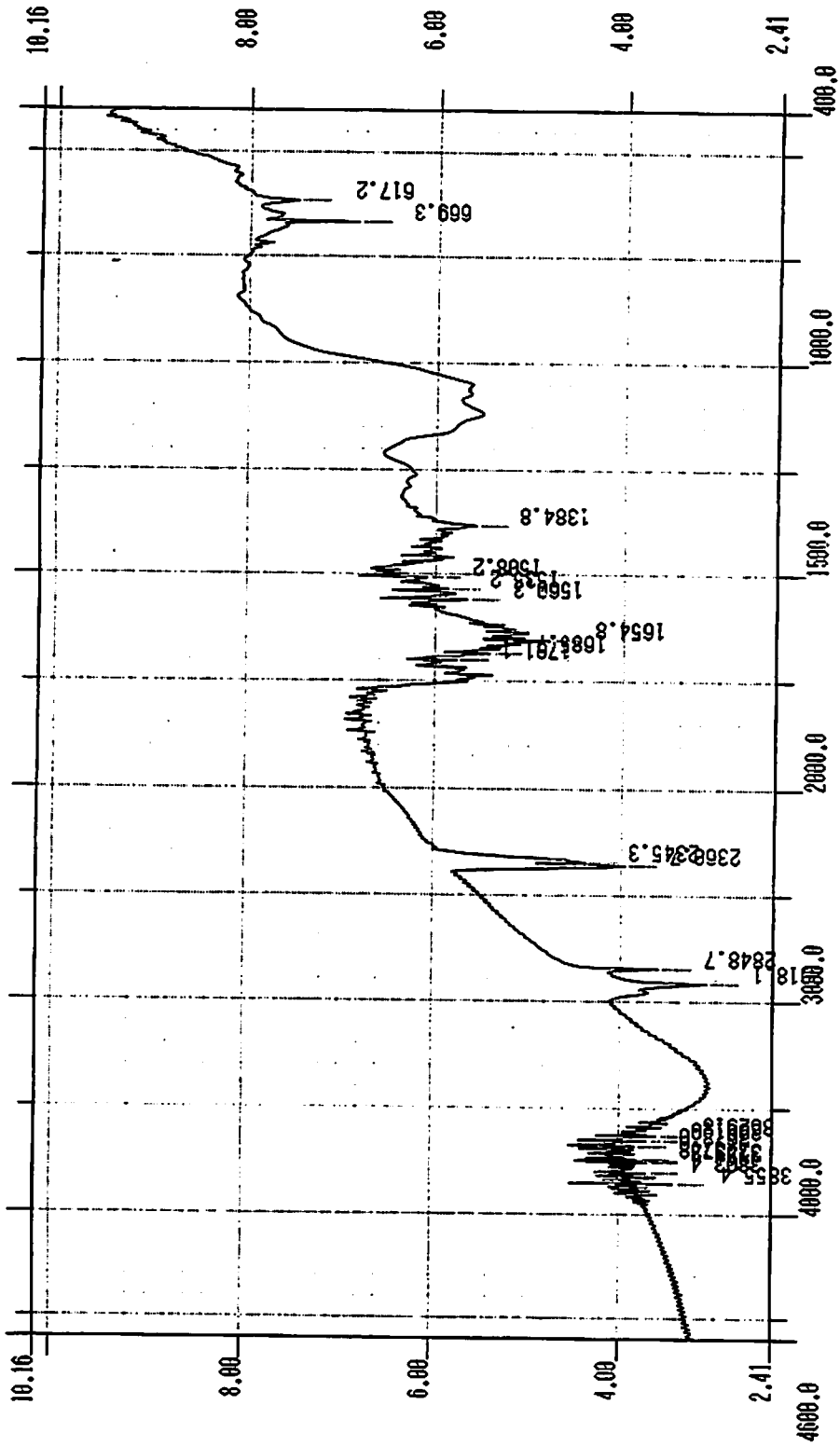


FIGURA 6 – Espectro de infravermelho caracterizando as bandas no genótipo F₁ do cruzamento entre *Lycopersicon esculentum* MILL. e *Lycopersicon pennellii*, LA716

4.2- Padronização do método colorimétrico

Testes preliminares, utilizando os genótipos 'TOM-584', 'LA716' e o híbrido F₁, foram realizados com o objetivo de padronização do método. O genótipo selvagem 'LA716', após todo processo descrito, no item 3, apresentou solução de coloração verde escuro, enquanto o genótipo comercial 'TOM-584', apresentou solução de coloração, variando de amarelo claro a verde claro. O híbrido F₁ apresentou solução de coloração intermediária como se pode observar na Figura 7.

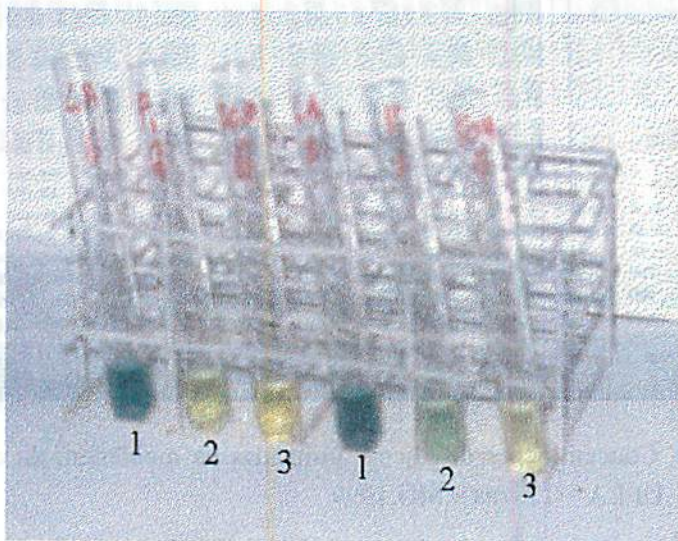


FIGURA 7 – Testes preliminares para padronização do método, utilizando os genótipos contrastantes e seu híbrido F₁. UFLA–Lavras – MG, 1999.

Onde:

- 1- *Lycopersicon pennellii* 'LA716'
- 2- F₁ (*Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon pennellii*)
- 3- *Lycopersicon esculentum* 'TOM584'

No ensaio realizado observou-se que o genótipo selvagem 'LA716' possuía valores de absorbância, até quatro vezes maior que o genótipo comercial 'TOM-584'. Verificada a viabilidade do método, passou-se a dar ênfase à montagem da curva padrão

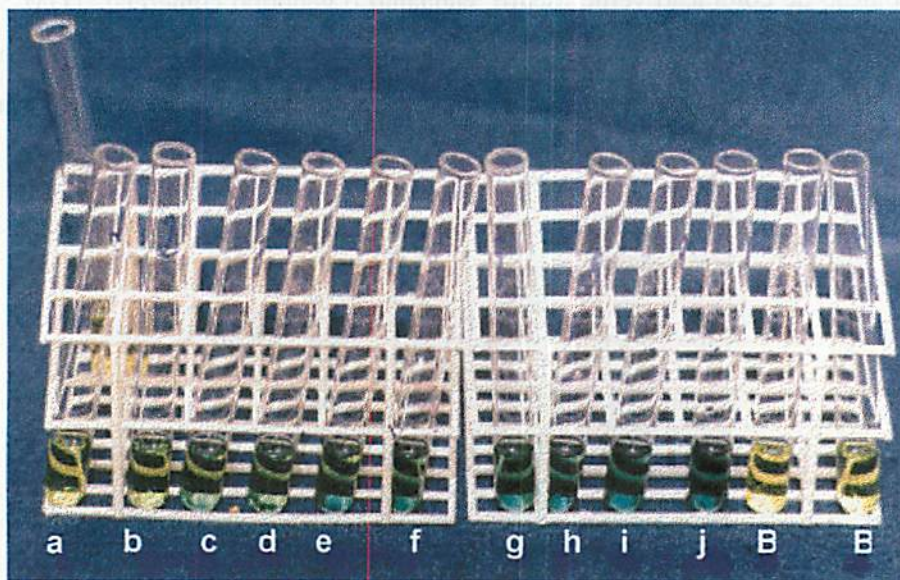


Figura 8 – Concentrações de glicose utilizadas na montagem da curva padrão.
UFLA – Lavras – MG,1999.

Onde:

- | | |
|---|---|
| a)-5.273 - nmols/cm ² de área foliar | i)- 47.458 - nmols/cm ² de área foliar |
| b)-10.546 - nmols/cm ² de área foliar | j)- 52.779 - nmols/cm ² de área foliar |
| c)- 15.819 - nmols/cm ² de área foliar | B - branco |
| d)- 21.092 - nmols/cm ² de área foliar | |
| e)- 26389 - nmols/cm ² de área foliar | |
| f)- 31.638 - nmols/cm ² de área foliar | |
| g)- 36.912 - nmols/cm ² de área foliar | |
| h)- 42.185 - nmols/cm ² de área foliar | |

Para cada bloco de genótipos analisados fez-se uma nova curva padrão. Dentre as curvas montadas, para obtenção da equação para regressão linear, teve-se o cuidado de rejeitar àquelas em que R^2 se mostrava inferior a 0.9500. A média dos valores de R^2 obtidos foi de 0.9975, indicando dessa forma uma grande eficiência dos padrões utilizados para montagem da curva.

4.3 - Quantificação dos teores de acilaçúcares em *Lycopersicon spp*

Os teores médios e variâncias, referentes aos teores de acilaçúcares das populações analisadas, assim como o número de plantas consideradas em cada caso encontram-se na Tabela 3. Os resultados confirmam os ensaios preliminares, em que *Lycopersicon pennellii* 'LA716' apresentou teores médios de acilaçúcares, cerca de 3 vezes os de *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584' e o híbrido interespecífico cerca de 1.14 vezes o encontrado em 'TOM-584'.

TABELA 3. Teores médios de acilaçúcar e respectivas variâncias em *Lycopersicon esculentum* 'TOM-584', *Lycopersicon pennellii* 'LA716', F₁ e F₂. UFLA – Lavras – MG, 1999.

Genótipos	Número de plantas amostradas	Concentração média de acilaçúcar (nmols/cm ² de área foliar)	Variância
TOM-584	48	28.2599	172.3493
LA 716	48	63.7495	565.7194
F ₁	48	32.8712	124.7208
F ₂	256	39.4111	438.6591

4.4 - Controle genético dos teores de açúcares em folíolos

Os componentes de média obtidos, segundo Mather e Jinks (1984), estão apresentados na Tabela 4.

TABELA 4. Estimativas dos componentes de médias e teste do chi - quadrado de validade do modelo de Mather e Jinks (1984), de um cruzamento entre linhagens de tomateiro, para a característica teor de açúcar. UFLA – Lavras – MG, 1999.

Populações	Média (valor observado)	Média (valor estimado)	Desvio
TOM-584	28.25990	28.25501	0.00489
LA-716	63.74950	63.74461	0.00489
F ₁	32.87120	32.86143	0.00976
F ₂	39.41110	39.43062	0.01953
[m]	45.99982		0.00735
[d]	-13.13838		0.00747
[a]	17.74480		0.00816
Grau médio de Dominância = GMD = [d] / [a]			-0.74
χ^2			1.81 ^{ns}

Chi - quadrado apresentou valor de 1.81, levando a não rejeição do modelo. Isso indica que o modelo aditivo - dominante é adequado para explicar a variação

observada e que não há evidências de ação gênica epistática na expressão do caráter teor de acilaçúcares.

O grau médio de dominância estimado foi de -0.74, indicando ação gênica de dominância incompleta, no sentido de menor teor de acilaçúcares.

O número de genes estimado pela expressão de Burton (1951) foi $n=1.36$, sugerindo, portanto, tratar-se de herança monogênica.

A partir da Tabela 3 calculou-se a herdabilidade no sentido amplo. O componente de variância ambiental (V_E) foi estimado a partir da média geométrica das variâncias das gerações não segregantes. Isso porque houve uma grande discrepância entre essas variâncias, principalmente as de 'TOM-584' e 'LA-716'. A herdabilidade no sentido amplo (h^2_a), assim estimada para esse caráter foi de 0.48, um valor razoavelmente alto, permitindo concluir que a seleção de plantas individuais, com base na característica avaliada, pode ser bastante eficiente. Uma vez que os teores de acilaçúcares estão relacionados à resistência a artrópodos como a mosca branca e a traça do tomateiro (França et al., 1984b), conclui-se que a seleção para altos teores de acilaçúcares poderá contribuir para o melhoramento do tomateiro, visando a resistência a esses artrópodos.

Na distribuição de freqüências dos teores de acilaçúcares da geração F_2 (Figura 9), visualiza-se uma predominância de plantas com baixo teor de acilaçúcares, reflexo da dominância existente do alelo que condicionam esses baixos teores.

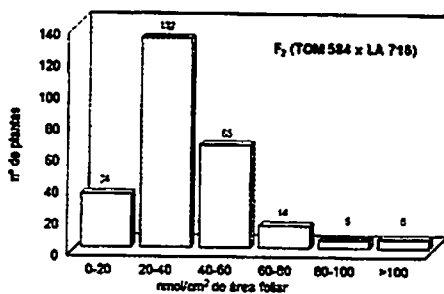
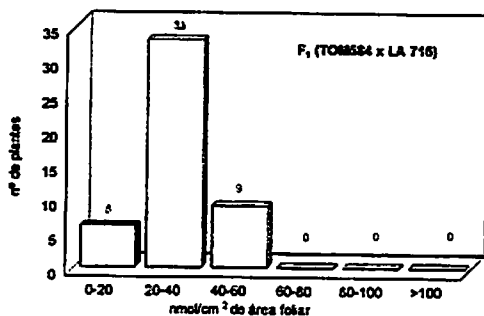
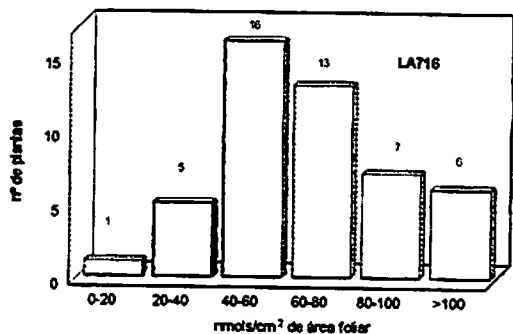
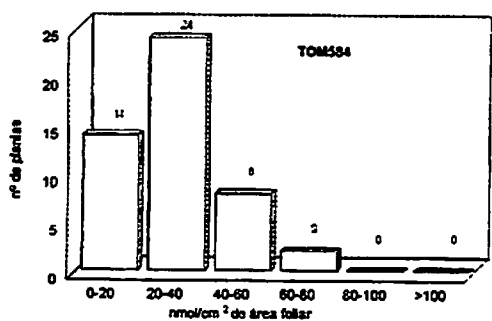


FIGURA 11- Distribuição de frequências dos teores de acilaçúcares dos parentais e das gerações obtidas do cruzamento entre *Lycopersicon esculentum* e *L. pennellii*

4.5- Teste de herança monogênica para o caráter teores de acilaçúcares

Testes de hipótese de herança monogênica foram realizados numa faixa de graus médios de dominância (GMD) entre -1.5 e + 1.0

Teor de acilaçúcares

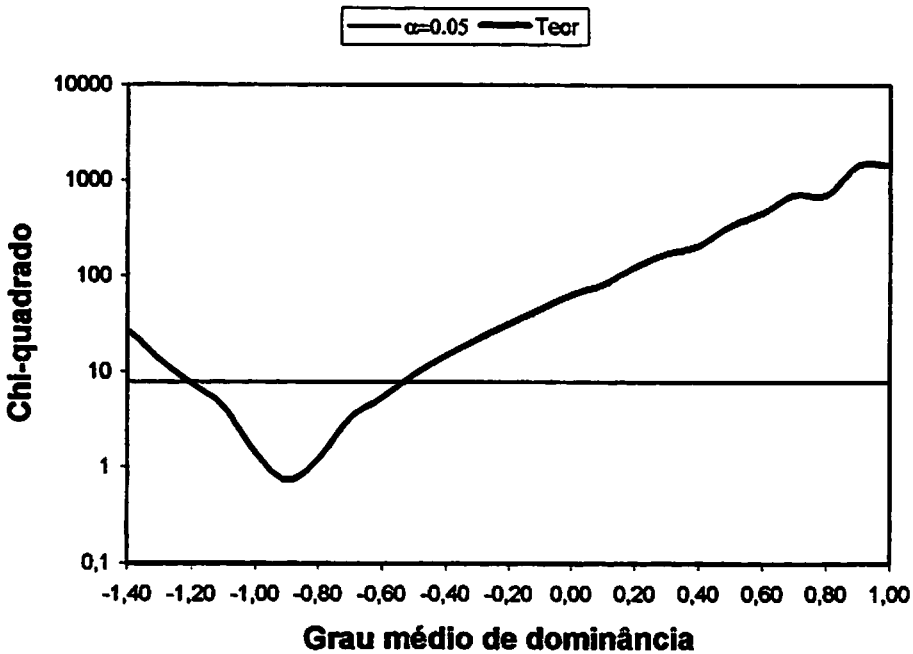


FIGURA 10. Valores de χ^2 para a hipótese de herança monogênica, sob diferentes graus médios de dominância presumido dos teores de acilaçúcares. UFLA – Lavras – MG, 1999.

A hipótese foi rejeitada, nos intervalos onde: $GMD < -1.20$ ou onde $GMD > -0.60$. Na faixa de GMD, que vai de -1.20 a -0.60 e que inclui a

estimativa pontual de $GMD = -0.74$, obtida anteriormente; a hipótese de herança monogênica não pode ser descartada.

As frequências obtidas em P_1 , P_2 , F_1 e F_2 podem, pois, ser explicadas pela ação de um único locus gênico, onde o alelo recessivo condiciona altos teores de acilacúcares nas folhas. Isso não exclui, no entanto, a presença de outros locos gênicos modificadores.

4.6-Discussão geral

Um método colorimétrico rápido, barato e não destrutivo foi estabelecido para a determinação dos teores de acilacúcares em folíolos de tomateiro. Verificou-se que a linhagem 'TOM-584' de *Lycopersicon esculentum* apresentou um teor substancialmente menor (28.26 nanomols/cm²) de acilacúcares, do que o acesso selvagem 'LA716' de *Lycopersicon pennellii* (63.75 nanomols/cm²). O híbrido F_1 (TOM-584 x LA716) apresentou teores ligeiramente superiores (32.87 nanomols/cm²) ao 'TOM-584' e substancialmente inferior ao de 'LA716', sugerindo que alelos recessivos presentes em 'LA716' sejam responsáveis pelos altos teores de acilacúcares nele encontrado. O valor de 1.36 estimado para número de genes sugere tratar-se de herança monogênica.

Um modelo genético aditivo-dominante ajustou-se aos dados obtidos, não havendo evidências de ação gênica epistática. O grau médio de dominância estimado foi de -0.74, confirmando a indicação de que um ou mais alelos recessivos presentes em 'LA716' são responsáveis pelos altos teores de acilacúcares.

Um valor moderadamente alto (0.48) foi encontrado para a estimativa de herdabilidade, no sentido amplo, indicando que a grande parte de variação entre plantas na geração F_2 é de natureza genética.

Um único loco gênico parece ser responsável pelo controle genético dos teores de acilaçúcares, no cruzamento interespecífico *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon pennellii*. Embora não se exclua a possibilidade de existência de genes modificadores, ficou evidente que a variação observada pode ser explicada pela segregação em um único loco, onde o alelo recessivo condiciona altos teores de acilaçúcares. Lemke e Mutschler (1984) indicaram que a presença, ou ausência de tricomas tipo IV – que exsudam acilaçúcares – têm herança simples, sendo controlada por, no máximo, dois genes não ligados. Os dados desses autores não contradizem, no entanto, os aqui encontrados, uma vez que eles não mediram diretamente os teores de acilaçúcares e, sim, às estruturas morfológicas a eles associadas. Por outro lado, a conclusão desses autores de que a herança dos número de tricomas não é complexa é coerente com os dados obtidos nesse trabalho.

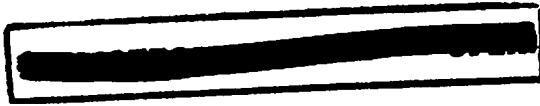
É possível presumir que o valor estimado para herdabilidade no sentido amplo ($h^2_a = 0.48$) pudesse ser aumentado através de uma amostragem mais representativa de folíolos: a componente de variância ambiental V_E pode embutir, além de variação planta – a – planta, também a variação entre diferentes partes de mesma planta. Esta última poderia ser reduzida ao se amostrar folíolos, em diferentes partes da planta – o que não foi feito nesse estudo, em vista do objetivo de se trabalhar com grandes populações segregantes com gasto mínimo de espaço e tempo. Uma redução na componente variância ambiental dentro de plantas levaria a menores valores de V_E , e, conseqüentemente, a maiores valores de herdabilidade.

Embora não haja na literatura estimativas de herdabilidade para resistência a artrópodos - pragas em cruzamentos semelhantes ao aqui estudado, em geral se esperam valores baixos de herdabilidade para esse caráter. Isso decorre, em geral, da dificuldade nos controles ambientais de um sistema de avaliação, que engloba não somente o hospedeiro (planta), mas também o

artropodo-praga, dificuldades de obtenção de condições uniformes de infestação, de espaço físico – ao se trabalhar com plantas adultas. É plausível, pois, admitir-se que seleção indireta de plantas com altos teores de açúcares (caráter de herdabilidade moderadamente alta), que pode ser efetuada rapidamente, em um número bastante grande de plantas, possa levar a ganhos genéticos mais rápidos, nos níveis de resistência a artrópodos - pragas, do que a própria seleção direta para resistência.

5 CONCLUSÕES

1. A metodologia desenvolvida para quantificação dos teores de acilaçúcares, demonstra potencial para aproveitar-se no melhoramento genético do tomateiro, devido ao baixo custo e à facilidade de seleção não destrutiva, de plantas individuais em gerações segregantes.
2. As estimativas dos parâmetros genéticos mostraram que o caráter produção de acilaçúcares pode ser controlado por apenas um gene, com dominância parcial do alelo que condiciona baixos teores.
3. A alta estimativa da herdabilidade, no sentido amplo, para a característica avaliada (48 %), indica que a seleção com base nessa característica, pode ser eficiente, no melhoramento, visando resistência a artrópodos.



6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, P.; ALFONSECA, L.; ABUD, A.; et al. Las moscas blancas en la Republica Dominicana. Serviço Técnico de Informação, n.205, p.34-37, 1993.
- BARONA, H. G.; PARRA, A. S.; VALLEJO, C.F.C. Evaluacion de espécies silvestres de *Lycopersicon* sp., como fuente de resistência a *Scrobpalpula absoluta* (Meyrick) y su intento de transferência a *Lycopersicon esculentum* Mill. Acta Agrônômica, Palmira, v.39, n.1-2, p.34-45, 1989.
- BERLINGER, M. J.; DAHAN, R. Resistance to the tobacco whitefly. *Bemisia tabaci*, in tomato and related species: a quick screening method. Bull. IOBC/WPRS, p.39-40, 1984.
- BURKE, A.B.; GOLDSBY, G.; MUDD, J.B. Polar Epicuticular Lipids of *Lycopersicon pennellii*. Phytochemistry, Oxiford v.26, n.9, p.2567-2571, Oct 1987.
- BURTON, G.W. Quantitative inheritance of pearl millet (*Pennisetum glaucum*). Agronomy Journal, Madison, v.43, n.9, p.409 - 416, Sep 1951.
- FILGUEIRA, F. A. Hortaliças. Manual de Olericultura: cultura e comercialização de hortaliças. 2 ed. São Paulo: Ceres, 1982. v.2, cap.8. Tomate: a mais universal das hortaliças p.223-300.

FOBES, J. F.; MUDD, J. B.; MARSDEN, M.P.F. Epicuticular lipid accumulation on the leaves of *Lycopersicon pennellii* (Corr.) D'Arcy e *Lycopersicon esculentum* Mill. **Plant Physiology**, Denville, v.77, n.1, p.567-570, Aug 1985.

FRANÇA, F. H.; MALUF, W. R.; ROSSI, P.E.F.; et al. Resistência em tomate à traça-do-tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, Londrina, 1984a. Resumos...p.124.

FRANÇA, F. H.; MALUF, W. R.; ROSSI, P.E.F.; et al. Avaliação e seleção em tomate visando resistência à traça-do-tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, Jaboticabal, 1984b. Resumos... p.143.

FRANÇA, F. H.; VILLAS BÔAS, G. L. & CASTELO BRANCO, M. Ocorrência de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera Aleyrodidae) no Distrito Federal. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. Itabuna, v.25, n.2, p.369-372, ago 1996.

FRANÇA, F. H.; MALUF, W. R.; FERREIRA-ROSSI, P.E.; et al. Breeding for resistance to *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) among *Lycopersicon* accessions in Brazil. In **Tomato and Pepper Production in the Tropics**. (Asian Vegetable Research and Development Center). Shanhua, v.2 n.5. p.113-122, 1989.

GALLO, D.; NAKANO, O. ; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L. ;et al.Manual de entomologia agrícola. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

GENTILE, A .G.; WEBB, R. E.; STONER, A. K. Resistance in *Lycopersicon* and *Solanum* species to the potato aphid. **Journal of Economic Entomology**. College Park, v.61, n.5, p.1152-1154, Aug 1968.

GENTILE, A. G.; WEBB, R. E.; STONER, A. K. Resistance in *Lycopersicon* and *Solanum* to greenhouse whiteflies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.61, n.6, p.1355-1357, Aug 1968.

GENTILE, A .G.; WEBB, R. E.; STONER, A. K. *Lycopersicon* and *Solanum* spp.resistent to the carmine and two- spotted spider mite. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.62, n.4, p.834-836, Aug 1969.

GOFFREDA, J.C.; MUTSCHLER, M. A.;TINGEY ,W.M . Feeding behavior of potato aphid affected by glandular trichomes of wild tomato. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.48.n.3, p.101-107, Aug 1988.

GOFFREDA, J .C.; MUTSHLER, M .A.; AVÉ, D. A: et al. Aphid deterrence by glucose esters in glandular trichome exudate of wild tomato, *Lycopersicon pennellii*. **Journal of Chemical Ecology**, New York,v.15, n.7, p.2135-2147, May 1989.

HARRIS, M.K. Allopatric resistance: searching for source of insect resistance for use in agriculture. **Enviroment Entomology**, Maryland, v.4,n.6, p.73 - 85, 1975.

HAWTHORNE, D. J.; SHAPIRO, J. A.; TINGEY, W. M.; et al. Trichome-borne and artificially applied acylsugars of wild tomato deter feeding and ovoposition of the leafminer *Liriomyza trifolii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Dordrecht .v.65, n.7, p.65-73, Aug 1992.

HOLLE, M.; RICK, C. M.; HUNT, D. G. Catalog of collections of green fruited *Lycopersicon* species of *S. pennellii* found in watersheds of Peru-Part I. *Report of Tomato Genetics Cooperative* , v.8, p.49-78, 1978.

HOLLE, M.; RICK, C. M.; HUNT, D. G. Catalog of collectin of green fruited *Lycopersicon* species and *S.pennellii* found in watersheds of Peru-Part II. *Report of Tomato Genetics Cooperative*, v.29, p.63-91, 1979.

HOLLEY, J. D.; KING, R. R.; SINGH, R .P. Glandular trichomes and the resistance of *Solanum berthaultii* (PI473340) to infection from *Phytophthora infestans*. *Can Journal of Plant Pathology*, v.9, p.291-294, 1987.

JUVIK, J. A.; SHAPIRO, J. A.; YOUNG, T. E.;et al. Acylglucose from wild tomato alters behavior and reduce growth and survival of *Helicoverpa zea* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae).*Entomology Society American*, Lanham, v.87, n.2, p.482-492 , May 1994.

JUVIK, J.A.; BERLINGER, M. J.; BEN-DAVID, T.;et al. Resistance among accessions of the genera *Lycopersicon* and *Solanum* to four of the main insect pest in Israel. *Phytoparasitica* , Rehovot, v.10, n.3, p.145-156, Oct 1982.

- KENNEDY, B. S.; NIELSEN, M. T.; SEVERSON, R. F.; et al. Leaf surface chemical from *Nicotiana* affecting germination of *Peronospora tabaci* sporangia. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v.18, n.3, p.1467-1479, Jan 1992.
- KING, R. R.; CALHOUN, L. A. 2,3-di-O- and 1,2,3-Tri-O- acylated glucose esters from the glandular trichomes of *Datura metel*. *Phytochemistry*, Oxiford, v.27, n.5, p.3765-3768, Jun 1988.
- KING, R. R. ; CALHOUN, L .A.; SINGH, R. P.;. 3,4-di-O- and 2,3,4-tri-O- acylated glucose esters from the glandular trichomes of non-tuberous *Solanum* species. *Phytochemistry*, Oxiford, v.27, n.4, p.3765-3768, May 1988.
- KING, R. R.; CALHOUN, L. A.; SINGH, R .P.;et al. Sucrose esters associated whit glandular trichomes of wild *Lycopersicon* species. *Phytochemistry*, Rehovot, v.29, n.2, p.2115-2118, Aug 1990.
- KING, R. R.; SINGH, R. P.; BOUCHER, A. Variation in sucrose esters from the type B glandular trichomes of certain wild potato species. *American Potato Journal*, Orono, v.64, n.1, p.529-534, May 1987.
- KING, R. R.; PELLETIER, Y.; SINGH, R. P.;et al. 3,4 di-O-isobutyryl-6-O-caprylsucrose: The major componentof a novel sucrose ester complex from the type B glandlar trichomes of *Solanum berthaultii* Hawkes (PI 473340). *Journal of Chemical Society*, Cambridge, v.14, n.7, p.1078-1079,Sep 1986.

- LARA, F.M. Princípios de resistência de plantas a insetos. Piracicaba: Livroceres, 1979.207p.
- LENKE, C. A.; MUTSCHLER, M. A. Inheritance of glandular trichomes in crosses between *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon pennellii*. *Journal of the American Society Horticultural Science*, Mount. v.109, n.8, p.592-596, May 1984.
- LENTERE, J. C. VAN.; NOLDUS , L. P. J. J. Whitefly-plant relationships behavioural and ecological aspect. In: Gerling, D. (ed.), whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept, Hants: Andver, 1990. p.47-89.
- LIEDL, B. E.; LAWSON, D. M.; WHITE, K. K.; et al. Acylsugars of wild Tomato *Lycopersicon pennelli* alters settling and reduces ovposition of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Entomological Society of American*, Lanham, v.88, n.3, p.742-748, May 1995.
- LIMA, J.A. Principais problemas de plantas ocasionadas por vírus no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.11, n.2, p.263-264, Jun 1986.
- MALAVOLTA JR, V.A.; RODRIGUES NETO, J. Controle de doenças causadas por bactérias em tomateiro. In. ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE TOMATE .Jaboticabal 1991. *Anais...Jaboticabal: FINEP*<1991. Cap 13, p.166-182.

- MATHER, K. ; JINKS, J. L. Introdução à Genética Biométrica. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242p.**
- MODESTO, B. Controle de doenças do tomateiro causado por fungos. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE TOMATE. Jaboticabal, 1991. Anais... Jaboticabal: FINEP,1991,Cap. 2, p.158-165.**
- NEAL, J. J.; TINGEY, W. M.; STEFFENS, J. C. Sucroses esters of carboxylic acids in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* deter settling and probing by green peach aphid. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v.16, n.3, p.487-497, 1990.**
- NELSON, NORTON, A photometric adptation of the Somogy method for the determination of glucose. *Journal Biology Chemical*, Cincinnati, v.153, n.2, p.375-380, Feb 1994.**
- PAINTER, R. H. Insect resistance in . crop plants. New York: The MacMillan Company, 1951.520p.**
- PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S. Introduction to Spectroscopy. A guide For Students of Organic Chemistry . 2. ed. Wasshington: 1996. 511 p.**
- PONTI, O .M .B. DE ;PET, G.; HOGENBOOM, N.G. Resistance to the glasshouse whitefly(*Trialeurodeos vaporariorum* Westw) in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) and related species. *Euphytica*, Dordrecht, v.24, n.4, p.645-649, Jun 1975.**

- RAMALHO, M.A.P.; dos SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na Agropecuária.**, Lavras: Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, 1990. 359 p.
- RICK, C.M. Natural variability in wild species of *Lycopersicon* and its bearing on tomato breeding . **Genetics Agricultural, Wisconsin**, v.30, n.5, p.249-259, Aug 1976.
- RICK, C. M. El tomate. **Investigacion y Ciência**, Santo Domingo, v.25, n.2, p.45-55, Oct 1978.
- RICK, C .M.; TANKSLEY, S. D. Genetic variation in *Solanum pennellii*: comparisons with two other sympatric tomato species. **Plant Systematics Evolucion**, Vienna, v.139, n.6, p.11-45, Jun 1981.
- RODRIGUEZ, A .E.; TINGEY, W. M.; MUTSCHLER, M. A. Acylsugars of *Lycopersicon pennellii* deter settling and feeding of the green peach aphid (Homoptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.86, n.2, p.34-49, May 1993.
- SALGUEIRO, V. 1993. Perspectiva para el manejo del complejo mosca blanca - virosis. América Central e El Caribe. Turrialba , **Serviço Técnico Informativo**. n.205, p.20-26, 1993.
- SCHUMACHER, J. N. The isolation of 6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-[(+)-3-methylvaleryl]- β -D-glucopyranose from tobacco. **Carbohydres**, Amsterdam, v.13, n.5, p.1-8, Nov 1970.

- SCHUSTER, D. J. ; EVERETT, P. H.; PRICE, J.F.; et al. Suppression the sweetpotato whitefly on commercial fresh market tomatoes. *Proceeding Florida State Horticultural Society, Deland*, v.102, p.374-379, 1989.**
- SCHWARTZ ,P .H.; KLASSEN, W. Estimate of losses caused by insects and mites to agricultural crops. In: Pimentel, D.(ed.),*CRC hand book of pest management in agriculture*, v.1, p.15-77, 1981.**
- SEVERSON, R .F.; ARRENDALE, R .F.; CHORTYK, O.T.; et al. Isolation and characterization of the sucrose esters of the cuticular waxes of green tobacco leaf. *Journal Agricultural Food Chemistry, Washington*,v.33, n.4, p.870-875, May 1985a.**
- SEVERSON, R. F.; JHONSON, A .W.; JACKSON, D. M. Cuticular contituents of tobacco: factors affecting their production and their role insect and disease resistance and smoke quality. *Recent advance Tobacco Science, Raleigh*, v.11, p.105-175, 1985b.**
- SHAPIRO, J. A.; STEFFENS, J. C.; MUTSCHLER, M. A. Acylsugars of the wild tomato *Lycopersicon pennellii* in relation to geographic distribution of the species. *Biochemical Systematics and Ecology, Oxiford*, v.22, n.6, p.545-561, Aug 1994.**

- SHINOZAKI, Y.; MATSUZAKI, T.; SUHARA, S; et al. New types of glycolipids from the surface lipids of *Nicotiana umbratica*. **Agricultural Biology Chemistry**, Tokyo, v.55, n.4, p.751-756, Nov 1991.
- SHIRINER, R. L. ; FUSON, R. C.; CURTIN, D. Y.; et al. **Identificação Sistemática dos compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro : Guanabara Dois. 1983. 517 p.
- SILVA, F. E.; CASALI, V. W. D. **Cultura do tomateiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1979. 33 p.
- SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro : Guanabara Dois, 1994.387 p.
- TAYLOR, B. Biosystematics of the tomato. In:ATHERTON, J. G. ; RUDICH, J. **The tomato crop: a scientific basis for improvement**. New York : Chapman and Hall, 1986. p.1 -30.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 496p.
- WALTERS , D .S.; STEFFENS, J.C. Branched chain amino acid metabolism in the biosynthesis of *Lycopersicon pennellii* glucose esters. **Plant Physiology**, Denville, v.93, n.3, p.1544-1551, May 1990.
- WARNOCK, S.J. Natural habitat of *Lycopersicon* species. **HortScience**, Alexandria, v.26 n. 1 p.466 - 471, Oct 1991.

APÊNDICE

APÊNDICE

Preparo dos Reagentes

a) Reagente A de Nelson

Preparo: Volume final 400mL

- a) 10g de Na_2CO_3 anidro
- b) 10g de tartarato de sódio e potássio
- c) 08g de NaHCO_3
- d) 80g de Na_2SO_4 anidro

Dissolver em ordem em 250 mL de água destilada, completar o volume para 400mL.

b) Reagente B de Nelson

Preparo: volume 16mL

- a) 2.4g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- b) 2 gotas de H_2SO_4 P.A.

Dissolver, o sulfato de cobre em 10mL de água destilada, adicionar o ácido e completar o volume para 16mL.

c) Arseniomolibdato

1ª Parte:

- a) 20g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- b) 16.8mL de H_2SO_4 P.A.

Dissolver o molibdato de amônio em 360mL de água destilada, adicionar 16.8mL do ácido.

2ª Parte:

a) 2.4g de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Dissolver em 20mL de água e adicionar ao molibdato ácido (1ª Parte).
Completar o volume para 400mL, deixando durante 24 horas a 37°C em frasco
de cor ambar.

Obs: O reagente deve ser amarelo e não ter tonalidade verde.