



KEILA DE CÁSSIA BRIOSCHI

**RESISTÊNCIA AO TOMATO SEVERE RUGOSE
VIRUS (ToSRV) EM HÍBRIDOS DE
TOMATEIRO COM DIFERENTES
CONSTITUIÇÕES GENOTÍPICAS NO LOCO
TY-1**

LAVRAS – MG

2016

KEILA DE CÁSSIA BRIOSCHI

**RESISTÊNCIA AO TOMATO SEVERE RUGOSE VIRUS (ToSRV) EM
HÍBRIDOS DE TOMATEIRO COM DIFERENTES CONSTITUIÇÕES
GENOTÍPICAS NO LOCO TY-1**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Wilson Roberto Maluf, Ph.D.

Orientador

Dr. Walter Fernando Bernardi

Coorientador

LAVRAS – MG

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Brioschi, Keila de Cássia.

Resistência ao Tomato Severe Rugose Virus (ToSRV) em
híbridos de tomateiro com diferentes constituições genotípicas no
loco TY-1 / Keila de Cássia Brioschi. – Lavras : UFLA, 2016.

52 p. : il.

Dissertação(mestrado profissional)–Universidade Federal de
Lavras, 2016.

Orientador: Wilson Roberto Maluf.

Bibliografia.

1. Geminivirus 2. Mosca Branca . 3. *Solanum lycopersicum*. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

KEILA DE CÁSSIA BRIOSCHI

**RESISTÊNCIA AO TOMATO SEVERE RUGOSE VIRUS (ToSRV) EM
HÍBRIDOS DE TOMATEIRO COM DIFERENTES CONSTITUIÇÕES
GENOTÍPICAS NO LOCO TY-1**

***RESISTANCE TO THE TOMATO SEVERE RUGOSE VIRUS (ToSRV) IN
TOMATO HYBRIDS WITH DIFFERENT GENOTYPIC CONSTITUTIONS
IN LOCUS TY-1***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 05 de setembro de 2016

Dr. Walter Fernando Bernardi ESALQ

Dr. Douglas Willian Nogueira UFLA

Prof. Wilson Roberto Maluf, Ph.D.
Orientador

LAVRAS – MG

2016

*A Deus, pelo dom da vida, por tantas graças concedidas e por sempre iluminar
meu caminho.*

*Aos meus pais, Vlamir e Aparecida, exemplos de bom caráter, pelo amor
incondicional e pelo incentivo,*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A minha família, pelo amor e dedicação, em especial aos meus irmãos Alessandro pelo incentivo a continuar meus estudos, e Rafael, pelo exemplo de bondade e determinação. Ao meu sobrinho Gabriel, pelas alegrias e sorrisos.

Ao orientador, Wilson Roberto Maluf, pela orientação, confiança e conhecimentos passados.

Ao coorientador, Walter Fernando Bernardi, por confiar no meu trabalho, colaborar constantemente com meu desenvolvimento profissional, pela amizade e pelos ensinamentos.

A professora da UFU Denise Santana, e ao pós graduando Rafael Finzi pelas orientações estatísticas.

Aos professores da UFLA, pelos conhecimentos passados durante o curso.

Aos colegas de turma, em especial a Itamara, pela boa convivência e amizade.

Aos colegas de empresa, por estarem sempre dispostos a me ajudar Vanderlei Varisi, Antônio Campos, Paulo Barreto, Joelson Freitas e Letícia Magalhães, e, em especial, ao Eduardo Barbosa, pela ajuda constante com a condução do experimento.

Ao Ailton Ribeiro representante do *site* da Bayer Vegetable Seeds em Uberlândia, pela autorização, disponibilidade de recursos e infraestrutura para a realização do trabalho.

À equipe de campo do setor de tomate da Bayer e ao estagiário Guilherme Repezza, pela fundamental ajuda na condução do experimento.

Às instituições CAPES e FAPEMIG que apoiam a realização do Mestrado Profissional em Genética e Melhoramento de Plantas.

A Universidade Federal de Lavras, de forma especial ao Departamento de Biologia, pela realização do curso.

RESUMO

Objetivou-se comparar os efeitos de diferentes constituições genóticas no *locus* Ty-1 (heterozigoto resistente, homozigoto resistente e homozigoto suscetível), em relação ao nível de resistência de híbridos de tomateiro ao *Tomato Severe Rugose Virus* (ToSRV). Também se objetivou detectar possíveis efeitos do alelo Mi no incremento da resistência ao begomovirus ToSRV, além de identificar se o formato de fruto (redondo e saladete) está associado à maior resistência ao vírus. Foi realizado um experimento com 28 genótipos, sendo que 4 deles são híbridos comerciais e 24 são híbridos obtidos com diferentes formatos de fruto e diferentes constituições genóticas nos locos Ty-1 e Mi. Após as plantas serem inoculadas com o vírus ToSRV, por meio de moscas-brancas (*Bemisia tabaci* biótipo B) virulíferas, o experimento foi conduzido em casa de vegetação na estação de pesquisa da empresa Bayer Vegetable Seeds, em delineamento de blocos casualizados (DBC), compreendendo 28 tratamentos, com quatro repetições e 10 plantas por parcela, totalizando 1120 plantas. Os resultados obtidos por meio do teste de resistência dos híbridos ao ToSRV, confirmou a eficiência do gene Ty-1 no controle dos sintomas em heterozigose e homozigose, sendo que o alelo em homozigose é mais efetivo. O alelo Mi em heterozigose não se mostrou efetivo em incrementar o nível de resistência ao vírus, e o formato de fruto não interferiu no nível de resistência ao ToSRV.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*. Begomovirus. ToSRV. Ty-1. Resistência.

ABSTRACT

With this work, we aimed at comparing the effect of different genotypic constitutions on locus Ty-1 (resistant heterozygous, resistant homozygous and susceptible homozygous), in relation to the resistance level of tomato hybrids to the Tomato Severe Rugose Virus (ToSRV). We also aimed at detecting possible effects of the Mi allele in the increment of resistance to begomovirus ToSRV, in addition to identifying if the form of the fruit (round or saladete) is associated to higher resistance to the virus. An experiment was conducted with 28 genotypes, 4 commercial hybrids and 24 obtained hybrids, with different fruit forms and different genotypic constitutions in the locus Ty-1 and Mi. After inoculating the plants with ToSRV, by means of virulent whitefly (Biotype B *Bemisia tabaci*), the experiment was conducted in greenhouse at the Bayer Vegetable Seeds research center, using a randomized blocks design comprised of 28 treatments, with four replicates and 10 plants per plot, totalizing 1120 plants. The results obtained from the hybrid resistance test to ToSRV confirmed the efficiency of gene Ty-1 in controlling the symptoms in heterozygosis and homozygosis, with the allele in homozygosis is more effective. Allele Mi in heterozygosis was not effective in incrementing the level of resistance to the virus, and the form of the fruit did not interfere in the level of resistance to ToSRV.

Keywords: *Solanum lycopersicum*. Begomovirus. ToSRV. Ty-1. Resistance.

SUMÁRIO

| | | |
|------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 13 |
| 2.1 | O tomateiro | 13 |
| 2.2 | O geminivírus | 14 |
| 2.3 | Fonte de resistência ao Begomovirus: Ty-1 | 17 |
| 2.4 | Demais fontes de resistência genética aos Begomovirus | 18 |
| 2.5 | O Vetor | 19 |
| 2.6 | O gene Mi e a resistência à mosca-branca | 21 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 23 |
| 3.1 | Localização | 23 |
| 3.2 | Obtenção dos híbridos para a caracterização de resistência aos begomovirus | 23 |
| 3.3 | Cruzamentos | 24 |
| 3.4 | A inoculação do vírus | 26 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| 4.1 | Análise de variância | 29 |
| 4.2 | Comparações entre os diferentes genótipos | 31 |
| 5 | CONCLUSÃO | 35 |
| | REFERÊNCIAS | 37 |
| | ANEXO A – TABELAS E FIGURAS | 45 |

1 INTRODUÇÃO

O tomate é uma das espécies olerícolas mais consumidas no Brasil. Em 2014, a produção de tomate no país foi de 4,2 milhões de toneladas (ANUÁRIO..., 2015). A tomaticultura tem grande importância socioeconômica, pois emprega grande número de trabalhadores para sua produção.

A cultura do tomate é atacada por um grande número de patógenos e pragas. A mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B (sin. *Bemisia argentifolii*) é uma das principais pragas do tomateiro, causadora de danos diretos e indiretos, sendo o mais importante dos danos indiretos a transmissão de viroses. As begomoviroses, inclusive a espécie *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), são responsáveis por prejuízos de até 100% quando o cultivo é acometido pelo vírus logo no início do desenvolvimento das plantas (KRAUSE et al., 1998).

O *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) é uma das viroses mais encontradas nos campos de tomaticultura no Brasil. A procura e identificação de fontes de resistências a esse begomovírus são pesquisas que devem ser priorizadas, em decorrência dos prejuízos que esse vírus pode causar às lavouras de tomate (BARBOSA et al., 2011).

As cultivares comerciais que possuem moderada resistência aos begomovírus no Brasil, são portadoras do alelo Ty-1, evidenciando o alelo como a fonte de resistência genética mais promissora em relação aos vírus (AGUILERA et al., 2011; GÓMEZ et al., 2004).

Dessa forma, a busca por genótipos com alto nível de resistência ao ToSRV, torna-se importante para as áreas acometidas pelo vírus, prevenindo assim quedas de produção e prejuízos.

Objetivou-se, com este trabalho, comparar os efeitos do alelo Ty-1 em diferentes genótipos de tomateiro (homozigotos resistentes, heterozigotos resistentes e homozigotos suscetíveis) em relação à resistência ao begomovírus

ToSRV. Também objetivou-se detectar possíveis incrementos de resistência ao ToSRV associado ao alelo Mi e/ou ao formato de fruto.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), pertence à família *Solanaceae*, que abrange mais de 3000 espécies, incluindo espécies presentes na alimentação humana como a batata, a berinjela e o pimentão. O gênero *Solanum* é o maior dentro da família com mais de 1200 espécies (BERGOUGNOUX, 2014).

O centro primário de origem do gênero *Solanum* é a Região Andina, compreendida pela Colômbia, Equador, Peru e Bolívia, assim como as Ilhas Galápagos, regiões estas onde são encontradas numerosas espécies silvestres em sua forma primitiva (CAMARGO, 1992).

A domesticação do tomateiro ocorreu no México (JENKINS, 1948). No século XVI, foi levado pelos expedicionários espanhóis do México para o continente europeu (SAN JUAN; RODRIGUEZ; RODRIGUEZ, 1997). Em 1554, na Itália, o tomateiro foi descrito botanicamente pela primeira vez (NUEZ, 2001). O tomateiro foi introduzido no Brasil, no final do século XIX, por meio dos imigrantes italianos, porém a produção intensiva dos frutos *in natura* foi adotada pelos imigrantes japoneses (MINAMI; FONSECA, 1982).

O tomateiro é uma planta perene que se cultiva como anual, herbácea e de porte arbustivo. Pode ser cultivado em dois tipos de segmentos produtivos, sendo um destinado ao mercado *in natura* e outro destinado para processamento industrial (ALVARENGA, 2013).

O tomate é uma das espécies olerícolas mais consumidas no Brasil. Em 2014, a produção no Brasil, envolvendo os dois segmentos (mesa e processamento), alcançou 4,2 milhões de toneladas. A região Sudeste é a maior produtora e responsável por mais de 44% do total produzido, seguida pela região Centro-Oeste com participação de 31% da produção nacional. O Estado de Goiás foi o maior produtor do Brasil, em 2014, com uma safra de 1.269 milhão

de toneladas de tomate, equivalente a 29% da produção nacional, seguido pelo Estado de São Paulo com uma produção de 849.052 toneladas (ANUÁRIO..., 2015).

A tomaticultura é uma atividade agrícola socioeconomicamente importante para o Brasil, responsável pela geração de empregos diretos e indiretos. Esse cultivo exige alto investimento, mão de obra qualificada e elevado nível tecnológico (HAJI et al., 2004), sendo necessária uma intensa utilização de trabalhadores para tarefas como desbaste, capina e colheitas manuais, preparo do solo, semeadura, irrigação e pulverização (SILVA; GIORDANO, 2000).

Recentemente, a demanda por tomate foi reforçada pela busca de alimentos mais saudáveis, favorecendo também o crescimento da venda do produto fresco. O tomate possui características nutricionais antioxidantes, tais como: ácido ascórbico, beta-caroteno, ácido clorogênico, rutina, plastoquinonas, tocoferol e xantofila, bem como elementos traços de cobre, ferro e cromo que podem atuar sinergicamente com o licopeno na prevenção de danos às células, prevenindo doenças cardíacas e câncer (FRIEDMAN, 2002; SHARONI et al., 2004).

2.2 O geminivírus

O melhoramento genético tem contribuído muito para ganhos no cultivo de tomate, porém as doenças fitopatogênicas conhecidas como geminiviroses ainda causam perdas significativas à cultura em todo o mundo, atingindo a qualidade e quantidade de frutos provocando queda na produção (FARIA et al., 2000; LAZAROWITZ, 1992; NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011). Perdas de produção induzidas pelos begomovirus atingiram montantes da ordem de 20 a 100%, sendo variáveis as perdas de

produção quando consideradas as diferentes regiões produtoras do país (BALDIN et al., 2007; FARIA et al., 2000).

Os geminivírus constituem a família Geminiviridae, composta pelos gêneros Begomovirus, Mastrevirus, Curtovirus, Topocuvirus, Bercutovirus, Turncurtovirus e Eragrovirus (BROWN et al., 2012). Os geminivírus que afetam o tomateiro no Brasil pertencem ao gênero Begomovirus, e esses são transmitidos às plantas, por meio de inseto vetor, a *Bemisia tabaci* (KRAUSE et al., 1998).

Na década de 1960, foi identificado o primeiro registro de doenças em tomateiro causadas por espécies do gênero Begomovirus no Brasil. Foi relatada a ocorrência de plantas de tomate com sintomas do tipo clorose infecciosa das malvaceas (FLORES; SILBERSCHMIDT; KRAMER, 1960). Em 1975, os sintomas relatados foram caracterizados como consequência da infecção pelo *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) (MATYIS et al., 1975).

No Brasil, as espécies de begomovírus encontradas são diferentes das espécies presentes em outros países, dessa forma pode-se sugerir que são espécies nativas. Anteriormente, estavam presentes apenas em plantas hospedeiras e posteriormente foram transferidas para o tomateiro pelo vetor *Bemisia tabaci* (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994; ROCHA et al., 2013). São 11 espécies relatadas no Brasil até 2013: *Tomato golden mosaic virus* - TGMV, *Tomato rugose mosaic virus* - ToRMV, *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV, *Tomato yellow spot virus* - ToYSV, *Tomato severe rugose virus* - ToSRV, *Tomato mild mosaic virus* - ToMIMV, *Tomato yellow vein streak virus* - ToYVSV, *Tomato mottle leaf curl virus* - TMoLCV, *Tomato common mosaic virus* - ToCmMV, *Tomato interveinal chlorosis virus* - ToICV, *Tomato golden vein virus* - TGVV. Pelo menos sete outros Begomovirus, têm sido associados a doenças em tomateiros, mas ainda não foram totalmente caracterizados (ROCHA et al., 2013). O *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) apresenta-se

como uma das espécies de begomovírus que mais infecta as plantas da família solanácea no Brasil. Fontes de resistências a esse begomovírus são pesquisas que devem ser priorizadas, em razão dos prejuízos que esse vírus pode causar às lavouras de tomate (BARBOSA et al., 2011).

A organização genômica do gênero Begomovirus é caracterizada por possuir partículas geminadas, de morfologia icosaédrica, apresentando dois componentes, o A e o B, designados como DNA A e DNA B os quais possuem cerca de 2.6 kb cada um deles e são encapsidados separadamente nas partículas geminadas, sendo necessárias as duas partículas para que ocorra a infecção. O DNA-A codifica proteínas associadas ao desencadeamento dos processos de replicação, transcrição e patogenicidade do DNA viral e o DNA-B é o responsável pela síntese proteica relacionada aos movimentos intra e intercelulares (KING et al., 2012). Os componentes possuem uma região intergênica de aproximadamente 200 nucleotídeos, denominada região comum (RC). Na RC encontram-se sinais para reconhecimento de processos comuns a ambos os genomas (replicação, iniciação de transcrição e encapsidação) (LAZAROWITZ, 1992).

As plantas de tomateiro infectadas pelos begomovirus apresentam, em geral, sintomatologia característica, apesar do gênero begomovirus incluir várias espécies. A princípio nota-se uma clorose entre as nervuras, inicialmente na base dos folíolos, que evolui para mosaico amarelo. Seguido por sintomas generalizados, intensa rugosidade dos folíolos, podendo ocorrer também o enrolamento dos bordos das folhas, as quais se dobram ou enrolam para cima, num formato tipo concha ou colher (LASTRA, 1993; VILLAS-BÔAS et al., 1997). As alterações fisiológicas e bioquímicas são notadas pela redução da fotossíntese, da respiração, da síntese de proteína, aminoácido, substâncias reguladoras de crescimento e fenólicos (VICENTE, 1979).

2.3 Fonte de resistência ao Begomovirus: Ty-1

Os programas de melhoramento de *S. lycopersicum* têm se baseado na busca por genes/alelos de resistência em espécies selvagens e na sua introgressão em genótipos comerciais, visando à obtenção de uma resistência ampla e estável (BOITEUX et al., 2012).

A espécie *S. chilense* é a fonte do alelo Ty-1. A identificação do alelo foi possível, por meio da seleção de genótipos resistentes a isolados de TYLCV '*Tomato yellow leaf curl virus*', um begomovirus com genoma monossegmentado que não ocorre no Brasil, mas se trata do geminivírus mais agressivo ao tomateiro. Os genótipos resistentes ao TYCLV oferecem níveis satisfatórios de resistência aos vírus com genoma bissegmentado, predominantes no Brasil (MATOS et al., 2003; SANTANA et al., 2001).

O alelo Ty-1, com dominância parcial, foi mapeado no cromossomo 6, próximo à região centromérica, ligado intimamente em fase de repulsão ao gene *Mi* (< 1cM) (GÓMEZ et al., 2004; ZAMIR et al., 1994). O gene *Mi* confere resistência efetiva às espécies de nematóide *Meloidogyne* (ROBERTS; THOMASON, 1989).

A resistência do alelo Ty-1 é condicionada pela interferência na proteína viral responsável pela circulação do vírus no interior da planta, desse modo, diminui o transporte do mesmo para outras áreas da planta infectadas (GIORDANO; BOITEUX; HORINO, 1994; LATERROT, 1995).

As cultivares comerciais que possuem moderada resistência aos begomovírus no Brasil, são portadoras do alelo Ty-1, evidenciando o alelo como a fonte de resistência genética mais promissora em relação aos vírus (AGUILERA et al., 2011; GÓMEZ et al., 2004).

2.4 Demais fontes de resistência genética aos Begomovirus

A procura e identificação de fontes de resistências aos begomovírus são pesquisas que devem ser priorizadas, considerando-se a distribuição desse vírus e os danos que eles ocasionam na cultura do tomateiro. Uma estratégia interessante é a piramidização de genes de resistência, que consiste na introgressão de um conjunto de genes efetivos a um ou mais patógenos em um único genótipo, proporcionando uma resistência durável (VIDAVSKI et al., 2008).

Os genes denominados Ty, como o Ty-1, conferem algum nível de resistência ao Begomovírus *Tomato yellow leaf curl virus* (HANSON; GREEN; KUO, 2006; ZAMIR et al., 1994). O gene Ty-2 é advindo da espécie *S. habrochaites*, foi mapeado no cromossomo 11 (HANSON; GREEN; KUO, 2006). Já o locus Ty-3 assim como o Ty-1 foi mapeado no cromossomo 6 da espécie *S. chilense*, confere alto nível de resistência a TYLCV e resistência intermediária a isolados de espécies de genoma bipartido na Flórida (JI; SCHUSTER; SCOTT, 2007). Atualmente, sabe-se que Ty-1 e Ty-3 são alélicos (VERLAAN et al., 2013).

Conferindo resistência a alguns isolados do TYLCV, o gene denominado Ty-4 foi introgridido em *S. lycopersicum*, a partir da espécie *S. chilense*, e é mapeado no cromossomo 3 do tomateiro (JI et al., 2009). O alelo Ty-5, mapeado no cromossomo 4 foi encontrado em *S. peruvianum* (ANBINDER et al., 2009). Recentemente, foi caracterizado como alelo recessivo, e sugeriu-se que a nomenclatura ty-5 fosse adotada, tendo sido confirmada a resistência do gene a isolados de TYLCV na Flórida (HUTTON; SCOTT; SCHUSTER, 2012).

O tcm-1 é um alelo recessivo, mapeado no cromossomo 6 de plantas derivadas da cultivar 'Tyking'(GIORDANO et al., 2005a, 2005b), e confere

resistência a isolados de ToCMoV e a outras espécies de begomovirus no Brasil (PEREIRA-CARVALHO et al., 2010).

2.5 O Vetor

A *Bemisia tabaci*, popularmente conhecida como mosca-branca, pertence à ordem *Hemiptera*, à subordem *Sternorhyncha* e à família *Aleyrodidae* (GALLO et al., 2002). Considerada uma praga polífaga, a mosca branca, ataca frutíferas, grandes culturas e hortaliças, inclusive o tomateiro. Ao se alimentar sugando a seiva da planta, pode causar danos diretos como o afinamento do ápice, folhas com aspecto coriáceo, enrolamento dos bordos e arqueamento dos folíolos, além dos danos indiretos como transmitir viroses (ALVARENGA, 2013). Esse inseto vetor é responsável pela transmissão de vírus pertencentes a vários grupos, entretanto os mais importantes são pertencentes aos gêneros Begomovirus e Crinivirus, que atingem o tomateiro e outras solanáceas (OLIVEIRA; HENNEBERRY; ANDERSON, 2001).

A mosca branca apresenta metamorfose incompleta, passando pelas fases de ovo, ninfa (na qual o inseto passa por quatro estádios, sendo o último chamado de pseudopupa) e adulta (BELLOWS JUNIOR et al., 1994). Os adultos da mosca-branca apresentam o dorso amarelo e quatro asas membranosas brancas, cobrindo quase todo o corpo, com aproximadamente 1 a 2 mm de comprimento. O macho é menor que a fêmea. Tanto os adultos quanto as ninfas possuem aparelho bucal do tipo “picador-sugador”, para a sucção de seiva do floema. A *Bemisia tabaci* coloca de 100 a 300 ovos/fêmea, dependendo do biótipo. Os ovos apresentam coloração amarelada, formato de pera e medem de 0,2 a 0,3 mm. A postura é feita de maneira irregular, na face inferior das folhas. As ninfas são translúcidas e apresentam coloração amarelada. A parte dorsal é lisa, plana ou levemente convexa. No primeiro estádio, logo após a eclosão, a ninfa se locomove na folha procurando um local para introduzir o estilete e dar

início à alimentação. Durante todos os demais estádios ninfais, o inseto permanece imóvel, sempre se alimentando (BELLOWS JUNIOR et al., 1994; GALLO et al., 2002).

A duração do ciclo da *Bemisia tabaci*, assim como dos demais insetos sofre grande influência da variável ambiental temperatura. Estudos mostraram que o ciclo pode variar de 19 a 73 dias, quando as temperaturas atingem respectivamente, 32 C e 15 C (BROWN; BIRD, 1992). Em estudo sobre a biologia de *B. tabaci* em tomateiro a 25° C e 65% de UR observou-se um período médio de 22,3 dias, desde a fase de ovo até a emergência de adultos (SALAS; MENDONZA, 1995).

A população desse inseto atingiu altos níveis com a expansão da soja, também hospedeira da mosca-branca. A importância do inseto foi ressaltada quando surgiu um novo biótipo dessa espécie conhecido como *Bemisia tabaci* biótipo B (GALLO et al., 2002).

A *Bemisia tabaci* biótipo B quando adulta é a principal responsável pela transmissão de viroses ao tomateiro, pois as ninfas mesmo que virulíferas não a propagam por possuir hábito sedentário. A relação da mosca-branca com o geminivirus é do tipo persistente-circulativo, o que significa que as partículas virais adquiridas pelo inseto durante a sua alimentação, circulam no seu corpo, passando do intestino a hemolinfa e daí até as glândulas salivares. Quando uma mosca virulífera se alimenta de uma planta sadia, inocula junto com a saliva as partículas virais, onde estas se multiplicam (BIANCHINI, 1994; BIANCHINI et al., 1997; COSTA, 1976).

O período mínimo de acesso de aquisição (PAA) , dos vírus pelo inseto vetor, é de 15 minutos e torna-se mais eficiente com o aumento do PAA e/ou do período acesso de inoculação (PAI) (SANTOS; AVILA; RESENDE, 2003; SANTOS; GONÇALVES; OLIVEIRA, 2005).

O inseto vetor *B. tabaci* biótipo B coloniza mais de 500 espécies vegetais distribuídas em 84 famílias botânicas, entre as quais são exemplos a Amaranthaceae, Asteraceae, Malvaceae e Solanaceae, as quais são também hospedeiras secundárias de begomovirus (HAJI et al., 2004).

2.6 O gene Mi e a resistência à mosca-branca

O gene Mi no tomateiro confere resistência efetiva às três espécies mais importantes de nematoides das galhas, *Meloidogyne incógnita*, *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne arenaria* (ROBERTS; THOMASON, 1989). Há relatos de que o gene Mi atua também na resistência de outras pragas, inclusive a mosca branca. Nombela, Beitia e Muñiz (2000) relataram que o gene *Mi*, ou outro ligado a ele, reduz em até 50% o número de fêmeas e adultos de mosca branca por planta em cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum*), quando comparado aos genótipos que não possuem o gene *Mi*. Marchese (2013) também observou redução de 22% na população de mosca branca em genótipos portadores do alelo Mi em relação ao genótipo suscetível ‘Santa Clara’.

Aoun (2015) observou que os alelos Mi e Ty-1 quando associados foram mais efetivos na resistência a geminivirus quando comparados a genótipos portadores de somente um desses genes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização

O trabalho foi realizado no período de janeiro de 2015 a janeiro de 2016. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na estação de pesquisa da empresa Bayer, localizada em Uberlândia, no estado de Minas Gerais. A cidade de Uberlândia está localizada no Triângulo Mineiro, a 863m de altitude, 18°55'07" de latitude sul e 48 °16'38" de longitude oeste.

O material genético utilizado no estudo foi constituído de 28 híbridos, sendo que 24 híbridos foram desenvolvidos na empresa exclusivamente para a realização do trabalho e os 4 outros híbridos são materiais comerciais.

3.2 Obtenção dos híbridos para a caracterização de resistência aos begomovirus

Para a obtenção dos híbridos, foram selecionadas linhagens com o alelo Ty-1 presente em homozigose, e linhagens sem o alelo Ty-1. Dentre as linhagens sem o alelo Ty-1 houve linhagens com a presença do alelo Mi. Além dos genes Ty-1 e Mi levou-se em conta o tipo de fruto das linhagens, para que fosse possível obter híbridos com formato de fruto redondo e formato de fruto saladete para ambos os genótipos (homozigoto e heterozigoto) em relação ao alelo Ty-1. Todas as linhagens selecionadas para o desenvolvimento do projeto são advindas do banco ativo de germoplasma de tomate da empresa Bayer. Para caracterizar as resistências genéticas presentes nas mesmas, inclusive do alelo Ty-1 e Mi, foram utilizados marcadores moleculares desenvolvidos no setor molecular da própria empresa.

3.3 Cruzamentos

Os cruzamentos foram planejados de acordo com o objetivo do estudo. Obtiveram-se, então, híbridos homozigotos (Ty-1/Ty-1) e heterozigotos (Ty-1+/Ty-1) para os formatos de fruto redondo e saladete (Quadro1).

Os cruzamentos foram realizados em estufas adequadas para a atividade cobertas com plástico polietileno transparente, com laterais revestidas de telas antiafídeo. A irrigação foi feita por sistema de gotejamento, e a adubação foi realizada, por meio de fertirrigação atendendo às necessidades nutricionais específicas durante todo ciclo das plantas.

As linhagens selecionadas para os cruzamentos foram semeadas em bandejas plásticas de 128 células, utilizando-se o substrato Carolina® para a formação das mudas. Após o semeio as bandejas, foram mantidas em estufa específica para a germinação e desenvolvimento das mudas até atingir cerca de 28 dias após o semeio, idade adequada para o transplante. Durante esse período, as mudas receberam água e nutrientes. O transplante das plantas genitoras foi feito para vasos plásticos de 8L preenchidos com substrato Carolina®.

Para a obtenção das sementes híbridas, foi feito o cruzamento manual, que consiste na emasculação (em plantas genitoras femininas) anterior à antese, coleta de pólen (de plantas genitoras masculinas) e realização da polinização manual (das plantas genitoras femininas).

Os frutos foram colhidos quando maduros e, em seguida, extraíram-se as sementes híbridas F1. As sementes foram processadas e identificadas para o uso no experimento do presente estudo.

Quadro 1 - Descrição dos híbridos que constituíram o experimento, em relação ao tipo de fruto e resistências genéticas à fitopatógenos.

(continua)

| Híbridos | Tipo de Fruto | Gene Ty | Gene Mi | Demais resistências |
|----------|---------------|-----------------------------------|---------------------------------|---|
| TOF 01 | Saladete | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToMV; ToANV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 02 | Saladete | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Fol2; Mj; Ss; ToMV; ToANV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 03 | Saladete | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Fol2; Mj; Pi; ToMV; ToANV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 04 | Redondo | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 05 | Redondo | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 06 | Redondo | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 07 | Redondo | Ty1Ty1 ⁺ | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd |
| TOF 08 | Redondo | Ty1Ty1 ⁺ | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd |
| TOF 09 | Redondo | Ty1 ⁺ Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd |
| TOF 10 | Saladete | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; TSWV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 11 | Saladete | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Fol2; Mj; Ss; ToANV; ToMV; TSWV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 12 | Saladete | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Fol2; Mj; Pi; ToANV; TSWV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 13 | Saladete | Ty1 ⁺ Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 14 | Saladete | Ty1Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Fol3; ToANV; TSWV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 15 | Saladete | Ty1Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; TSWV; Va; Vd |
| TOF 16 | Saladete | Ty1 ⁺ Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; TSWV; Va; Vd |
| TOF 17 | Saladete | Ty1Ty1 ⁺ | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Pst; ToANV; ToMV; TSWV; Va; Vd |
| TOF 18 | Saladete | Ty1Ty1 | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Mj; Pst; Ss; ToANV; ToMV; Va; Vd |
| TOF 19 | Redondo | Ty1Ty1 ⁺ | Mi ⁺ Mi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; TSWV; Va; Vd |
| TOF 20 | Redondo | Ty1 ⁺ Ty1 ⁺ | MiMi | Aal; Fol0; Fol1; ToMV; TSWV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 21 | Redondo | Ty1Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd; Xcv |

Quadro 1 - Descrição dos híbridos que constituíram o experimento, em relação ao tipo de fruto e resistências genéticas à fitopatógenos

(conclusão)

| Híbridos | Tipo de Fruto | Gene Ty | Gene Mi | Demais resistências |
|---------------------|---------------|-----------------------------------|---------------------------------|--|
| TOF 22 | Redondo | Ty1 ⁺ Ty1 ⁺ | MiMi | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 23 | Redondo | Ty1Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; ToANV; ToMV; Va; Vd; Xcv |
| TOF 24 | Redondo | Ty1Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Ss; ToANV; ToMV; TSWV; Va; Vd |
| TOF 25 Totalle | Saladete | Ty1Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Aal; Fol0; Fol1; Fol2; Ss; ToMV; TSWV; Va; Vd |
| TOF 26 Pizzadoro | Saladete | Ty1 ⁺ Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Fol0; Fol1; Pst; ToMV; Va |
| TOF 27 Paronset | Redondo | Ty1 ⁺ Ty1 ⁺ | Mi ⁺ Mi ⁺ | FfA; FfB; FfC; FfD; FfE; Fol0; Fol1; TSWV; Va |
| TOF 28 Dominador | Redondo | Ty1Ty1 ⁺ | MiMi ⁺ | Fol0; Fol1; For; Ma; Mj; ToMV; Va; Vd |

Nota: *Gene Mi*: Mi+Mi+ homozigoto suscetível a nematóides. Mi+Mi heterozigoto resistente a nematóides. MiMi homozigoto resistente a nematóides. *Gene Ty-1*: Ty+Ty+ homozigoto suscetível a begomovirus. Ty+Ty heterozigoto resistente a begomovirus. TyTy homozigoto resistente a begomovirus. *Demais resistências*: Aal = *Alternaria alternata f.sp. lycopersici*; Fol 0 = *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* raça 0 (US 1); Fol 1 = *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* raça 1 (US 2); Fol 1 = *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* raça 2 (US 3); For = *Fusarium oxysporum f.sp. radicum-lycopersici*; FfA = *Fulvia fulva (ex Cladosporium fulvum)* raça A; FfB = *Fulvia fulva (ex Cladosporium fulvum)* raça B; FfC = *Fulvia fulva (ex Cladosporium fulvum)* raça C; FfD = *Fulvia fulva (ex Cladosporium fulvum)* raça D; FfE = *Fulvia fulva (ex Cladosporium fulvum)* raça E; Ma = *Meloidogyne arenaria*; Mj = *Meloidogyne javanica*; Pi = *Phytophthora infestans*; Pst = *Pseudomonas syringae pv. tomato*; Ss = *Stemphylium solani*; ToANV = *Tomato marchitez virus*; ToMV = *Tomato mosaic virus*; TSWV = *Tomato spotted wilt virus*; Va = *Verticillium albo-atrum*; Vd = *Verticillium dahliae*; Xcv = *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*.

3.4 A inoculação do vírus

As sementes F1 obtidas foram semeadas na data de 19 de outubro de 2015, em bandejas plásticas de 128 células, utilizando-se o substrato Carolina®. Ao atingirem o segundo par de folhas verdadeiras, 20 dias após o semeio, as mudas foram inoculadas com isolados do vírus *Tomato severe rugose virus*

(ToSRV). A identificação da espécie de begomovirus foi realizada pelo setor de fitopatologia da empresa, por meio de sequenciamento genético.

A inoculação foi realizada utilizando-se moscas-brancas infectadas com o patógeno. A transmissão do patógeno para os insetos vetores foi garantida, por meio de oferta de plantas de tomateiro infectadas como única fonte de alimento. Durante sete dias, as bandejas de mudas foram mantidas na estufa com alta população de moscas branca virulíferas. Durante o período de transmissão, as mudas de tomate foram agitadas duas vezes por dia para forçar a circulação das moscas-brancas vetoras, de modo a proporcionar uma inoculação eficaz e uniforme do patógeno.

No dia 16 de novembro de 2015, as mudas foram transplantadas em casa de vegetação em “cochos” elevados, com substrato Carolina®. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados, com 28 tratamentos e 4 repetições. Cada parcela foi constituída de uma fileira com 10 plantas, alocadas em espaçamento de 0,20 m entre plantas.

As plantas foram conduzidas com haste única e tutoradas individualmente, sendo semanalmente desbrotadas. As adubações foram realizadas, por meio de fertirrigação, seguindo as recomendações específicas para a cultura do tomateiro.

No período de 23 de novembro de 2015 a 11 de janeiro de 2016, foram realizadas 8 avaliações, com intervalos de sete dias entre elas. Foi avaliada a severidade dos sintomas causados pelo vírus em cada parcela. Os sintomas causados pelas geminiviroses são característicos, sendo estes o aparecimento de clorose foliar, clareamento das nervuras primárias e secundárias, deformação do limbo foliar e nanismo. Para as avaliações do experimento foram adotadas notas de 1 a 5, em que:

1 = ausência de sintomas;

2 = maioria das folhas com sintomas brandos como leve mosaico e leve rugosidade;

3 = algumas folhas com rugose ; sintomas variando de clorose em até 50% da área foliar a leves deformações nas folhas;

4 = maioria das folhas com rugosidade, clorose acima de 50% da área foliar, folhas deformadas;

5 = folhas com rugosidade severa, enrolamento das folhas, encarquilhamento, clorose e deformações severa;

Para as análises estatísticas, foi utilizada a variável Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD), baseada nas 8 observações semanais da severidade da sintomatologia foliar das viroses. A partir dos dados obtidos foi realizada a análise de variância, no delineamento em blocos casualizados, com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + b_j + t_i + e_{ij}$$

em que

Y_{ij} : observação do i-ésimo genótipo no j-ésimo bloco;

μ : é o efeito fixo da média geral;

b_j : é o efeito aleatório do j-ésimo bloco;

t_i : é o efeito fixo do i-ésimo genótipo (tratamentos);

e_{ij} : é o erro experimental médio.

Posteriormente, realizaram-se contrastes de interesse, utilizando o teste de Scheffè, por meio do programa de análise estatística SISVAR.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de variância

Os valores e respectivas significâncias dos quadrados médios (QM), coeficiente de variação (CV) e graus de liberdade (GL) da análise de variância da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) em relação aos ToSRV encontram-se na Tabela 1.

Os quadrados médios dos tratamentos foram significativos pelo teste F ($P < 0,01$), mostrando a existência de variabilidade entre os híbridos experimentais F1 e as testemunhas. O coeficiente de variação foi de 8,31%, classificado como baixo segundo Pimentel-Gomes (1985), evidenciando, dessa forma, a ótima precisão do experimento.

As médias da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), segundo a severidade de sintomas para o isolado de begomovirus (ToSRV) avaliados são apresentadas na Tabela 2. De modo geral, as médias de AACPD variaram de 73,5 a 245,0. Os genótipos comerciais heterozigotos resistentes (Ty-1+/Ty-1) Dominador (redondo) e Totalle (saladete) apresentaram médias intermediárias de AACPD em relação à infecção do isolado de ToSRV, 138,3 e 183,8 respectivamente. Já os genótipos comerciais homozigotos suscetíveis (Ty-1+/Ty-1+) Paronset (redondo) e Pizzadoro (saladete) atingiram médias elevadas para a mesma variável, 226,6 e 240,6 respectivamente, confirmando a severidade dos sintomas nesses genótipos, evidenciando a eficiência da inoculação pelo ToSRV nos híbridos avaliados no presente estudo.

Por meio do resultado da análise do teste de Scott-Knott foi possível dividir as médias dos genótipos em seis grupos distintos, evidenciando a diferença no nível de resistência, entre os genótipos avaliados, ao isolado do ToSRV (TABELA 2).

No primeiro grupo aglomerativo das médias, os híbridos classificados foram o TOF 3, TOF 6 e TOF 11, com AACPD de 77,9, 73,5 e 73,5 respectivamente, destacando-se como os mais resistentes. Os três híbridos classificados são homozigotos resistentes para o *locus* Ty-1 e possuem formatos de fruto diferentes entre eles TOF 3 (saladete), TOF 6 (redondo) e TOF 11(saladete).

O segundo agrupamento, com médias da AACPD variando entre 89,3 e 110,3, incluiu seis híbridos: TOF 1(saladete), TOF 2(saladete) TOF 10 (saladete), TOF 12 (saladete), TOF 17(saladete) e TOF 18(saladete)s. Todos são homozigotos resistentes para *locus* Ty-1 (Ty-1/Ty-1), exceto o híbrido TOF 17 que é heterozigoto resistente para o mesmo *locus* (Ty-1+/Ty-1) .

Os híbridos TOF 4 (redondo) e TOF 5 (redondo), classificados no terceiro grupo, com médias 129,5 e 124,3 respectivamente, são homozigotos resistentes para o *locus* Ty-1(Ty-1/Ty-1).

O quarto grupo englobou os híbridos TOF 8 (redondo), TOF 19(redondo), TOF 24 (redondo) além do híbrido comercial Dominador (redondo), que obteve a menor média, 138,3 para a AACPD dentre os quatro híbridos agrupados. Esses híbridos são heterozigotos resistentes para o *locus* Ty-1(Ty-1+/Ty-1). O F1 Dominador apresenta boa performance de resistência em áreas comerciais, infestadas com as diferentes espécies de begomovírus encontradas no Brasil (informação pessoal).

No agrupamento de número cinco incluíram-se os híbridos TOF 7(redondo), TOF 14 (saladete), TOF 15(saladete), TOF 16 (saladete), TOF 21(redondo), TOF 23(redondo) e Totalle (saladete). As médias variaram entre 170,7 e 184,7, sendo que o valor de AACPD mais alto foi atribuído ao único híbrido homozigoto suscetível (TOF 16) (Ty-1+/Ty-1+) para o *locus* Ty-1, sendo os demais heterozigotos resistentes (Ty-1+/Ty-1) para o mesmo *locus*.

O último grupo englobou os híbridos homocigotos suscetíveis (Ty-1+/Ty-1+) ao isolado ToSRV, com sintomas severos causados pelo ToSRV e com médias de AACPD superiores a 226,7: os híbridos TOF 9 (redondo), TOF 13 (saladete), TOF 20 (redondo), TOF 22 (redondo), Paronset (redondo) e Pizzadoro (saladete), evidenciando assim a eficiência da transmissão de virose para as plantas experimentais.

Os resultados apresentados mostraram grande variação no nível de resistência ao isolado ToSRV entre os 28 genótipos avaliados.

Houve variação na severidade dos sintomas, nos diferentes híbridos estudados, ao longo das avaliações realizadas (figuras 1, 2, 3 e 4). Essas variações foram mais expressivas durante as primeiras cinco avaliações, ou seja, nos primeiros 40 dias após o transplante. Segundo Daubèze, Hennard e Palloix (1995), o retardamento na expressão da suscetibilidade sugere que a expressão dos genes de resistência seja incompleta ou de resistência parcial. Convém destacar que a avaliação precoce pode revelar fenótipos com reações intermediárias, mas somente na avaliação tardia é que se pode detectar e identificar genótipos altamente resistentes.

4.2 Comparações entre os diferentes genótipos

Os híbridos heterocigotos resistentes (Ty-1+/Ty-1) apresentaram um nível de resistência significativamente maior ao ToSRV em relação aos híbridos homocigotos suscetíveis (Ty-1+/Ty-1+), evidenciando que o alelo Ty-1 é efetivo em heterocigose (C1, Tabela 3). Em ensaios realizados no continente Europeu, Oriente Médio e no Brasil (BOITEUX et al., 2007; LAPIDOT et al., 1997), foram observadas plantas sintomáticas e com infecção sistêmica de vírus em genótipos Ty-1⁺/Ty-1. No entanto, em todos esses ensaios, a expressão dos sintomas nos genótipos heterocigotos para o *locus* Ty-1 foi mais suave do que aquela apresentada pelos genótipos suscetíveis.

A efetividade do alelo Ty-1 quando em homozigose pode ser confirmada em relação a resistência ao ToSRV, já que os híbridos de genótipo homozigoto resistente para o *locus* Ty-1 quando comparados aos híbridos de genótipo suscetível obtiveram uma performance significativamente superior (C2, Tabela 3). Nizio et al. (2008) também observaram que genótipos homozigotos resistentes apresentaram maior nível de resistência em relação à genótipos suscetíveis.

A significância do contraste dos híbridos de genótipo homozigoto resistente (Ty-1/Ty-1) vs genótipos heterozigotos resistentes (Ty-1+/Ty-1) (C3 tabela 3) evidencia que o alelo Ty-1 é mais efetivo em homozigose resultados análogos aos encontrados em Nizio et al. (2008) que confirmou a superioridade de resistência ao begomovirus dos genótipos homozigotos resistentes para o *locus* Ty-1 em relação aos genótipos heterozigotos resistentes.

Os diferentes graus observados de resistência aos begomovirus são possíveis, em razão da dominância incompleta oferecida pelo alelo Ty-1 relatado por Michelson, Zamir e Czosnek (1994) e Zamir et al. (1994). O alto nível de resistência dos híbridos homozigotos resistentes em relação ao ToSRV, pressupõe uma alternativa para áreas de tomaticultura com infestações severas do ToSRV.

Apesar do fato do alelo Ty-1, que confere tolerância a begomovírus, e o alelo Mi, que confere resistência ao nematóide-das-galhas, *Meloidogyne* spp. – estarem em geral ligados em fase de repulsão (ZAMIR et al., 1994); é possível identificar algumas linhagens que têm os dois alelos, Ty-1 e Mi ligados em associação, o que possibilitaria a obtenção de linhagens Ty-1/Ty-1 resistentes a nematoides. Pode-se ainda utilizar marcadores moleculares para a identificação precoce de indivíduos que possuam os dois alelos discutidos (informação pessoal).

Na ausência do gene *Mi*, os híbridos heterozigotos (*Ty-1+/Ty-1*) confirmaram ter um maior nível de resistência em relação aos híbridos não portadores do alelo (*Ty-1+/Ty-1+*) (C4) (tabela3).

Marchese (2013), Neiva (2016) e Oliveira (2015) observaram menor preferência pela mosca branca em nas linhagens portadoras do gene *Mi*, uma vez que naqueles estudos houve redução na quantidade de ovos e ninfas por folíolos, nessas plantas, quando comparadas a genótipos suscetíveis ao gene *Mi*. Os resultados encontrados no presente estudo, ao contrário, não mostraram efetividade do alelo *Mi* em heterozigose em diminuir a expressão dos sintomas do ToSRV, seja quando ausente o alelo *Ty-1* (C5, Tabela 3), seja na presença de *Ty-1* em heterozigose (C6, Tabela3). A discrepância encontrada entre os estudos pode ser atribuída à alta população de moscas brancas virulíferas, às quais as plantas do experimento foram submetidas, já que o gene atua no número de insetos na planta, mas não age diretamente na inibição do vírus. Segundo AOUN, 2015 o gene *Mi* é mais efetivo no controle da expressão de sintomas de geminivirus quando em homozigose e na presença do alelo *Ty-1*, combinação que não foi testada no presente estudo.

Ao comparar o nível de resistência ao ToSRV do híbridos de fruto tipo saladete em relação aos híbridos de tipo redondo, não houve diferença significativa, independente de o alelo *Ty-1* estar em homozigose (C7, Tabela 3) ou heterozigose (C8, Tabela 3). Não houve, portanto, evidências de maior potencial de resistência ao ToSRV relacionada aos *backgrounds* de um tipo específico de formato de fruto. Apesar das diferentes origens das linhagens utilizadas para a obtenção dos híbridos na empresa, provavelmente a resistência ao begomovírus deve-se apenas à introgressão do alelo de resistência *Ty-1*.

5 CONCLUSÃO

- a) O alelo Ty-1 é eficiente no controle dos sintomas tanto em heterozigose como em homozigose;
- b) O alelo Ty-1 em homozigose é mais efetivo no controle de sintomas do ToSRV em relação ao mesmo alelo em heterozigose;
- c) O alelo Mi em heterozigose não foi efetivo em incrementar o nível de resistência ao vírus, nem em genótipos suscetíveis (Ty-1+/Ty-1+) ao vírus, nem em genótipos resistentes heterozigotos (Ty-1+/Ty-1);
- d) Não há evidências de que os formatos de fruto (redondo ou saladete) tenham efeito na expressão dos sintomas do ToSRV.

REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J. G. et al. Identificação dos genes *Ty-2* e *Ty-3* de resistência a begomovírus em genótipos de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 7, p. 772-775, jul. 2011.
- ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. Lavras: Ed. UFLA, 2013. 455 p.
- ANBINDER, I. et al. Molecular dissection of Tomato leaf curl virus resistance in tomato line TY172 derived from *Solanum peruvianum*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 119, n. 3, p. 519-530, 2009.
- ANUÁRIO da agricultura brasileira: AGRIANUAL 2015. Campo Grande: FNP Consultoria e Comércio, 2015. 499 p.
- AOUN, C. A. **Caracterização de genótipos de tomateiro resistentes a geminivirus**. Lavras: Ed. UFLA, 2015. 52 p.
- BALDIN, E. L. L. et al. Controle de mosca-branca com extratos vegetais, em tomateiro cultivado em casa-devegetação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, p. 602-606, 2007.
- BARBOSA, J. C. et al. Characterization and experimental host range of a Brazilian tomato isolate of *Tomato severe rugose virus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 159, p. 644-646, 2011.
- BELLOWS JUNIOR, T. S. et al. Description of aspecies of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 87, n. 2, p. 195-206, 1994.
- BERGOUGNOUX, V. The history of tomato: from domestication to biopharming. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 170-189, 2014.
- BIANCHINI, A. Genetic control of bean golden mosaic virus (BGMV) in the state of Paraná. In: MORALES, F. J. (Ed.). **Bean golden mosaic research advances**. Cali: CIAT, 1994. p. 174-175.
- BIANCHINI, A. et al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 663 p.

BOITEUX, L. S. et al. Breeding for resistance to viral diseases. In: FRITSCHENETO, R.; BORÉM, A. (Ed.). **Plant breeding for biotic stress resistance**. Berlin: Springer-Verlag, 2012. v. 1, p. 57-79.

BOITEUX, L. S. et al. Reaction of tomato hybrids carrying the *Ty-1* locus to Brazilian bipartite *Begomovirus* species. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, p. 20-23, 2007.

BROWN, J. K.; BIRD, J. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. **Plant Disease**, Quebec, v. 76, n. 3, p. 220-225, 1992.

BROWN, J. K. et al. Family Geminiviridae. In: KING, A. M. Q. et al. (Ed.). **Virus taxonomy**. 9th ed. London: Elsevier Academic, 2012. p. 193-210.

CAMARGO, L. S. **As hortaliças e seu cultivo**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1992. 252 p.

COSTA, A. S. Whitefly-transmitted plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 14, n. 1, p. 429-449, 1976.

DAUBÈZE, A. M.; HENNARD, J. W.; PALLOIX, A. Resistance to *Leveillula taurica* in pepper (*Capsicum annuum*) is oligogenically controlled and stable in Mediterranean regions. **Plant Breeding**, Berlin, v. 114, p. 327-332, 1995.

FARIA, J. C. et al. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, p. 125-137, 2000.

FLORES, E.; SILBERSCHMIDT, K.; KRAMER, M. Observações de “clorose infecciosa” das malváceas em tomateiros do campo. **O Biológico**, São Paulo, v. 26, p. 65-69, 1960.

FRIEDMAN, M. Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 21, p. 5751-5780, 2002.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: Ed. FEALQ, 2002. 920 p.

GIORDANO, L. B.; BOITEUX, L. S.; HORINO, H. Avaliações em condições de campo de genótipos de tomate para a resistência a tospoviroses. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 13, p. 28-31, 1994.

GIORDANO, L. B. et al. Efeito da infecção precoce de Begomovírus com genoma bipartido em características de fruto de tomate industrial. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, p. 815-818, 2005a.

GIORDANO, L. B. et al. Inheritance of resistance to the bipartite *Tomato chlorotic mottle begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv. 'Tyking'. **Euphytica**, Wageningen, v. 143, p. 27-33, 2005b.

GOMEZ, O. et al. Breeding for resistance to *Begomovirus* in tropic-adapted tomato genotypes. **Plant Breeding**, Berlin, v. 123, p. 275-279, 2004.

HAJI, F. N. P. et al. Plantas hospedeiras de Bemisia tabaci biótipo B. In: HAJI, F. N. P.; BLEICHER, E. (Ed.). **Avanços no manejo da mosca-branca Bemisia tabaci biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae)**. Petrolina: EMBRAPA, 2004. p. 31-41.

HANSON, P.; GREEN, S. K.; KUO, G. Ty-2, a gene in chromosome 11 conditioning geminivirus resistance in tomato. **Tomato Genetics Cooperative Report**, Gainesville, v. 56, p. 17-18, 2006.

HUTTON, S. F.; SCOTT, J. W.; SCHUSTER, D. J. Recessive resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* from the tomato cultivar Tyking is located in the same region as Ty-5 on chromosome 4. **HortScience**, Alexandria, v. 47, p. 324-327, Mar. 2012.

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

JI, Y. et al. Molecular mapping of Ty-4, a new tomato yellow leaf curl virus resistance locus on chromosome 3 of tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 134, n. 2, p. 281-288, 2009.

JI, Y.; SCHUSTER, D. J.; SCOTT, J. W. Ty-3, a begomovirus resistance locus near the Tomato yellow leaf curl virus resistance locus Ty-1 on chromosome 6 of tomato. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 20, p. 271-284, 2007.

KING, A. M. G. et al. **Virus taxonomy**: ninth report of the International Committee on Taxonomy of viruses. London: Elsevier Academic, 2012. 1272 p.

KRAUSE, R. et al. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. In: INTERNATIONAL

WORKSHOP ON BEMISIA AND GEMINIVIRUSES, 2., 1998, San Juan. **Proceedings...** San Juan, 1998. p. 46.

LAPIDOT, M. et al. Comparison of resistance level to tomato yellow leaf curl virus among commercial cultivars and breeding lines. **Plant Disease**, Quebec, v. 81, p. 1425-1428, 1997.

LASTRA, R. **Los geminivirus en grupo de fitovirus con características especiales en las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae)**. Catie: En América central y el Caribe, 1993. 66 p. (Serie Técnica, 205).

LATERROT, H. Breeding network to create tomato varieties resistant to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). **Fruits**, Paris, v. 50, p. 439-444, 1995.

LAZAROWITZ, S. G. Geminivirus: genome structure and gene function. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Abingdon, v. 4, p. 327-349, 1992.

LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de Bemisia tabaci no Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n. 1, p. 53-59, 1994.

MARCHESE, A. **Resistência à mosca-branca e ao ácaro-rajado mediada por acilicúcares e pelo gene Mi em tomateiro**. 2013. 63 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MATOS, E. S. et al. Resistência de genótipos de tomateiro a um isolado de geminivírus do cinturão verde de Campinas, São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, p. 159-165, 2003.

MATYIS, J. C. et al. Purificação e morfologia do vírus do mosaico dourado do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 1, p. 267-275, 1975.

MICHELSON, I.; ZAMIR, D.; CZOSNEK, H. Accumulation and translocation of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in a *Lycopersicon esculentum* breeding line containing the *L. chilense* TYLCV tolerance gene *Ty-1*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 84, p. 928-933, 1994.

MINAMI, K.; FONSECA, H. **Tomate: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado, 1982. 92 p. (Série Extensão Agroindustrial, 8).

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 49, p. 219-248, 2011.

NEIVA, I. P. **Resistência à Mosca-Branca em tomateiro mediada por aleloquímicos, por tricomas glandulares e pelo gene *Mi* / Irã Pinheiro Neiva**. Lavras: Ed. UFLA, 2016. 79 p.

NIZIO, D. A. de C. et al. Fingerprinting of tomato genotypes resistant to begomovirus by a codominant molecular marker linked to Ty-1 gene. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 12, p. 1699-1705, dez. 2008.

NOMBELA, G.; BEITIA, F.; MUÑIS, M. Variation in tomato host response to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in relation to acyl sugar content and presence of the nematode and potato aphid resistance gene *Mi*. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 90, p. 161-167, 2000.

NUEZ, F. **El cultivo del tomate**. Madrid: Mundi, 2001. 793 p.

OLIVEIRA, C. M. de. **Efeito do gene *Mi* e dos altos teores foliares de açúcares e de zingibereno na resistência do tomateiro a artrópodes-praga**. 2015. 65 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

OLIVEIRA, M. R. V.; HENNEBERRY, T. J.; ANDERSON, P. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, Guildford, v. 20, n. 9, p. 709-723, 2001.

PEREIRA-CARVALHO, R. C. et al. Multiple resistance to *Meloidogyne* spp. and to bipartite and monopartite Begomovirus spp. in wild *Solanum* (*Lycopersicon*) accessions. **Plant Disease**, Quebec, v. 94, p. 179-185, Feb. 2010.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental: curso de estatística experimental**. Piracicaba: Ed. ESALQ, 1985. 467 p.

ROBERTS, P. A.; THOMASON, I. J. Review of variability in four *Meloidogyne* spp. measured by reproduction on several hosts including *Lycopersicon*. **Agricultural Zoology Reviews**, Heidelberg, v. 3, p. 225-252, 1989.

ROCHA, C. S. et al. Brazilian begomovirus populations are highly recombinant, rapidly evolving, and segregated based on geographical location. **Journal of Virology**, Washington, v. 87, n. 10, p. 5784-5799, 2013.

SALAS, J.; MENDOZA, O. Biology of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 78, p. 154-160, 1995.

SAN JUAN, J. A. M.; RODRIGUEZ, R. R.; RODRIGUEZ, J. M. T. **Cultivo moderno del tomate**. Madrid: Mundi-Prensa, 1997. 255 p.

SANTANA, F. M. et al. Sources of resistance in *Lycopersicon* spp. to a bipartite whitefly-transmitted geminivirus from Brazil. **Euphytica**, Wageningen, v. 122, p. 45-51, 2001.

SANTOS, C. D.; AVILA, A. C. D.; RESENDE, R. D. O. Estudo da interação de um begomovírus isolado de tomateiro com a mosca branca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, p. 664-673, 2003.

SANTOS, C. D. G.; GONÇALVES, M. F. B.; OLIVEIRA, O. R. Detecção, por ELISA, de begomovírus em plantas daninhas presentes em áreas produtoras de tomateiro no Estado do Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, p. S252, 2003. Resumo.

SHARONI, Y. et al. Carotenoids and transcription. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 430, n. 1, p. 89-96, 2004.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B. Produção mundial e nacional. In: _____. **Tomate para processamento industrial**. Brasília, DF: Comunicação para Transferência de Tecnologia/EMBRAPA Hortaliças, 2000. p. 8-11.

VERLAAN, M. G. et al. The *Tomato yellow leaf curl virus* resistance genes *Ty-1* and *Ty-3* are allelic and code for DFDGD-class RNA-dependent RNA polymerases. **PLoS Genetics**, San Francisco, v. 9, n. 3, p. e1003399, 2013.

VICENTE, M. Fisiologia de plantas infectadas por vírus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 4, p. 181-187, 1979.

VIDAVSKI, F. et al. Pyramiding of genes conferring resistance to tomato yellow leaf curl virus from different wild tomato species. **Plant Breeding**, Berlin, v. 127, p. 625-631, 2008.

VILLAS BÔAS, G. L. et al. **Manejo integrado da mosca-branca Bemisia argentifolii**. Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQ, 1997. 11 p. (Circular Técnica da Embrapa Hortaliças, 9).

ZAMIR, D. et al. Mapping and introgression of tomato yellow leaf curl virus tolerance gene, Ty-1. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 88, p. 141-146, 1994.

ANEXO A - TABELAS E FIGURAS**Tabela 1** - Resumo da análise da variância dos dados da área abaixo da curva do progresso de doença (AACPD) dos híbridos em relação ao ToSRV Uberlândia, MG, 2016.

| Fonte de variação | GL | QM | F |
|--------------------------|-----------|-----------|----------|
| Tratamento | 27 | 12889,605 | 78,759** |
| Bloco | 3 | 429,151 | 2,622 |
| Resíduo | 81 | 163,659 | |
| Média | | 153,969 | |
| CV(%) | | 8,310 | |

** significativo pelo teste F ($P < 0,01$).

Tabela 2 - Descrição dos híbridos de tomateiro avaliados, área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD) média das 8 avaliações realizadas. Uberlândia – MG, 2016.

| Híbridos | AACPD média |
|-----------------|-------------|
| T1 = TOF 01 | 90.1 B |
| T2 = TOF 02 | 91.0 B |
| T3 = TOF 03 | 77.9 A |
| T4 = TOF 04 | 129.5 C |
| T5 = TOF 05 | 124.3 C |
| T6 = TOF 06 | 73.5 A |
| T7 = TOF 07 | 180.3 E |
| T8 = TOF 08 | 141.8 D |
| T9 = TOF 09 | 233.6 F |
| T10 = TOF 10 | 101.5 B |
| T11 = TOF 11 | 73.5 A |
| T12 = TOF 12 | 89.3 B |
| T13 = TOF 13 | 245.0 F |
| T14 = TOF 14 | 170.6 E |
| T15 = TOF 15 | 178.5 E |
| T16 = TOF 16 | 184.6 E |
| T17 = TOF 17 | 101.5 B |
| T18 = TOF 18 | 110.3 B |
| T19 = TOF 19 | 152.3 D |
| T20 = TOF 20 | 245.0 F |
| T21 = TOF 21 | 176.8 E |
| T22 = TOF 22 | 238.0 F |
| T23 = TOF 23 | 161.0 E |
| T24 = TOF 24 | 152.3 D |
| T25 = Totalle | 183.8 E |
| T26 = Pizzadoro | 240.6 F |
| T27 = Paronset | 226.6 F |
| T28 = Dominador | 138.3 D |
| Média | 153.9 |
| CV (%) | 8.3 |

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). I.P. = Informação Pessoal

Tabela 3 - Estimativas de contrastes de interesse usados para a comparação de níveis de resistência ao ToSRV de híbridos homocigotos e heterocigotos para o alelo Ty-1, com formato de fruto redondo e saladete, na presença e ausência do alelo Mi. (continua)

| Id. | Contraste de interesse | Descrição | AACPD Estimativa |
|------------|---|--|-------------------------|
| C1 | $[(T7+T8+T14+T15+T17+T19+T21+T23+T24+T25+T28)/11] - [(T9+T13+T16+T20+T22+T26+T27)/7]$ | Híbridos Heterocigotos para o alelo Ty-1 vs Híbridos suscetíveis | -72.6** |
| C2 | $[(T1+T2+T3+T4+T5+T6+T10+T11+T12+T18)/10] - [(T9+T13+T16+T20+T22+T26+T27)/7]$ | Híbridos Homocigotos para o alelo Ty-1 vs Híbridos suscetíveis | -134.42** |
| C3 | $[(T1+T2+T3+T4+T5+T6+T10+T11+T12+T18)/10] - [(T7+T8+T14+T15+T17+T19+T21+T23+T24+T25+T28)/11]$ | Híbridos Homocigotos para o alelo Ty-1 vs Híbridos Heterocigotos para o alelo Ty-1 | -61.13** |
| C4 | $[(T7+T8+T17+T19)/4] - (T27)$ | Híbridos Heterocigotos para o alelo Ty-1 e Homocigotos suscetíveis para o alelo Mi vs Híbridos Homocigotos suscetíveis para o alelo Ty-1 e Homocigotos suscetíveis para o alelo Mi | -82.69** |

Tabela 3 - Estimativas de contrastes de interesse usados para a comparação de níveis de resistência ao ToSRV de híbridos homocigotos e heterocigotos para o alelo Ty-1, com formato de fruto redondo e saladete, na presença e ausência do alelo Mi. (conclusão)

| Id. | Contraste de interesse | Descrição | AACPD Estimativa |
|------------|---|---|-------------------------|
| C5 | $[(T9+T13+T16+T26)/4] - (T27)$ | Híbridos Homocigotos suscetíveis para o alelo Ty-1 e Heterocigotos para o alelo Mi vs Híbridos Homocigotos suscetíveis para o alelo Ty-1 e Homocigotos suscetíveis para o alelo Mi | -0.6562ns |
| C6 | $[(T14+T15+T21+T23+T24+T25)/6] - [(T7+T8+T17+T19)/4]$ | Híbridos Heterocigotos para o alelo Ty-1 e Heterocigotos para o alelo Mi vs Híbridos Heterocigotos para o alelo Ty-1 e Homocigotos suscetíveis para o alelo Mi | 26.54ns |
| C7 | $[(T14+T15+T25)/3] - [(T21+T23+T24)/3]$ | Híbridos saladete heterocigotos para o alelo Ty e heterocigotos para o alelo Mi vs Híbridos redondos heterocigotos para o alelo Ty e heterocigotos para o alelo Mi | 0.5ns |
| C8 | $[(T1+T2+T3+T10+T11+T12+T18)/7] - [(T4+T5+T6)/3]$ | Híbridos saladetes homocigotos para o alelo Ty e homocigotos suscetíveis para o alelo Mi vs Híbridos redondos homocigotos para o alelo Ty e homocigotos suscetíveis para o alelo Mi | -0.45ns |

** Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Scheffé.

Figura 1 - Evolução dos sintomas do ToSRV de seis híbridos experimentais e dos 4 híbridos comerciais alvos do estudo

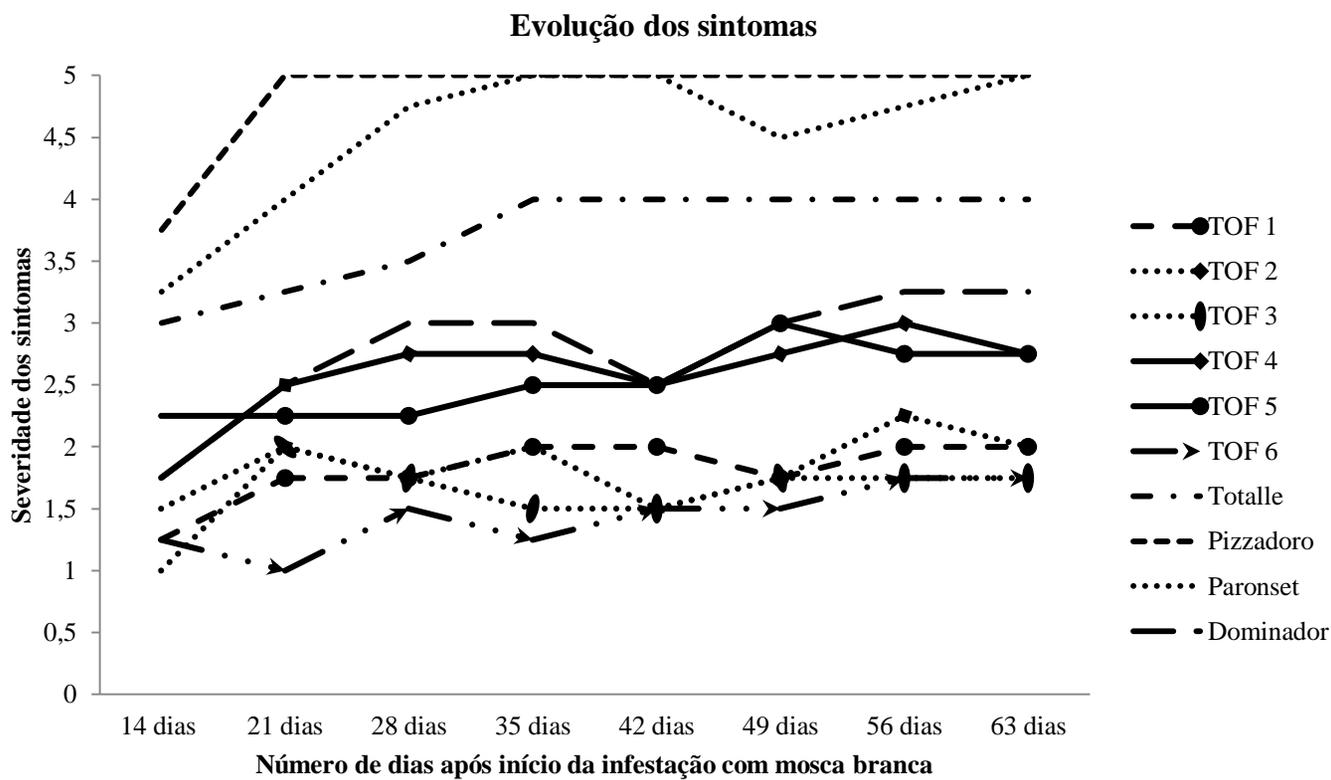


Figura 2 - Evolução dos sintomas do ToSRV de seis híbridos experimentais e dos 4 híbridos comerciais alvos do estudo.

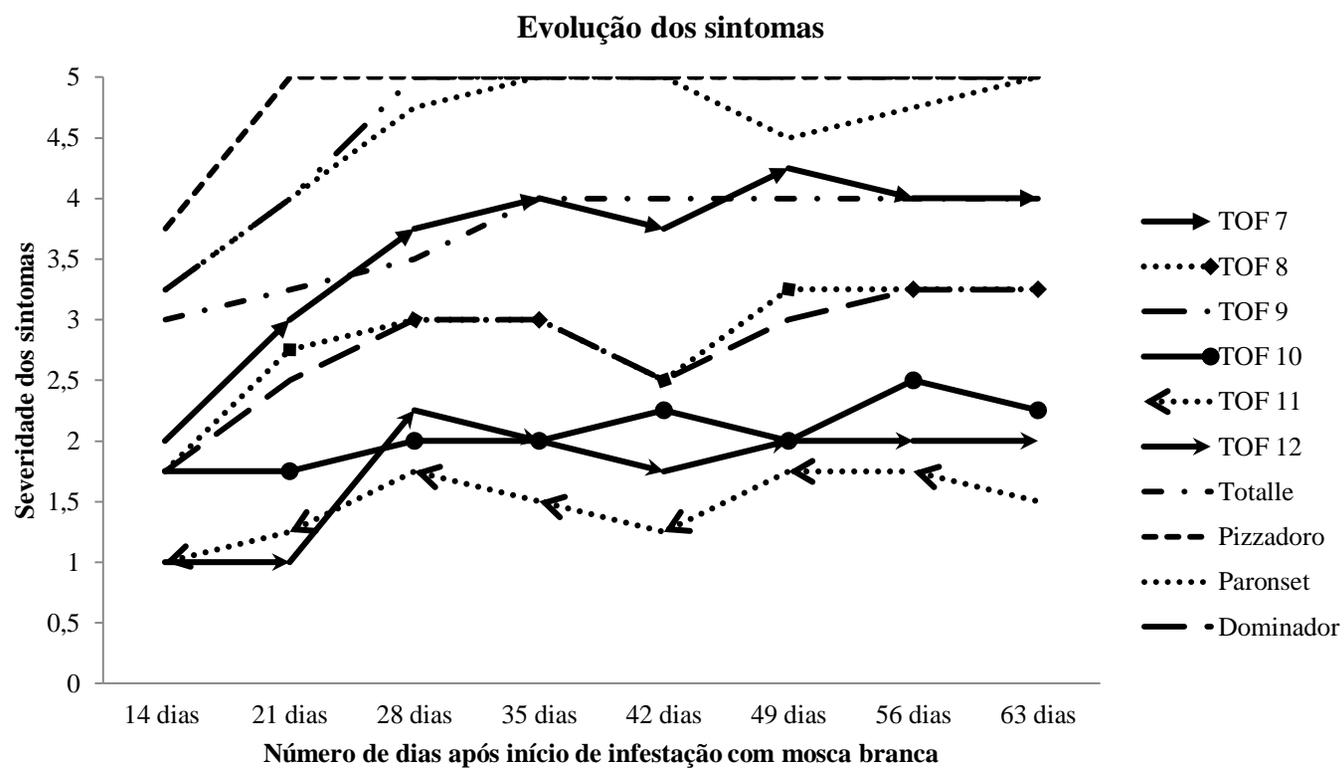


Figura 3 - Evolução dos sintomas do ToSRV de seis híbridos experimentais e dos 4 híbridos comerciais alvos do estudo.

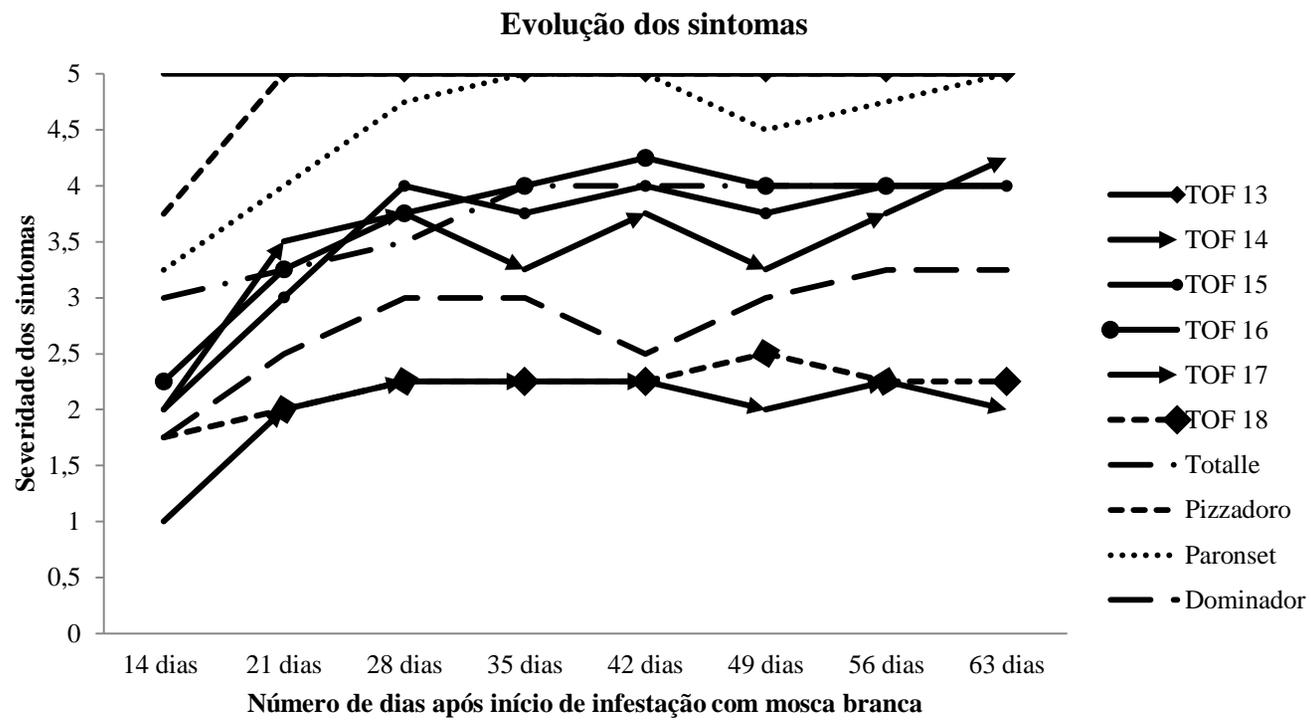


Figura 4 - Evolução dos sintomas do ToSRV de seis híbridos experimentais e dos 4 híbridos comerciais alvos do estudo.

