



**REGIS DE CASTRO CARVALHO**

**RESISTANCE TO TWO-SPOTTED SPIDER MITES  
*Tetranychus urticae* IN TOMATO GENOTYPES AND THEIR  
RELATIONSHIP WITH GLANDULAR TRICHOMES,  
ACYLSUGAR CONTENTS AND MOLECULAR MARKERS**

**LAVRAS-MG**

**2017**

**REGIS DE CASTRO CARVALHO**

**RESISTANCE TO TWO-SPOTTED SPIDER MITES *Tetranychus urticae* IN TOMATO  
GENOTYPES AND THEIR RELATIONSHIP WITH GLANDULAR TRICHOMES,  
ACYLSUGAR CONTENTS AND MOLECULAR MARKERS**

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

Orientador

PhD. Wilson Roberto Maluf

**LAVRAS-MG**

**2017**

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

Carvalho, Regis de Castro.

Resistance to two-spotted spider mites *Tetranychus urticae* in  
tomato genotypes and their relationship with glandular trichomes,  
acylsugar contents and molecular markers / Regis de Castro  
Carvalho. - 2017.

73 p.

Orientador(a): Wilson Roberto Maluf.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2017.  
Bibliografia.

1. Arthropod pest resistance. 2. Allelochemicals. 3. Foliar  
trichomes. I. Maluf, Wilson Roberto. II. Título.

**REGIS DE CASTRO CARVALHO**

**RESISTANCE TO TWO-SPOTTED SPIDER MITES *Tetranychus urticae* IN TOMATO GENOTYPES AND THEIR RELATIONSHIP WITH GLANDULAR TRICHOMES, ACYLSUGAR CONTENTS AND MOLECULAR MARKERS**

**RESISTÊNCIA AO ÁCARO RAJADO *Tetranychus urticae* EM TOMATEIRO E SUA RELAÇÃO COM TRICOMAS GLANDULARES, TEOR DE ACILAÇÚCARES E RESPECTIVOS MARCADORES MOLECULARES**

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

APROVADA em 30 de Junho de 2017.

Dr. Evaristo Mauro de Castro

Dr. Guilherme Henrique Martins Rodrigues Ribeiro

Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes

Dr. Válter Carvalho de Andrade Júnior

UFLA

UFSCAR

UFLA

UFLA

PhD. Wilson Roberto Maluf  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2017**

*Aos meus pais, Sebastião (in memoriam) e Zael; à minha esposa Marilda.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por abençoar o meu caminho e pelas oportunidades que me foram concedidas.

À minha mãe Zael, aos meus irmãos Rodrigo e Lilian e aos meus familiares pelo apoio incondicional e incentivo para que eu sempre acreditasse ser possível alcançar os meus objetivos.

À minha esposa Marilda, pelo amor e companheirismo sempre presentes ao longo desta caminhada.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), que me formou Engenheiro Agrônomo, e também ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pelos títulos de Mestre e Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro e pela concessão de bolsas de estudo.

Ao Prof. Wilson Roberto Maluf, pela confiança, orientação e amizade construída.

Ao Prof. David Francis, por contribuir para que meu doutorado-sanduiche fosse uma experiência de grande aprendizado, também pela orientação.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Evaristo, Dr. Guilherme, Dr. Luiz e Dr. Válder, por contribuírem de forma decisiva para a qualidade desta tese.

Aos professores da área de Genética e Melhoramento de Plantas pelos ensinamentos transmitidos e agradável convivência.

Aos amigos de Wooster-OH, que foram minha família durante o ano que estive fora de casa.

A Empresa HortiAgro Sementes S.A. pela disponibilidade de recursos e infraestrutura, e aos seus funcionários por sempre ajudarem na realização dos experimentos, em especial Paulo Moretto, Vicente Licursi, Sebastião (Ná), Ronaldo (Naldo) e André (Carijó).

À The Ohio State University (OSU) e Ohio Agricultural Research & Development Center (OARDC/OSU), por me aceitar como aluno de doutorado-sanduiche.

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela amizade e boa convivência.

Aos colegas de orientação que estiveram presentes durante toda esta caminhada, da graduação ao doutorado: Álvaro, Ranoel, Douglas, Gabriel, David, César, André, Luis Felipe, Thiago, Danilo, Marcela, Celso, Irã, Aline, Alex, Eva, Daniela, Gabriela, Gustavo, Jéssica,

Guilherme, Alisson, Carlos, Betsabé, Beatriz, Monik, João, Nathália, Rodolfo, Cyntia e Thábata.

Aos companheiros de república: Zélio, Rodrigo, Arley, Maurício e Hécio pela amizade e apoio.

Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, estiveram comigo durante todos estes anos.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

O tomateiro é uma cultura sujeita a elevada incidência de artrópodes-pragas, de maneira que cultivares com bons níveis de resistência seriam de grande interesse no manejo da cultura, na qual o controle de pragas tem sido realizado historicamente por meio de controle químico. A espécie selvagem *Solanum galapagense* é promissora para uso no melhoramento do tomateiro, por possuir alto nível de resistência a insetos, presumivelmente associada aos tricomas glandulares. Deste modo, nosso estudo objetivou verificar a resistência ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* em genótipos de tomateiro obtidos do cruzamento interespecífico com *S. galapagense*, e sua possível associação com a presença de tricomas glandulares. Além disso, pretendeu-se confirmar em gerações  $F_3$  e  $F_2RC_{1(1)}$  a relação entre QTLs (locos de caracteres quantitativos), previamente detectados em uma população  $F_2$ , como associados à presença de tricomas glandulares, bem como determinar as inter-relações entre os QTLs, os tricomas tipo IV e a presença de acilaçúcares. Os genótipos experimentais  $F_2$  com alta densidade de tricomas tipo IV e o acesso 'LA1401' mostraram distâncias menores percorridas pelos ácaros na superfície do folíolo do tomateiro do que os genótipos  $F_2$  com baixa densidade de tricomas tipo IV e as testemunhas 'TOM-684' e 'Santa Clara'. Nas populações avançadas ( $F_3$  e  $F_2RC_{1(1)}$ ), o teor de acilaçúcares foi correlacionado positivamente com a densidade de tricomas glandulares tipo IV. Os resultados confirmaram a associação dos QTLs com a produção de acilaçúcar e presença de tricomas glandulares tipo IV nas gerações  $F_3$  e  $F_2RC_{1(1)}$ . A seleção de plantas com maiores densidades de tricomas glandulares tipo IV é um critério seguro para seleção indireta para resistência a pragas mediada por acilaçúcares. Os marcadores InDel são eficazes para selecionar indivíduos com altos níveis de acilaçúcar e alta densidade de tricomas glandulares em populações avançadas do cruzamento entre *S. galapagense* 'LA1401' x *S. lycopersicum* 'TOM-684'.

**Palavras-chave:** Resistência a artrópodes-praga. Aleloquímicos. Tricomas foliares. Seleção indireta. Marcadores InDel.



## ABSTRACT

The tomato is a crop subject to the high incidence of arthropod pests, so cultivars with good levels of resistance would be of great interest in the management of the crop, in which pest control has been carried out historically by chemical control. The wild species *Solanum galapagense* is promising for use in tomato breeding, because of its high level of resistance to insects, presumably associated with glandular trichomes. Our study aimed to assess the resistance to spider mite *Tetranychus urticae* in tomato genotypes obtained from an interspecific cross with *S. galapagense* and its possible association with the presence of glandular trichomes. We aim to confirm whether the relationship between QTLs (quantitative trait loci) and the presence of type IV glandular trichomes, previously detected in an F<sub>2</sub> population, holds in more advanced generations (F<sub>3</sub> and F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub>), and to determine the interrelationships between QTLs, type IV trichomes and acylsugar. The experimental F<sub>2</sub> genotypes with high density of type IV trichomes and the access 'LA1401' showed smaller distances traveled by the mites on the surface of the tomato leaflet than either the F<sub>2</sub> genotypes with low density of type IV trichomes and or the checks 'TOM-684' and 'Santa Clara'. In the advanced populations (F<sub>3</sub> and F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub>), the acylsugar contents were positively correlated with the type IV glandular trichome densities. The results confirmed the association of those QTLs with the acylsugar contents and presence of type IV glandular trichomes in generations F<sub>3</sub> and F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub>. The selection of plants with higher density of type IV glandular trichomes is a safe criterion for indirect selection for resistance to arthropod pests mediated by acylsugars. InDel markers are effective to select individuals with high levels of acylsugars and high density of glandular trichomes in advanced populations from the cross between *S. galapagense* 'LA1401' and *S. lycopersicum* 'TOM-684'.

**Keywords:** Arthropod pest resistance. Allelochemicals. Foliar trichomes. Indirect selection. InDel markers.

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	11
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
2.1 Aspectos gerais da cultura do tomateiro.....	13
2.2 Histórico e importância socioeconômica da cultura do tomateiro.....	14
2.3 Artrópodes-praga na cultura do tomateiro.....	15
2.4 O ácaro <i>Tetranychus urticae</i> .....	16
2.5 Melhoramento do tomateiro visando resistência a artrópodes-praga mediada por aleloquímicos e tricomas glandulares.....	18
2.6 O tomateiro <i>Solanum galapagense</i> e a resistência a artrópodes.....	22
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	24
<b>SEGUNDA PARTE: ARTIGOS</b> .....	31
<b>ARTIGO 1: Repellence to two-spotted spider mite in tomato genotypes obtained from an interspecific cross between <i>Solanum lycopersicum</i> x <i>Solanum galapagense</i></b> .....	31
<b>1 INTRODUCTION</b> .....	34
<b>2 MATERIAL AND METHODS</b> .....	35
<b>3 RESULTS AND DISCUSSION</b> .....	37
<b>4 CONCLUSIONS</b> .....	41
<b>REFERENCES</b> .....	42
<b>ARTIGO 2: Relationship between acylsugar contents and trichome density in tomato genotypes derived from the interspecific cross <i>Solanum lycopersicum</i> x <i>Solanum galapagense</i> accession LA1401</b> .....	51
<b>1 INTRODUCTION</b> .....	54
<b>2 MATERIAL AND METHODS</b> .....	55
<b>3 RESULTS AND DISCUSSION</b> .....	58
<b>4 CONCLUSIONS</b> .....	62
<b>REFERENCES</b> .....	63

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O tomateiro é uma cultura sujeita à elevada incidência de artrópodes-pragas, fato que leva os produtores a utilizarem, com frequência, agroquímicos com o intuito de amenizar as perdas. Programas de melhoramento têm buscado fonte de resistência a pragas com o intuito de disponibilizar ao mercado cultivares que possuam nível satisfatório de resistência, o que refletiria em uma diminuição da utilização de defensivos agrícolas.

A primeira fonte de variabilidade usada para o melhoramento em tomate foi a intraespecífica, o que permitiu grandes avanços para esta cultura. Entretanto, esta variabilidade não foi suficiente para identificar resistências a um grande número de patógenos e pragas, o que conduziu a procura por novas fontes de variação em espécies selvagens, fazendo-se uso dos cruzamentos interespecíficos (DIEZ; NUEZ, 2008).

Para seleção de genótipos resistentes a pragas, incluindo-se o ácaro rajado *Tetranychus urticae*, tem-se utilizado seleção indireta, fazendo-se uso de seleção de plantas com alta densidade de tricomas glandulares e altos teores de aleloquímicos que confirmam resistência. Esses compostos químicos têm sido associados a efeitos deterrentes na alimentação e na reprodução dos insetos-praga e/ou efeito antibiótico no seu desenvolvimento (RESENDE et al., 2006; 2008; MACIEL, 2008; SILVA et al., 2009; MACIEL et al., 2011; LUCATTI et al., 2014; LUCINI et al., 2015). Porém, ainda não estão disponíveis no mercado cultivares com níveis satisfatórios de resistência.

Recentemente, tem sido relatada a resistência da espécie selvagem *S. galapagense* a pragas como a mosca branca *Bemisia* spp. e a lagarta *Helicoverpa armigera*, sendo esta resistência associada à presença de acilaçúcares e tricomas glandulares (FIRDAUS et al., 2012; 2013; SILVA et al., 2016). Portanto, acessos dessa espécie são importantes fontes de resistência para os programas de melhoramento.

O conhecimento sobre o controle genético de densidades de tricomas glandulares do tipo IV e regiões genômicas associadas com estas densidades é essencial para uma introgressão bem sucedida dessa característica. Andrade (2015) identificou dois QTLs (locos de caracteres quantitativos), nos cromossomos 2 e 3, respectivamente, associados com a densidade de tricomas glandulares tipo IV em uma população F2 derivada do cruzamento interespecífico *Solanum lycopersicum* TOM-684 x *Solanum galapagense* LA1401.

O presente trabalho tem como objetivos: (1) verificar a resistência ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* em genótipos de tomateiro obtidos do cruzamento interespecífico *S. lycopersicum* x *S. galapagense* e sua possível associação com a presença de tricomas glandulares, (2) confirmar a relação entre esses QTLs e a presença de tricomas glandulares tipo IV em gerações mais avançadas (F<sub>3</sub> e F<sub>2</sub>RC<sub>1(1)</sub>), e (3) determinar as inter-relações entre os QTLs, os tricomas tipo IV e acilaçúcares.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos gerais da cultura do tomateiro

O tomateiro é classificado como um dos membros da família Solanaceae e do gênero *Solanum*. A família Solanaceae possui aproximadamente entre 3000 espécies distribuídas em 90 gêneros, sendo considerada como uma das mais importantes para a agricultura, pois contém pelo menos cinco grupos de espécies de grande interesse econômico: a batata (*Solanum tuberosum*), as pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.), a berinjela (*Solanum melongena*), o tabaco (*Nicotiana tabacum*) e o tomate (*Solanum lycopersicum*) (KNAPP et al., 2004; SEGUÍ-SIMARRO et al., 2011). O gênero *Solanum* é o de maior importância econômica e o mais representativo da família com aproximadamente 2000 espécies (DARWIN; KNAPP; PERALTA, 2003; WEESE; BOHS, 2007).

O nome científico do tomateiro cultivado primeiramente foi dado por Lineaus (1753), o qual o denominou de *Solanum lycopersicum*. No entanto, em 1768, Miller reclassificou-o, relacionando-o ao gênero *Lycopersicon*, e denominando-o de *Lycopersicon esculentum*, nome adotado pela maioria dos botânicos e melhoristas de plantas até recentemente. Porém, atualmente, com base em evidências de estudos filogenéticos utilizando sequências de DNA e estudos mais aprofundados da morfologia e distribuição da planta, a classificação da família Solanaceae foi revisada e o gênero *Lycopersicon* foi novamente integrado ao gênero *Solanum* (DARWIN; KNAPP; PERALTA, 2003; PERALTA; KNAPP; SPOONER, 2006).

O gênero *Solanum* seção *Lycopersicon* é composto por 13 espécies de tomateiro, sendo a espécie *S. lycopersicum* o tomateiro cultivado, e as demais espécies selvagens (*S. arcanum*, *S. cheesmaniae*, *S. chilense*, *S. chmielewski*, *S. galapagense*, *S. habrochaites*, *S. huaylasense*, *S. corneliomuelleri*, *S. neorickii*, *S. pennellii*, *S. peruvianum* e *S. pimpinellifolium*). São nativas da região Andina a qual abrange parte do Chile, da Colômbia, do Equador, da Bolívia e do Peru, e da região onde se localizam as ilhas Galápagos (PERALTA; KNAPP; SPOONER, 2006). Estas espécies se desenvolveram em diferentes latitudes e habitats o que favoreceu o surgimento da diversidade de espécies dessa seção do gênero (PERALTA; KNAPP; SPOONER, 2005). O tomate cereja *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, provavelmente é o ancestral do tomateiro cultivado (BAI; LINDHOUT, 2007).

Todas as espécies selvagens de tomateiro são diploides ( $2n = 2x = 24$ ) podendo ser cruzadas com o tomate cultivado. A exploração da variabilidade genética presente nas espécies selvagens é de grande importância no melhoramento de plantas, pois estas

apresentam a maior parte da diversidade genética do “gene pool” (PERALTA; SPOONER, 2005). Acessos de espécies selvagens de tomateiro já foram relatados como resistentes à seca, salinidade, nematóides, fungos, bactérias, vírus e artrópodes-praga (RUSH; EPSTEIN, 1981; MARTIN et al., 1993; KEBEDE et al., 1994; ROSSI et al., 1998; FRANCIS et al., 2001; MALUF et al., 2001; FREITAS et al., 2002).

## **2.2 Histórico e importância socioeconômica da cultura do tomateiro**

A domesticação do tomate ocorreu, antes da colonização espanhola, no México país que é considerado o centro de origem secundário do tomate. No século XVI, foi introduzido na Europa pelos espanhóis, sendo utilizado inicialmente como planta ornamental. Os italianos foram os primeiros a utilizá-lo na gastronomia, em meados do século XVI. No Brasil, sua introdução ocorreu através de imigrantes europeus, no fim do século XIX, porém o aumento no seu uso e produção ocorreu somente após a Primeira Guerra Mundial (ALVARENGA, 2013). Naquela época, as variedades cultivadas eram conhecidas com o nome de Redondo Japonês, Rei Umberto e Chacareiro. Acredita-se que um híbrido natural entre essas variedades tenha surgido dando origem às cultivares do grupo Santa Cruz (NICK; SILVA, 2016).

As cultivares de tomate mais plantado atualmente podem ser divididas em cinco grupos principais. Quatro deles são destinados para consumo *in natura*, e geralmente possuem hábito de crescimento indeterminado, enquanto um grupo é destinado à indústria, e possui hábito de crescimento determinado. Estes grupos são conhecidos como: Santa Cruz, Salada (inclui o Grupo Saladinha), Italiano, Cereja e Indústria (FILGUEIRA, 2008; ALVARENGA, 2013).

Os frutos do tomateiro são uma boa fonte de ácido fólico, vitamina C e potássio, além de serem ricos em licopeno (o qual tem se destacado por sua ação anticarcinogênica) e pró-vitamina A (betacaroteno). Outros compostos importantes como a vitamina E, e os flavonoides também são encontrados no tomate. Possui baixo teor de energia, cerca de 20 kcal por 100g de fruto. O sabor é dado, principalmente, pelos teores de sólidos solúveis (açúcares e ácidos orgânicos). Devido a sua versatilidade de utilização, tanto no consumo *in natura* ou processado nas formas de suco, molho, pasta e desidratado, o tomate tem ganhado cada vez maior número de consumidores (FONTES; SILVA, 2005; CARVALHO; PAGLIUCA, 2007).

No ano de 2013, a produção mundial de tomate foi superior a 164 milhões de toneladas, sendo liderada por China, Índia e os Estados Unidos. O Brasil ocupou o oitavo lugar no ranking de países produtores. Em 2016, a produção brasileira foi 3,5 milhões de

toneladas, numa área colhida de 55,1 mil hectares. Os principais estados produtores foram São Paulo, Minas Gerais e Goiás, representando 62,6% da produção nacional (AGRIANUAL, 2017). A cadeia produtiva de tomate tem relevância econômica no agronegócio brasileiro, tendo movimentado, em 2013, mais de R\$ 4 bilhões. Aliado a isso, o cultivo do tomateiro possui grande importância social, devido à quantidade elevada de empregos diretos e indiretos que gera, sendo fonte de renda para pequenos e médios produtores (ABCSEM, 2010; MELO; VILELA; BOITEUX, 2010; NICK; SILVA, 2016).

### 2.3 Artrópodes-praga na cultura do tomateiro

A cultura do tomateiro sofre com o ataque de insetos-praga durante todas as fases fenológicas, o que leva muitos produtores a realizarem aplicações frequentes de inseticidas químicos. Assim, boa parte dos recursos financeiros utilizados para a produção é destinada ao controle, que dependendo da intensidade do ataque, podem causar redução significativa na produtividade (CARVALHO et al., 2012). No Brasil, o problema é ainda mais grave considerando-se as condições de temperatura e umidade elevadas que favorecem o aparecimento e desenvolvimento de pragas (MALUF, CAMPOS, CARDOSO, 2001).

Dentre o complexo de artrópodes-praga da cultura do tomate, atualmente são consideradas pragas-chaves no Brasil: a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), a broca pequena *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) e o trips *Frankliniella schultzei* (Trybom) (Thysanoptera: Thripidae) (GRAVINA, 2010) e, de ocorrência mais recente, a lagarta *Helicoverpa armigera* (PRATISSOLI et al., 2015). A lista de pragas secundárias é extensa, destacando-se os pulgões *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), as brocas-grandes-dos- frutos *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Pseudoplusia includens* (Walter) (Lepidoptera: Noctuidae), o ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae), o microácaro *Aculops lycopersici* (Masse) (Acari: Eriofilidae), as moscas-minadoras *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) e *L. sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), a lagarta rosca *Agrotis ipsilon* (Hufnagel), (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta-das-folhas *Manduca difissa* (Butler) (Lepidoptera: Sphingidae), a vaquinha *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) e os percevejos *Nezara viridula* (Linnaeus) (Hemiptera: Pentatomidae) e

*Phthia picta* (Drury) (Hemiptera: Coreidade) (HAJI et al., 2004; SILVA; CARVALHO, 2004; FERNANDES; CARDOSO; MARTINELLI, 2010; GRAVINA, 2010).

O uso de produtos químicos no controle de pragas nem sempre é eficiente, e no intuito de tentar melhorar essa eficiência e garantir a produtividade, o produtor, muitas das vezes, faz dele um uso indiscriminado. Este aspecto é preocupante, pois esses produtos trazem risco à saúde do trabalhador, que realiza a aplicação, e do consumidor, devido à presença de resíduos químicos nos frutos, além de problemas relacionados ao meio ambiente, com a utilização excessiva de defensivos agrícolas (FREITAS et al., 2002; PERES et al., 2003).

Assim, o desenvolvimento de cultivares de tomate nos programas de melhoramento genético com elevados níveis de resistência, pode ser uma importante alternativa ao controle químico no manejo integrado de pragas da cultura. Alguns trabalhos têm sido desenvolvidos buscando a obtenção de resistências a pragas, por meio da introgressão de resistência, presente em espécies selvagens (FREITAS et al., 2002; MALUF et al., 2007; 2010; RESENDE et al., 2009; MOMOTAZ; SCOTT; SCHUSTER, 2010; DIAS et al., 2013; FIRDAUS et al., 2013).

#### **2.4 O ácaro *Tetranychus urticae***

Os ácaros do gênero *Tetranychus* são artrópodes que pertencem à ordem Acari, da classe Arachnida. Exibem o comportamento característico de produzirem teias, o que dificulta a ação de inimigos naturais, diminui a eficiência dos agroquímicos e lhes oferece proteção em condições climáticas adversas (GERSON, 1985). Caracterizam-se pelo pequeno tamanho, ausência de asas e de antenas, presença de quelíceras, e por apresentarem quatro pares de patas na fase adulta, com cabeça, tórax e abdome fundidos e não segmentados. Este fato levou diversos taxonomistas e sistematas a considerá-los como artrópodes altamente especializados (FLECHTMAN; BAKER, 1970).

Três espécies, dentre as inúmeras do gênero *Tetranychus*, são de importância econômica para a cultura do tomate: o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch e os ácaros-vermelhos *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard e *Tetranychus ludeni* Zacher (FLECHTMAN, 1989). Devido à ampla gama de hospedeiros e prejuízos causados, *T. urticae* é considerado como a principal espécie praga do gênero *Tetranychus*. Flechtman (1989) citou as culturas do algodão, amendoim, feijão, ervilha, fava, soja, mamona, pessegueiro, flores, folhagens, morangueiro, roseira, tomate, berinjela e pimentão como as principais culturas atacadas por este ácaro no Brasil.



As espécies do gênero *Tetranychus* possuem biologia e hábitos bastante semelhantes, sendo seu desenvolvimento constituído pelas fases ovo, larva, ninfa e adulto; a reprodução se dá por partenogênese arrenótoca, pela qual os ovos fertilizados dão origem às fêmeas e os não fertilizados, aos machos (BARBOSA; FRANÇA, 1980). Os ovos são esbranquiçados e colocados na parte inferior das folhas, eclodindo de quatro a sete dias após a postura. As larvas são incolores e translúcidas com tamanhos semelhantes ao de um ovo da mesma espécie. Com o início da alimentação, o ácaro apresenta um gradativo escurecimento. Na fase adulta, os *Tetranychus* apresentam forma oval sendo que os machos apresentam menores tamanhos com opistossoma afilado e as fêmeas são maiores e opistossoma arredondado (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O ácaro rajado *T. urticae* apresenta coloração esverdeada em todas as fases ativas; as fêmeas são maiores que os machos, medindo cerca de 0,5 mm de comprimento e, frequentemente, apresentam dois pares de manchas escuras nos dorso. Os ácaros *T. evansi* e *T. ludeni* apresentam coloração vermelha, no caso das fêmeas, e também para a fase de ninfa (FLECHTMANN, 1989). O ciclo de vida de *T. urticae* varia de 5 a 20 dias para fêmeas e de 5 a 50 dias para machos (MORAES; LEITE FILHO, 1981).

O ataque ocorre, preferencialmente, nas folhas jovens das plantas, entretanto, quando as colônias estão bem estabelecidas, ocorre em toda a planta. As colônias desenvolvem-se na face inferior das folhas, porém quando o ataque é intenso podem expandir-se para ambas as superfícies (JEPPSON et al., 1975). Em tomateiro, as plantas atacadas apresentam injúria mecânica como consequência da alimentação. As folhas perfuradas são prejudicadas pela perda de água e clorofila resultando em redução da intensidade de fotossíntese. A secagem das folhas e posterior desfolhamento levam à diminuição do número e do tamanho dos frutos, induzindo-os à maturação precoce (FLECHTMANN, 1989).

O controle de ácaros na cultura do tomateiro, assim como o controle de insetos-praga, é feito, principalmente através da aplicação de agroquímicos, os quais nem sempre apresentam eficiência e, ainda, são responsáveis por problemas relacionados à contaminação ambiental, à resistência do ácaro ao princípio ativo e à eliminação de inimigos naturais. Outra possibilidade de controle de ácaros na cultura do tomateiro que vem sendo estudada é a utilização de cultivares resistentes obtidas através do cruzamento com acessos selvagens de *Solanum* relacionados ao tomateiro domesticado, portadores de fatores de resistência, como os aleloquímicos (PEREIRA et al., 2008).

## 2.5 Melhoramento do tomateiro visando resistência a artrópodes-praga mediada por aleloquímicos e tricomas glandulares

Espécies selvagens de tomateiro têm sido utilizadas como fonte de resistência a pragas por possuírem substâncias químicas conhecidas como aleloquímicos, que apesar de não desempenharem nenhuma função direta, são responsáveis pela interação das plantas com outros organismos, principalmente insetos e ácaros, podendo atuar como substâncias de defesa ou estimulantes ao ataque de pragas (PIZZAMIGLIO, 1991; BALDIN; VENDRAMIM; LOURENÇÃO, 2005). A presença desses aleloquímicos nas folhas do tomateiro está relacionada à resistência das plantas, que pode ser pelo mecanismo ou tipo não-preferência (o qual é caracterizado pela baixa preferência alimentar ou oviposição dos artrópodes-praga pelos genótipos com concentrações significativas do aleloquímico), ou pelo mecanismo de antibiose (detectado, quando os genótipos com altos teores de aleloquímico causam efeitos negativos no desenvolvimento biológico dos artrópodes-praga) (SIMMONS; GURR, 2005; SILVA, 2012).

Os principais aleloquímicos encontrados em espécies selvagens de tomateiro pertencem aos grupos dos acilaçúcares, sesquiterpenos (zingibereno) e metil-cetonas (2-tridecanona) (WILLIAMS et al., 1980; CARTER et al., 1988; GOFFREDA et al., 1989; SIMMONS; GURR, 2005). Esses aleloquímicos podem ser produzidos e exsudados por tricomas foliares (PEREIRA et al., 2008). Conforme LUCKWILL (1943), os tricomas são estruturas delgadas, com tamanho variado, podendo ou não, possuir pequenas vesículas glandulares na extremidade que, ao serem tocadas estouram, liberando assim os aleloquímicos. Dos sete tipos tricomas descritos por este autor, três são definidos como não glandulares (II, III e V) e os outros quatro são do tipo glandulares (I, IV, VI e VII), que possuem como característica, uma ou mais glândulas no seu ápice. Os tricomas não glandulares podem atuar diretamente sobre os insetos, afetando sua oviposição, alimentação ou locomoção. Os glandulares podem ser complementos na defesa química devido à secreção de terpenos, alcaloides, substâncias fenólicas e outras que podem ser repelentes (FREITAS et al., 2000).

Os acilaçúcares, que são ésteres de glicose ou sacarose com grupos acilas, estão presentes nos tricomas glandulares do tipo IV em folíolos de tomateiro selvagem de *S. pennellii*, *S. pimpinellifolium* e *S. galapagense*. Vários estudos tem relatado a associação entre tricomas glandulares tipo IV e teor de acilaçúcares como causa da resistência à artrópodes-praga (GOFFREDA et al., 1989; JUVIK et al., 1994; MUIGAI et al., 2003; RODRÍGUEZ-

LÓPEZ et al., 2011; FIRDAUS et al., 2012; LUCATTI et al., 2013). Lucini et al. (2015) verificaram que genótipos, obtidos do cruzamento entre *S. lycopersicum* x *S. pennellii* acesso LA716, com alta densidade de tricomas tipo IV também apresentavam altos teores de acilaçúcar. Os autores observaram também uma alta mortalidade e baixa oviposição de ácaro rajado *Tetranychus urticae* nesses genótipos. Lucatti et al. (2013) avaliou a resistência à mosca branca em *S. galapagense*. Os autores relataram que em acessos resistentes de *S. galapagense*, a resistência foi associada com a presença de tricomas glandulares tipo IV e acilaçúcar. Resultados semelhantes foram encontrados por Firdaus et al. (2012).

Gonçalves (2006) e Costa (2013) não encontraram correlação entre tricomas glandulares e teor de acilaçúcares. Ambos avaliaram populações avançadas, selecionadas para alto acilaçúcar, provenientes do cruzamento entre *S. lycopersicum* x *S. pennellii* acesso LA716. Devido essas populações terem sido selecionadas somente para o teor de acilaçúcar e não diretamente para densidade de tricomas glandulares, os autores sugerem que o acilaçúcar possa estar presente também em outras partes da planta, como as células da epiderme foliar.

Maciel (2008) observou que híbridos de tomateiro com maiores teores de acilaçúcares também são capazes de conferir resistência à traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*), mosca branca (*Bemisia argentifolii*), ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), assim caracterizando um amplo espectro de resistências a pragas. O autor ressaltou que não seria necessário utilizar somente genótipos homozigotos com alto teor de acilaçúcar, pois até mesmo os genótipos heterozigotos (híbridos) com teores intermediários de acilaçúcares, apresentaram níveis satisfatórios de resistência.

Marchese (2013) comparando a resistência à mosca branca *B. tabaci* biótipo B e ao ácaro rajado *T. urticae* de linhagens de tomateiro com baixos e altos teores foliares de acilaçúcares e de linhagens portadoras do gene *Mi* (que confere resistência a nematoides), observou que as linhagens com altos teores de acilaçúcares apresentaram maiores níveis de não-preferência para oviposição da mosca branca quando comparadas às demais linhagens. As linhagens com baixos teores foliares de acilaçúcares e portadoras do gene *Mi* apresentaram níveis intermediários de resistência à mosca branca, indicando alguma ação do gene *Mi* na resistência. Com relação ao ácaro rajado, apenas as linhagens com altos teores de acilaçúcares foram efetivas em conferir resistência.

A herança da produção de acilaçúcares foi determinada em uma população F<sub>2</sub>RC<sub>3</sub>, proveniente do cruzamento *S. lycopersicum* x *S. pennellii* 'LA716'. Houve evidência da ação de um alelo recessivo, com grau de dominância incompleta na expressão de alto teor de

acilaçúcares (RESENDE et al., 2002). A hipótese de herança monogênica também foi confirmada em estudos posteriores (GONÇALVES et al., 2007; BAIER et al., 2015).

Outro aleloquímico que pode conferir resistência a artrópodes-praga é o zingibereno, um sesquiterpeno presente em acessos de *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* (WESTON et al., 1989). Freitas et al. (2002) comprovaram a efetividade do zingibereno em conferir resistência a mosca-branca: genótipos selecionados para alto teor de zingibereno em uma população F<sub>2</sub> do cruzamento interespecífico entre *Solanum lycopersicum* x *S. habrochaites* var. *hirsutum* 'PI-127826' apresentaram níveis de resistência ao inseto-praga, superiores ao tomateiro comercial, com baixo teor de zingibereno. Gonçalves et al. (2006) quantificaram os teores de zingibereno em populações F<sub>2</sub>RC<sub>2</sub>, provenientes do cruzamento *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* var. *hirsutum*, e verificaram a relação entre teores de zingibereno, a densidade de tricomas glandulares e a repelência ao ácaro vermelho *Tetranychus evansi*. Os autores observaram que a seleção para alto teor foliar de zingibereno pode promover aumentos correlacionados no número de tricomas glandulares e na repelência ao ácaro. Silva et al. (2009) avaliando híbridos de tomateiro resultantes do cruzamento de linhagens ricas em zingibereno x linhagens ricas em acilaçúcares, encontraram níveis de resistência à mosca-branca, nos híbridos duplo heterozigotos simultaneamente para zingibereno e acilaçúcares, superiores ao das testemunhas comerciais, mas inferiores aos das linhagens com alto zingibereno ou com alto acilaçúcares. Os genótipos duplo heterozigotos apresentaram, em relação ao ácaro-rajado maior repelência do que as testemunhas comerciais suscetíveis, e repelência semelhante à das linhagens com alto zingibereno ou com alto acilaçúcares.

Linhagens de tomateiro com baixos e altos teores foliares de acilaçúcares e zingibereno, de forma isolada ou simultânea, e portadoras ou não do gene *Mi* (que confere resistência a nematoide) foram comparadas quanto ao nível de resistência à mosca branca *B. tabaci* biótipo B e ao ácaro rajado *T. urticae*. Em geral, as linhagens com os dois aleloquímicos manifestaram maiores níveis de resistência à mosca branca, pelo mecanismo de não-preferência, em relação às linhagens com apenas um dos aleloquímicos, demonstrando efeito sinérgico entre os acilaçúcares e o zingibereno para a resistência, quando combinados em uma mesma linhagem. As linhagens portadoras do gene *Mi* apresentaram maiores níveis de resistência à mosca branca quando comparadas às linhagens com baixos teores dos aleloquímicos não portadoras do gene *Mi*, porém esta resistência foi de menor nível em relação às linhagens com altos teores de acilaçúcares ou zingibereno. Para o ácaro rajado, também houve efeito sinérgico entre os dois aleloquímicos, porém não se observou efeito do gene *Mi* na resistência (Oliveira, 2015).

No trabalho realizado por Oliveira (2016), os genótipos de tomateiro portadores de acilaçúcares e zingibereno, ou do gene *Mi*, garantiram em média, um aumento na resistência a geminivírus, transmitido pela mosca branca. Linhagens homozigotas para o alelo *Mi* ligado em associação ao alelo *Ty-1* (que confere resistência parcial a geminivírus) apresentaram maior resistência a geminivírus e foram mais efetivas do que os genótipos portadores dos mesmos genes atuando isoladamente. Os híbridos portadores dos genes *Mi* e *Ty-1*, em heterozigose, foram menos resistentes do que as linhagens homozigotas, porém mais resistentes dos que os genótipos suscetíveis. De maneira geral, a presença dos aleloquímicos testados e/ou do gene *Mi* reduziram os sintomas de geminivírus em razão da diminuição da infestação do inseto-vetor.

Os aleloquímicos 2-tridecanona e 2-undecanona, presentes, principalmente, nos tricomas glandulares tipo VI do acesso selvagem *S. habrochaites* var. *glabratum*, são considerados os principais fatores de resistência a insetos-pragas presentes na espécie (WILLIAMS et al., 1980; GONÇALVES et al., 1998). Segundo Labory et al. (1999), a seleção de plantas com alto teor de 2-tridecanona constitui um efetivo critério de seleção indireta de plantas resistentes à traça-do-tomateiro. Maluf et al. (2007) concluíram que a seleção para altas densidades de tricomas glandulares, derivado do acesso *S. habrochaites* var. *glabratum* PI-134417, pode ser uma eficiente ferramenta, visando a repelência ao *Tetranychus urticae*.

Oliveira et al. (2012) encontraram genótipos de tomateiro ricos nos aleloquímicos acilaçúcares, zingibereno e 2-tridecanona e selecionados para maiores densidades de tricomas glandulares (presumivelmente com maiores níveis de 2-tridecanona), com níveis de resistência à traça-do-tomateiro superiores às testemunhas suscetíveis, com baixos teores de aleloquímicos. Neiva et al. (2013), avaliando linhagens avançadas de tomateiro, encontraram TOM-622 (rica em 2-tridecanona), ZGB-703 (rica em zingibereno) e TOM-687 (rica em acilaçúcares) com níveis de resistência à mosca-branca bem superiores aos controles, com baixos teores destes aleloquímicos (TOM-584 e TOM-679). Silva et al. (2013) avaliando a resistência ao *Myzus persicae* de genótipos de tomateiro com altos teores de acilaçúcares, zingibereno e 2-tridecanona encontraram linhagens ricas em acilaçúcares e linhagens ricas em 2-tridecanona apresentando resistência do tipo antibiose ao pulgão.

## 2.6 O tomateiro *Solanum galapagense* e a resistência a artrópodes

A espécie *Solanum galapagense* tem origem nas Ilhas Galápagos, uma região vulcânica situada a cerca de 1000 km da costa oeste da América do Sul, na república do Equador. É encontrada com maior frequência nas ilhas ocidentais e do sul, ocorrendo principalmente na área costeira, e ocasionalmente no interior das ilhas, como em Isabela e Fernandina (DARWIN; KNAPP; PERALTA, 2003).

Os tomates desta espécie possuem características bastante peculiares, como o forte aroma cítrico, o porte baixo que se deve principalmente à distância curta entre os entrenós, a dormência de sementes, a presença de folhas com bordos mais recortados e alta densidade de tricomas nas hastes e nas folhas. Os frutos são pequenos, com 0,6 a 1,1 cm de diâmetro, aproximadamente, dois lóculos e coloração alaranjada quando maduros. Acredita-se que a dormência de sementes esteja presente como parte do mecanismo evolutivo, pois esta só seria quebrada após passar pelo trato digestivo de jabutis endêmicos das Ilhas Galápagos, o que possivelmente contribuiu como o principal meio de propagação dessa espécie de tomateiro. (RICK; BOWMAN, 1961; DARWIN; KNAPP; PERALTA, 2003).

Importantes características têm sido relatadas em *S. galapagense* que são de interesse dos programas de melhoramento do tomateiro cultivado como a resistência a insetos-praga, como a mosca branca *Bemisia* spp., a mosca minadora *Liriomyza trifolii* e a lagarta *Helicoverpa armigera* (JOUY; BORDAT; BESSIÈRE, 1992; SIMMONS; GURR, 2005; FIRDAUS et al., 2012; LUCATTI et al., 2013; ANDRADE, 2015; SILVA et al., 2016), tolerância à salinidade (o que permite o desenvolvimento de cultivares que se adaptam bem em solos salinos) (RUSH; EPSTEIN, 1981) e altos teores de sólidos solúveis (GARVEY; HEWITT, 1991).

Com o intuito de identificar, na espécie *S. galapagense*, QTLs para resistência à mosca branca e características relacionadas a essa resistência, Firdaus et al. (2013) avaliaram uma população segregante proveniente do cruzamento entre o tomate cultivado e um acesso de *S. galapagense*. Um QTL de efeito maior (Wf-1) foi encontrado no cromossomo 2 e explicou 51,4% da variação na sobrevivência de adultos e 81,5% da ocorrência de tricomas do tipo IV. Encontraram também um QTL de menor efeito (Wf-2) no cromossomo 9. Os autores propõem uma associação da resistência à mosca branca em *S. galapagense* com tricomas tipo IV. Também, sugerem que a resistência à mosca branca presente em *S. galapagense* possui herança relativamente simples favorecendo seu uso em programas de melhoramento.

Andrade (2015) avaliou uma população segregante derivada do cruzamento entre o tomate cultivado e o acesso LA1401 de *S. galapagense*. A pesquisadora identificou QTL's associados com a presença e densidade de tricomas glandulares tipo IV, um de efeito maior (gal. IV-2) no cromossomo 2, responsável por 35,2% da variação fenotípica e outro de efeito menor (gal. IV-3) no cromossomo 3. Conjuntamente, os dois QTL's foram capazes de explicar 53,68% da variação obtida relativa à densidade de tricomas tipo IV. A autora sugere que a herança do tricoma tipo IV é relativamente simples e o QTL gal.IV-2 é o principal responsável pela presença destes tricomas em *S. galapagense*. Andrade et al. (2017) estudaram a herança da densidade de tricomas glandulares tipo IV e a sua associação com a resistência à mosca branca *B. tabaci* em populações derivadas do cruzamento interespecífico *Solanum lycopersicum* x *Solanum galapagense* 'LA1401'. Altas estimativas para herdabilidade da densidade de tricomas tipo IV sugerem que a herança desse caráter não é complexa. Plantas da população F<sub>2</sub> selecionadas para alta densidade de tricomas tipo IV apresentaram níveis semelhantes de resistência à mosca branca que aqueles encontrados no doador da resistência, o acesso LA1401.

## REFERÊNCIAS

- ABCSEM - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. **Tomate lidera crescimento e lucratividade no setor de hortaliças**. 2010. Available in: <<http://www.abcsem.com.br/noticia.php?cod=284>>. Acessado: 18 Abril de 2017.
- AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2017. 432 p.
- ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2013. 457 p.
- ANDRADE, M. C. **Genetic control of glandular trichome densities and their association with whitefly resistance from *Solanum galapagense* accession LA1401**. 2015. 96 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- ANDRADE, M. C. et al. Inheritance of type IV glandular trichome density and its association with whitefly resistance from *Solanum galapagense* accession LA1401. **Euphytica**, Dordrecht, v. 213, n. 52, p. 1-12, Feb. 2017.
- BAI, Y; LINDHOUT, P. Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future? **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, n. 5, p. 1085-1094, Nov. 2007.
- BAIER, J. E. et al. Indirect selection of industrial tomato genotypes resistant to spider mite *Tetranychus urticae*. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 244-252, Jan. 2015.
- BALDIN, E. L. L.; VENDRAMIM, J. D.; LOURENÇÃO, A. L. Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: *Aleyrodidae*). **Neotropical Entomology**, vol. 34, n. 3, p. 435-441, May/June 2005.
- BARBOSA, V.; FRANÇA, F. H. As pragas do tomateiro e seu controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 66, p. 37-40, 1980.
- CARTER, C. D.; SACALIS, J. N.; GIANFAGNA, T. J. Resistance to Colorado Potato Beetle in relation to zingiberene content of *Lycopersicum* species. **Report of Tomato Genetics Cooperative**, New York, v. 38, n. 1, p. 11-12, Sept. 1988.
- CARVALHO, J. L.; PAGLIUCA, L. G. Tomate: um mercado que não pára de crescer globalmente. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v. 6, n. 58, p. 4-36, Jun. 2007.
- CARVALHO, J. R. et al. Seletividade de fungicidas utilizados na cultura do tomateiro (*Lycopersicum esculentum*, Mill.) a *Trichogramma pretiosum*. **Nucleus**, Ituverava, v. 9, n. 2, p. 177-185, Out. 2012.
- COSTA, E. M. R. **Relação entre densidade de tricomas foliares e teores de zingibereno e de acilaçúcares em tomateiros resistentes a pragas**. 2013. 69 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.



DARWIN, S. C.; KNAPP, S.; PERALTA, I. E. Taxonomy of tomatoes in the Galápagos Islands: native and introduced species of *Solanum* section *Lycopersicon* (Solanaceae). **Systematics and Biodiversity**, Cambridge, v. 1, n. 1, p. 29-53, May 2003.

DIAS, D. M. et al. Selection of processing tomato genotypes with high acylsugar content that are resistant to the tomato pinworm. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 381-389, Feb. 2013.

DIEZ, M. J., NUEZ, F. Tomato. In: PROHENS, J.; NUEZ, F. (Eds.), **Vegetables II: Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae, and Solanaceae**. Springer, New York, p. 249–326, 2008.

FERNANDES, O. A.; CARDOSO A. M.; MARTINELLI, S. **Manejo integrado de pragas do tomate: Manual de reconhecimento das pragas e táticas de controle**. 2 edição. Jaboticabal, FUNEP, 2010. 39 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa, MG: UFV. 2008. 421 p.

FIRDAUS, S. et al. Resistance to *Bemisia tabaci* in tomato wild relatives. **Euphytica**, Dordrecht, v. 187, n. 1, p. 31–45, Sept. 2012.

FIRDAUS, S. et al. Identification and QTL mapping of whitefly resistance components in *Solanum galapagense*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 126, n. 6, p. 1487-1501, June 2013.

FLECHTMANN. C. H. W.; BAKER, E. W. A Preliminary report on the Trenchidae (Acarina) of Brazil. **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 63, n. 1, p. 153-163, Jan. 1970.

FLECHTMANN. C. H. W. **Ácaros de importância agrícola**. 6 Ed. SP: Nobel, 1989. 189 p.

FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. Cultura do tomate. In: FONTES P. C. R. (Eds) **Olericultura: Teoria e Prática**. Viçosa: UFV, 2005. p. 457-475.

FRANCIS, D. M. et al. Resistance to bacterial canker in tomato (*Lycopersicon hirsutum* LA407) and its progeny derived from crosses to *L. esculentum*. **Plant Disease**, v. 85, n. 11, p. 1171-1176, Nov. 2001.

FREITAS, J. A. et al. Métodos para quantificação do zingibereno em tomateiro, visando à seleção indireta de plantas resistentes aos Artrópodes-praga. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 4, p. 943-949, 2000.

FREITAS, J. A. et al. Inheritance of foliar zingiberene contents and their relationship to trichome densities and whitefly resistance in tomatoes. **Euphytica**, Dordrecht, v. 127, n. 2, p. 275-287, Sept. 2002.

GARVEY, T. C.; HEWITT, J. D. Starch and sugar accumulation in two accessions of *Lycopersicon cheesmanii*. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 116, n. 1, p. 77-79, Jan. 1991.

GERSON, U. W. In: HELLEW, W.; SABELIS M. W. (Eds) **Spider mites: their biology, natural enemies and control**. World Crop Pests, Elsevier, Amsterdam, p. 223-232, 1985.

GOFFREDA, J. C. 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. 2137-2147, July 1989.

GONÇALVES, M. I. F. et al. Variation of 2-tridecanone level in tomato plant leaflets and resistance to two mite species (*Tetranychus* sp.). **Euphytica**, Dordrecht, v. 104, n. 1, p. 33-38, Feb. 1998.

GONÇALVES, L. D. **Herança do teor de acilaçúcares em genótipos de tomateiro e sua relação com tricomas foliares e repelência ao ácaro *Tetranychus evansi***. 2006. 85p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

GONÇALVES, L. D. et al. Relação entre zingibereno, tricomas foliares e repelência de tomateiros a *Tetranychus evansi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 267-273, Fev. 2006.

GONCALVES, L. D. et al. Herança de acilaçúcares em genótipos de tomateiro provenientes de cruzamento interespecífico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.5, p. 699-705, Maio 2007.

GRAVINA, C. S. **Produção e incidência de insetos-pragas em tomateiro orgânico sob diferentes sistemas e níveis de irrigação**. 2010. 109 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

HAJI, F.N.P. et al. 2004. Manejo da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B na cultura do tomate. p. 87-110. In: HAJI, F. N. P.; BLEICHER, E. (Eds), **Avanços no manejo da mosca branca Bemisia tabaci biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae)**. Petrolina, Embrapa Semi-árido, 186 p.

JEPPSON, L. R.; KEIFER, H. H.; BACKER, E. W. **Mites injurious to economic plants**. Berkeley: University of California Press, 1975. 614 p.

JOUY, N.; BORDAT, D.; BESSIÈRE, J. M. Identification of 2,3,4-tri-O-acyl)-a-D-glucopyranosil-(3-O-acyl)-b-D-fructofuranoside), responsible for high level of leafminer resistance in *Lycopersicon cheesmanii*. **Report of the Tomato Genetics Cooperative**, Ithaca, v. 42, p. 22, June 1992.

JUVIK, J. A. et al. Acylglucose from wild tomato alters behavior and reduce growth and survival of *Helicoverpa zea* and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 87, n. 2, p. 482-492, Apr. 1994.

- KEBEDE, H.; MATIN, N.; NIENHUSIS, J.; KING, G. Leaf anatomy of two *Lycopersicum* species with contrasting gas exchange properties. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 1, p. 108-113, 1994.
- KNAPP, S. et al. Solanaceae - a model for linking genomics with biodiversity. **Comparative and Functional Genomics**, Chichester, v. 5, p. 285-291, 2004.
- LABORY, C. R. G. et al. Seleção indireta para teor de 2-tridecanona em tomateiros segregantes e sua relação com a resistência à traça do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 733-740, Maio 1999.
- LUCATTI, A. F. et al. Differences in insect resistance between tomato species endemic to the Galapagos Islands. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 13, n. 1, p. 175, Aug. 2013.
- LUCATTI, A. F. et al. Normal adult survival but reduced *Bemisia tabaci* oviposition rate on tomato lines carrying an introgression from *S. habrochaites*. **BMC Genetics**, London, v. 15, n. 1, p. 142, Dec. 2014.
- LUCINI, T. et al. Acylsugar and the role of trichomes in tomato genotypes resistance to *Tetranychus urticae*. **Arthropod-Plant Interactions**, Dordrecht, v. 9, n. 1, p. 45-53, Feb. 2015.
- LUCKWILL, L.C. **The genus *Lycopersicon***: an historical, biological, and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes. Aberdeen: Aberdeen University Press, 1943. 44 p.
- MACIEL, G. M. **Broad spectrum arthropod resistance mediated by leaf acylsugar contents in tomatoes**. 2008. 34 p. (Dissertação de mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, 2008.
- MACIEL, G.M. et al. Híbridos pré-comerciais resistentes a *Tuta absoluta* obtidos de linhagem de tomateiro rica em acilaçúcares. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.29, n. 2, p.151-156, Abr./Jun. 2011.
- MALUF, W. R.; CAMPOS, G. A.; CARDOSO, M. G. Relationships between trichome types and spider mite (*Tetranychus evansi*) repellence in tomatoes with respect to foliar zingiberene contents. **Euphytica**, Dordrecht, v. 121, n. 1, p. 73-80, Apr. 2001.
- MALUF, W. R. et al. Higher glandular trichome density in tomato leaflets and repellence to spider mites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 9, p. 1227-1235, Set. 2007.
- MALUF, W. R. et al. Broad-spectrum arthropod resistance in hybrids between high- and low-acylsugar tomato lines. **Crop Science**, Madison, v. 50, p. 439-450, Mar./Apr.2010.
- MARCHESE, A. **Resistência à mosca-branca e ao ácaro-rajado mediada por acilaçúcares e pelo gene *Mi* em tomateiro**. 2013. (Tese de doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, 2013.
- MARTIN, G. B. et al. Map-based cloning of protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. **Science**, New York, v. 262, p. 1432-1436, Nov. 1993.

MELO, P. C. T.; VILELA, J. V.; BOITEUX, L. S. Setor agroindustrial de tomate no Brasil: ameaças e perspectivas. **Revista Campo & Negócios HF**, Uberlândia, v. 66, p. 16-20, Nov. 2010.

MOMOTAZ, A.; SCOTT, J. W.; SCHUSTER, D. J. Identification of quantitative trait loci conferring resistance to *Bemisia tabaci* in an F2 population of *Solanum lycopersicum* × *Solanum habrochaites* accession LA1777. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 135, n. 2, p. 134-142, Mar. 2010.

MORAES, G. J.; LEITE FILHO, A. S. Aspectos biológicos do ácaro vermelho do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 3, p. 309-311, Mar. 1981.

MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto, Holos Editora, 308 p. 2008.

MUIGAI, S. G. et al. Greenhouse and field screening of wild *Lycopersicon* germplasm for resistance to the whitefly *Bemisia Argentifolii*. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 31, n. 1, p. 27-38, Feb. 2003.

NEIVA, I. P. et al. Role of allelochemicals and trichome density in the resistance of tomato to whitefly. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 37, n. 1, p. 61-67, Jan./Fev. 2013.

NICK, C.; SILVA, D. J. H. Melhoramento de Tomate. In: NICK, C.; BORÉM, A. (org.) **Melhoramento de Hortaliças**. Viçosa: Editora UFV, p. 396-431, 2016.

OLIVEIRA, C. M. et al. Resistance of tomato strains to the moth *Tuta absoluta* imparted by allelochemicals and trichome density. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 1, p. 45-52, Jan./Fev. 2012.

OLIVEIRA, C. M. **Efeito do gene *Mi* e dos altos teores foliares de acilaçúcares e de zingibereno na resistência do tomateiro a artrópodespraga**. 2015. 66 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

OLIVEIRA, A. M. S. **Resistência de tomateiros a geminivírus e a estresse hídrico**. 2016. 83 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

PERALTA, I. E.; KNAPP, S.; SPOONER, D. M. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from northern Peru. **Systematic Botany**, Kent, v. 30, n. 2, p. 424-434, Apr./Jun. 2005.

PERALTA, I. E.; KNAPP, S.; SPOONER, D. M. Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. **Report of the Tomato Genetics Coopertative**, New York, v. 56, p. 5-12, Sept. 2006.

PERALTA, I. E.; SPOONER, D. M. **Morphological characterization and relationships of wild tomatoes (*Solanum* L. Section *Lycopersicon*)**. Missouri: Missouri Botanical Garden, 2005. Cap. 10. p. 227-257. (Monographs in Systematic Botany, 104).

- PEREIRA, G. V. N. et al. Seleção para alto teor de acilaçúcares em genótipos de tomateiro e sua relação com a resistência ao ácaro vermelho (*Tetranychus evansi*) e a traça (*Tuta absoluta*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 996-1004, Maio/Jun. 2008.
- PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: VILLELA, M. A. L. **É veneno ou é remédio**: agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 21-41.
- PIZZAMIGLIO, M. A. Ecologia das interações inseto/planta. In: PANNIZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. cap. 4, p. 101-123.
- PRATISSOLI, D. et al. Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato in the Espírito Santo state. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 101-105, Jan./Mar. 2015.
- RESENDE, J. T. V. et al. Inheritance of acylsugar contents in tomatoes derived from an interspecific cross with the wild tomato *Lycopersicon pennellii* and their effect on spider mite repellence. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 2, p. 106-116, Jun. 2002.
- RESENDE, J.T.V. et al. Acylsugars in tomato leaflets confer resistance to the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta* Meyr. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n.1, Jan./Fev. 2006
- RESENDE, J.T.V. et al. Resistance of tomato genotypes with high level of acylsugars to *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 1, p. 31-35, Jan./Fev. 2008.
- RESENDE, J. T. V. et al. Resistance of tomato genotypes to the silverleaf whitefly mediated by acylsugars. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 345-348, Jul./Set. 2009.
- RICK, C. M.; BOWMAN, R. I. Galápagos tomatoes and tortoises. **Evolution**, Lancaster, v. 15, n. 4, p. 407-417, Dec. 1961.
- RODRÍGUEZ-LÓPEZ, M. J. et al. Whitefly resistance traits derived from the wild tomato *Solanum pimpinellifolium* affect the preference and feeding behavior of *Bemisia tabaci* and reduce the spread of Tomato yellow leaf curl virus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 101, n. 10, p.1191-1201, Oct. 2011.
- ROSSI, M. et al. The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 95, p. 9750-9754, Aug. 1998.
- RUSH, D. W.; EPSTEIN, E. Breeding and selection for salt tolerance by the incorporation of wild germoplasm into domestic tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 106, n. 6, p. 699-704, 1981.
- SEGUÍ SIMARRO, J. M. et al. Angrogenesis in recalcitrante solanaceous crops. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 30, p. 765-778, 2011.

- SILVA, A. A. **Resistência de genótipos de tomateiro com teores foliares contrastantes de aleloquímicos a *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) e a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae)**. 2012. 83 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- SILVA, A. A. et al. Resistência a *Myzus persicae* em genótipos de tomateiro com altos teores foliares de aleloquímicos. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 2, p. 173-179, Abr./Jun. 2013.
- SILVA A. A. et al. Resistência à *Helicoverpa armigera* em genótipos de tomateiro obtidos do cruzamento de *Solanum lycopersicum* com *Solanum galapagense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n.7, p. 801-808, Jul. 2016.
- SILVA, A.C.; CARVALHO, G. A. Manejo integrado de pragas, p. 309-366. In Alvarenga, M.A.R. (ed.), **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. Lavras, UFLA, 2004. 400 p.
- SILVA, V. F. et al. Resistência mediada por aleloquímicos de genótipos de tomateiro à mosca-branca e ao ácaro-rajado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1262-1269, Set. 2009.
- SIMMONS, A. T.; GURR, G. M. Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. **Agricultural and Forest Entomology**, St Albans, v. 7, n. 4, p. 265-276, Nov. 2005.
- WEESE, T. L.; BOHS, L. A three-gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). **Systematic Botany**, Kent, v. 32, n. 2, p. 445-463, Apr. 2007.
- WESTON, P. A. et al. Trichome secretion composition, trichome densities and spider mite resistance of ten accessions of *Lycopersicum hirsutum*. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 114, n. 3, p. 492-498, 1989.
- WILLIAMS, W. G. et al. 2-tridecanone a naturally occurring insecticide from the wild tomato *Lycopersicum hirsutum* f. *glabratum*. **Science**, Washington, v. 207, n. 22, p. 888-889, Feb. 1980.

**SEGUNDA PARTE: ARTIGOS**

**ARTIGO 1: Repellence to two-spotted spider mite in tomato genotypes obtained from an interspecific cross between *Solanum lycopersicum* x *Solanum galapagense***

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the repellence to two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* in tomato genotypes as function of the presence of glandular trichomes. Genotypes were obtained from interspecific cross between *Solanum lycopersicum* TOM-684 x *S. galapagense* accession LA1401. Trichome densities were estimated from a random sample of plants from the F<sub>2</sub> (TOM-684 x LA1401) population. Genotypes were selected with high and low densities of type IV glandular trichomes. A trial was set up in a completely randomized design with three replications for each of the thirty clones (15 with high and 15 with low type IV trichome densities) and checks (TOM-684, LA1401 and Santa Clara). Mite repellence was measured by distances walked by spider mites onto the tomato leaf surface, after 20, 40 and 60 minutes. The fifteen experimental clones with high density of type IV trichomes and the accession LA1401 showed lower distances walked by the mites onto the tomato leaf surface. These results suggest that indirect selection for high type IV glandular trichome density can be effective to obtain tomato genotypes with higher resistance (repellence) to spider mites.

**Keywords:** plant breeding, glandular trichomes, indirect selection, *Tetranychus urticae*, arthropod pest resistance.



## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a repelência ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* em genótipos de tomateiro em função da presença de tricomas glandulares. Os genótipos foram obtidos a partir do cruzamento interespecífico entre *Solanum lycopersicum* TOM-684 x *S. galapagense* acesso LA1401. A densidade de tricomas foi estimada em uma amostra aleatória de plantas obtidas a partir da população F<sub>2</sub> (TOM-684 x LA1401). Genótipos com alta e baixa densidade de tricomas glandulares tipo IV foram selecionados. O delineamento foi inteiramente casualizado com três repetições para cada um dos trinta clones (15 com alta e 15 com baixa densidade de tricomas tipo IV) e testemunhas (TOM-684, LA1401 e Santa Clara). A repelência aos ácaros foi medida por distâncias percorridas pelos ácaros na superfície do folíolo do tomateiro após 20, 40 e 60 minutos. Os quinze clones experimentais com alta densidade de tricomas tipo IV e o acesso LA1401 mostraram distâncias menores percorridas pelos ácaros na superfície do folíolo do tomateiro. Estes resultados sugerem que a seleção indireta para alta densidade de tricomas glandulares tipo IV pode ser eficaz para obter genótipos com maior resistência (repelência) aos ácaros.

**Palavras-chave:** melhoramento de plantas, tricomas glandulares, seleção indireta, *Tetranychus urticae*, resistência a artrópodes-praga.

## 1 INTRODUCTION

Two-spotted spider mites *Tetranychus urticae*, in high infestation and under favorable environmental conditions, may cause direct damages to the tomato crop, such as dry of leaves and defoliation, reduction in size and number of fruit, besides inducing early maturation (ALBA et al., 2009; SALINAS et al., 2013; LUCINI et al., 2015; 2016).

The resistance levels of current tomato cultivars to arthropod pests, including spider mites, are not high enough to allow for significant reduction in the number of applications of chemical pesticides. Therefore, the development of tomato genotypes with high resistance levels is an important strategy in the integrated pest management (MALUF et al., 2007; SAEIDI et al., 2012; LUCATTI et al., 2014; BAIER et al., 2015).

Tomato pest resistance sources related to the presence of high densities of glandular trichomes and production of allelochemicals by plants have been identified in some wild accessions of *Solanum* section *Lycopersicon* (MALUF et al., 2007, 2010; RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2011; SILVA et al., 2013; LUCINI et al., 2015; DIAS et al., 2016). Among the accessions with resistance are the wild species *S. galapagense* (FIRDAUS et al., 2013; LUCATTI et al., 2013; LUCINI et al., 2015) and *S. pennellii* (MACIEL et al., 2011; FIRDAUS et al., 2012; LUCATTI et al., 2014).

Recent studies have shown that some of *Solanum galapagense* accessions present high levels of resistance to the whitefly *Bemisia tabaci*, the aphid *Myzus persicae* and the caterpillar *Helicoverpa armigera*, among others (FIRDAUS et al., 2012; 2013; LUCATTI et al., 2013; 2014; ANDRADE, 2015; SILVA et al., 2016). Breeding programs have therefore been established aimed at introgressing arthropod pest resistance into the cultivated tomato, making use of indirect selection techniques based on high density of glandular trichomes and/or high levels of allelochemicals (GOFFREDA et al., 1989; MUIGAI et al., 2003; SIMMONS; GURR, 2005; ANDRADE, 2015).

The aim of this work was to evaluate the repellence to spider mites *Tetranychus urticae*, in tomato genotypes derived from the interspecific cross *Solanum lycopersicum* x *Solanum galapagense* LA1401 and the possible association of resistance with type IV glandular trichome density.

## 2 MATERIAL AND METHODS

The experiments were carried out at the Universidade Federal de Lavras – UFLA, in Lavras, State of Minas Gerais, Brazil (21°14'43" south, 45°59'59" west, altitude 919 meters) and at the Hortiagro Sementes S.A. seed company, Palmital Farm, in Ijaci, State of Minas Gerais, Brazil (21°14'16" south, 45° 08'00" west, altitude 918 meters).

An F<sub>2</sub> population was obtained from the interspecific cross TOM-684 x LA1401. TOM-684 is a fresh-market inbred line of *Solanum lycopersicum*, with low type IV glandular trichome density, low levels of acylsugars and susceptible to arthropod-pests. LA1401 is an accession of *Solanum galapagense*, resistant to arthropod-pests, with high levels of type IV glandular trichome and high levels of acylsugar (JOUY; BORDAT; BESSIERE, 1992; LUCATTI et al., 2013; ANDRADE, 2015)

Two months after transplanting, identification and quantification of trichomes types were performed at the Plant Anatomy laboratory, UFLA, on a random sample of 145 plants from the F<sub>2</sub> population, 10 plants from each parental line (TOM-684 and LA1401) and 10 plants from 'Santa Clara', a pest susceptible cultivar with low density of glandular trichomes and low acylsugar contents.

For analysis of trichome density, the fully-expanded fourth apical leaf from each plant was stored and kept in 70% ethanol. Paradermal cuts were made from abaxial and adaxial surfaces, cleared in 50% sodium hypochlorite and washed in water. After staining with 0.1% safranin, semi-permanent slides were prepared in glycerinated water. Slides were photographed in a 10x optical microscope (Carl Zeiss, model AXIL1) with an attached camera (AxionCam ERc5s), in three different fields, in order to count the number of trichomes per square millimeter leaf area of each epidermal surface. The photomicrographs were analyzed using the Image Tool v. 3.00 software (WILCOX et al., 2002) and the classification of trichomes was performed based on the presence or absence of glands at the apical end, length and type of glands (LUCKWILL, 1943). Non-glandular trichomes (types II, III, V) were counted together in a single class, as well as glandular trichomes of types I, VI and VII. Type IV trichomes, the glandular types more frequently found, were counted separately.

After this assessment, thirty F<sub>2</sub> individuals were selected based on the density of glandular trichomes: fifteen with high densities of type IV ( $\geq 11$  per mm<sup>2</sup>) glandular trichomes and fifteen with low densities ( $= 0$  per mm<sup>2</sup>) of glandular trichomes. These genotypes, designated as BPX-486-XX (XX = plant I.D. number) were cloned via rooting of axillary shoot cuttings and kept on 72-cell styrofoam speedling trays with commercial potting mix, in

a plastic-covered greenhouse at Hortiagro Sementes S.A. Research Station. After rooting, seedlings were transplanted to polyethylene pots with 500 mL capacity, and used in bioassays with *Tetranychus urticae*. Plants of TOM-684, LA1401 and Santa Clara were used as checks.

The test of repellency to *Tetranychus urticae* was quantified by the bioassay proposed by Weston and Snyder (1990). The 30 clones, plus plants from the check treatments, were set up in a completely randomized design with three replications (plants) per treatment. Fully expanded leaflets were collected from the upper third portion of each plant to be tested. Female spider mites *Tetranychus urticae* were obtained from infested soybean *Glycine max* plants, available at the Hortiagro Sementes S.A. and identified as such by Acarology Laboratory of EPAMIG, in Lavras, Brazil.

The bioassay was performed in a chamber at a temperature of  $16 \pm 1$  ° C and relative humidity of  $64 \pm 4\%$ . One leaflet of each plant was nailed with a metallic thumbtack, onto a sheet of A4 printing paper placed onto a styrofoam sheet. Ten females of *Tetranychus urticae* mites were placed on each thumbtack, with help of a thin brush. The distances traveled by mites, in millimeters, onto the leaf surface were recorded after 20, 40 and 60 minutes. Mites found outside the limits of the leaflet were considered to have traveled as much as the mite found farther from the edge of the thumbtack. Mites that remained onto the thumbtack, after the period considered, had their traveled distances recorded as zero. Lower distances traveled by mites are considered indicative of higher levels of repellency (WESTON; SNYDER, 1990).

Data were previously transformed to  $(x + 0.5)^{1/2}$  when necessary to comply with prerequisites of analysis of variance (ANOVA). The data were submitted to ANOVA and means compared by Scott Knott test ( $\alpha=0.05$ ). Pearson's correlation analysis was used to identify correlation between type and density of trichomes with *Tetranychus urticae* movement after 20, 40 and 60 minutes. Contrasts were calculated to characterize the possible differences in arthropod pest resistance levels as function of the presence or absence of type IV glandular trichomes. Experimental precision was checked according to Resende and Duarte (2007). All analyses were performed in R 3.2.3 (R CORE TEAM, 2015).

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

Based on type IV glandular trichome density, thirty plants were selected from the population BPX-486: fifteen plants with high density and fifteen plants with low density (Table 1). These plants were cloned (via rooting of axillary shoot cuttings) and tested with the mite repellence thumbtack assay. The test accuracy (RESENDE; DUARTE, 2007) indicated good experimental reliability of the data used (Table 1).

Among the genotypes under study, type IV trichome was the most frequent glandular trichome found in the abaxial surface (Table 1). Types I+VI+VII glandular trichomes occurred at very low or null densities (Table 1). The wild accession *S. galapagense* ‘LA1401’ had high density of type IV glandular trichome, as also found by other authors (FIRDAUS et al., 2012; LUCATTI et al., 2013). The arthropod susceptible lines ‘TOM-684’ and ‘Santa Clara’ had null density of type IV glandular trichome. Types II+III+V non-glandular trichomes varied widely in density among the genotypes, of which the accession LA1401 had the lowest density, in both abaxial and adaxial surfaces. TOM-684 and Santa Clara showed high densities of non-glandular trichomes. F<sub>2</sub> clones selected for null density of type IV glandular trichomes showed high densities of non-glandular trichomes types II+III+V, similar to those of TOM-684 and Santa Clara. In contrast, F<sub>2</sub> genotypes selected for high type IV glandular trichome density and the accession LA1401 presented lower densities of non-glandular trichomes (Table 1).

Type IV glandular trichomes and types II+III+V non-glandular trichomes were negatively correlated (Table 3), in both abaxial and adaxial surfaces, hence the selection of plants with high type IV trichome density resulted in an indirect selection for a low density of types II+III+V trichomes. Non-significant correlations were observed between type I+VI+VII glandular trichomes and non-glandular trichomes on the abaxial surface, but they were negatively correlated on the adaxial surface (Table 3).

The negative correlation between the type IV and non-glandular trichomes was also found by other authors (FIRDAUS et al., 2013; ANDRADE, 2015; SILVA, 2016). Two QTLs associated with type IV glandular trichomes in a segregating population from the cross *S. lycopersicum* x *S. galapagense* LA1401 were detected by Andrade (2015). They were also associated with non-glandular trichomes. According to the author, the identification of the same QTLs for type IV glandular trichomes and non-glandular trichomes, and the negative correlation between these types of trichomes suggest that the loci found may be pleiotropic

for the presence of both trichome types in the plants, suggesting an ontogenetic relationship between them.

Positive correlations were found between type IV glandular trichomes densities found on both sides of leaves ( $r = 0.64$ ), as well as for non-glandular trichomes also on both sides ( $r = 0.66$ ) (Table 3). The former results agree with those reported by Silva (2016) who also assessed trichome density in genotypes derived from the cross *S. lycopersicum* x *S. galapagense* LA1401, and observed a high occurrence of type IV glandular trichomes in both abaxial and adaxial surfaces.

There were significant differences (F test,  $\alpha = 0.05$ ) among genotypes for distances walked by *T. urticae* onto the leaf surface after 20, 40 and 60 minutes (Table 2). Some of the shortest distances traveled by the mites were those presented by LA1401, confirming the highest level of mite repellence of this wild accession. The check lines TOM-684 and Santa Clara showed the longest distances traveled by the mites and can be considered the most susceptible genotypes. All fifteen BPX-486 genotypes for high density of type IV glandular trichomes were more repellent to mites than either the genotypes selected for low density of type IV trichomes or the checks TOM-684 and Santa Clara, especially in relation to mean distances traveled after 40 and 60 minutes (Table 2). A few of these selected genotypes for high type IV trichome density showed repellence levels close to those shown by the wild accession LA1401 (Table 2). In contrast, in the experimental clones selected for low density of type IV trichomes, the distance walked by mites were similar to those found in the susceptible parent TOM-684, and Santa Clara (Table 2). Estimates of contrasts (Table 4) between genotypes with high density of type IV glandular trichomes and those ones with low density indicated significant differences ( $\alpha=0.01$ ) by the F test, in the distances (mm) traveled by the mites either at 20, 40 or 60 minutes. The significance of these contrasts indicated that selection based on higher densities of glandular trichomes effectively increased levels of mite resistance (repellence) in tomato genotypes. Therefore, selection for high glandular trichomes densities may constitute an efficient alternative tool of selection for spider mite repellence.

Considering all genotypes under study, there were significant negative correlations between densities of type IV glandular trichomes and distances traveled by the mites (Table 3). Type IV glandular trichomes density were negatively correlated with *T. urticae* movement, after 20 minutes ( $r = -0.51$ ), 40 minutes ( $r = -0.54$ ) and 60 minutes ( $r = -0.56$ ), on the abaxial leaf surface. Similar negative correlations were found on adaxial surface (Table 3). These results are indicative that this trichome type is associated with the resistance to *T. urticae*, because plants that had higher numbers of type IV trichomes showed lower distance

walked by mites. Negative but otherwise non-significant correlations were also found between types I+VI+VII glandular trichomes and mite movement on the abaxial surface, but they were negatively correlated on the adaxial surface (Table 3). Types II+III+V non-glandular trichomes were positively correlated to mite movement (Table 3), which suggests that their presence is associated to lower levels of repellency. The positive correlations may be a consequence of the negative ontogenetic relation between type IV and non-glandular trichome types suggested by Andrade (2015) and by our results. Thus, we can infer that types II+III+V non-glandular trichomes do not confer resistance to mite.

Several studies have demonstrated the role of allelochemicals in mite resistance (repellence) (RESENDE et al., 2002; ALBA et al., 2009; SAEIDI et al., 2012; SALINAS et al., 2012; ANTONIOUS et al., 2014) as well as in resistance to other tomato pests (FREITAS et al., 2002; NEVES et al., 2003; MALUF et al., 2010; MACIEL et al., 2011; RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2011). One of these allelochemical groups, the acylsugar, is present in *Solanum galapagense* accession LA1401 in high levels, associated with high density of type IV glandular trichomes (FIRDAUS et al., 2012; 2013; LUCATTI et al., 2013). Silva et al. (2016) tested the resistance to the caterpillar *Helicoverpa armigera* of tomato genotypes obtained from the same interspecific cross *S. lycopersicum* ‘TOM-684’ x *S. galapagense* ‘LA1401’: genotypes with high densities of type IV trichomes showed high resistance levels, both via antibiosis and antixenosis, than genotypes with low densities of glandular trichomes.

Neiva (2016) evaluated the resistance to whitefly (*Bemisia tabaci* biotype B) of tomato clones, obtained from the same cross between ‘TOM-684’ (*Solanum lycopersicum*) and ‘LA1401’ (*Solanum galapagense*), as related to the presence of glandular trichomes. Genotypes with high density of type IV glandular trichomes presented higher level of resistance than those with null density of type IV trichomes, both in oviposition and number of nymphs, demonstrating that glandular trichomes may be involved also in the tomato resistance to whiteflies. This result shows that type IV trichomes are effective not only for mites, but also for other pests.

Lucini et al. (2015) evaluated the effect of tomato genotypes derived from interspecific cross between *Solanum pennellii* ‘LA716’ x *S. lycopersicum* on the behavior and biology of *Tetranychus urticae*, and the role of trichomes in this resistance. High density of type IV glandular trichomes was observed on the genotypes rich in acylsugar. The density of glandular trichomes was positively correlated with mite mortality and negatively correlated with attractiveness and oviposition. Baier et al. (2015) selected F<sub>2</sub> plants from the interspecific cross *Solanum pennellii* ‘LA716’ x *Solanum lycopersicum* ‘Redenção’ to assess

resistance to spider mites (*Tetranychus urticae*) based on the leaf acylsugar contents and repellence tests. The results indicated that the genotypes with high acylsugar contents did not differ from the resistant parent 'LA716', in the repellence tests. The negative correlation between acylsugar contents and the distance run by the mite along the leaflet surface confirmed the association between high and low allelochemical contents and resistance. However, Gonçalves (2006) and Costa (2013) did not find any correlation between glandular trichomes and acylsugar accumulation in advanced populations derived from the cross *S. lycopersicum* x *S. pennellii* accession LA716 and selected for high levels of acylsugars. Because these advanced populations were selected directly for acylsugar contents, but not for glandular trichome densities, they suggest that acylsugar may also be present in other parts of the plant, such as the cells of leaf epidermis.

Maluf et al. (2001) assessed the level of resistance to spider mites *Tetranychus evansi* of genotypes derived from an interspecific cross between *L. esculentum* 'TOM-556' and *L. hirsutum* var. *hirsutum* 'PI-127826', a zingiberene-rich accession. Their results indicated that indirect selection for zingiberene contents led to correlated increases both in the number of glandular trichomes (particularly type IV) and in the levels of mite repellence. Silva et al. (2009) assessing tomato hybrids resulting from crosses between high-zingiberene lines and high-acylsugar lines, claimed that double heterozygous hybrids were more repellent to *Tetranychus urticae* than the susceptible commercial checks, and their repellency to mites was similar to those of homozygous high-zingiberene lines or high-acylsugar lines. It shows that other allelochemicals may confer resistance to mites.

Maluf et al. (2007) evaluated the feasibility of selection for higher glandular trichomes density in tomato populations derived from an interspecific cross between *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* var. *glabratum* 'PI-134417', a 2-tridecanone-rich accession. They found a negative and significant correlation, that indicated that high densities of glandular trichomes decreased the distances traveled by the mite on the surface of the tomato leaf.

In the present work, there was evidence that indirect selection to higher densities of glandular trichomes on tomatoes, may be an efficient mechanism for obtaining genotypes with high levels of spider mite resistance. Our study suggests that genotypes from F<sub>2</sub> (*S. lycopersicum* 'TOM-684' x *S. galapagense* 'LA1401') population with high densities of type IV glandular trichomes can be effectively deployed in a breeding program aimed to obtaining commercial genotypes resistant to two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*, probably because of their high foliar acylsugar levels (FIRDAUS et al., 2013; LUCATTI et al., 2013). Also, these genotypes possibly may be effective for other pests. Further studies should be



conducted to confirm the relationship between type IV glandular trichomes, their related molecular markers described by Andrade (2015) and acylsugar contents in advanced populations.

#### **4 CONCLUSIONS**

1. Genotypes derived from the interspecific cross *S. lycopersicum* ‘TOM-684’ x *S. galapagense* ‘LA1401’ with high type IV glandular trichome densities have higher resistance levels to two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* than genotypes with low type IV trichome densities.
2. Selection for higher densities of glandular trichomes in population derived from cross with *S. galapagense* will be effective for selection towards *T. urticae* resistance in tomatoes.

#### **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors wish to thank the following Brazilian institutions that provided support for this research project: CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, UFLA – Universidade Federal de Lavras, FAEPE/UFLA – Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, FUNDECC/UFLA – Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico and Hortiagro Sementes S.A.

## REFERENCES

ALBA J. M.; MONTSERRAT M.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ R. Resistance to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) by acylsucroses of wild tomato (*Solanum pimpinellifolium*) trichomes studied in a recombinant inbred line population. **Exp Appl Acarol**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 35–47, Sep. 2009.

ANDRADE, M. C. **Genetic control of glandular trichome densities and their association with whitefly resistance from *Solanum galapagense* accession LA1401**. 2015. 96 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

ANTONIOUS, G. F.; KAMMINGA, K.; SNYDER, J. C. Wild tomato leaf extracts for spider mite and cowpea aphid control. **Journal of Environmental Science and Health, Part B** v. 49, n. 7, p. 527–531, May 2014.

BAIER, J. E. et al. Indirect selection of industrial tomato genotypes that are resistant to spider mites (*Tetranychus urticae*). **Genetics and Molecular Research**. Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 244-252, Jan. 2015.

COSTA, E. M. R. **Relação entre densidade de tricomas foliares e teores de zingibereno e de acilaçúcares em tomateiros resistentes a pragas**. 2013. 69 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

DIAS, D.M. et al. Acyl sugars and whitefly (*Bemisia tabaci*) resistance in segregating populations of tomato genotypes. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 2, p. 1-11, Apr. 2016.

FIRDAUS, S. et al. Resistance to *Bemisia tabaci* in tomato wild relatives. **Euphytica**, Dordrecht, v. 187, n. 1 p. 31–45, Sept. 2012.

FIRDAUS, S. et al. Identification and QTL mapping of whitefly resistance components in *Solanum galapagense*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 126, n. 6 p. 1487-1501, Jun. 2013.

FREITAS, J. A. et al. Inheritance of foliar zingiberene contents and their relationship to trichome densities and whitefly resistance in tomatoes. **Euphytica**, Dordrecht, v. 127, n. 2, p. 275-287, Sept. 2002.

GONÇALVES, L. D. **Herança do teor de acilaçúcares em genótipos de tomateiro e sua relação com tricomas foliares e repelência ao ácaro *Tetranychus evansi***. 2006. 85p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

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

JOUY, N.; BORDAT, D.; BESSIERE, J. M. Identification of (2,3,4-tri-O-acyl)-a-D-glucopyranosyl-(3-O-acyl)-b-D-fructofuranoside, responsible of the high level of leafminer

resistance in *Lycopersicon cheesmanii*. **Report of the Tomato Genetics Cooperative**, Ithaca, v. 42, p. 22, 1992.

LUCATTI, A. F. et al. Differences in insect resistance between tomato species endemic to the Galapagos Islands. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 13, n. 1, p. 175, Aug. 2013.

LUCATTI, A. F. et al. Normal adult survival but reduced *Bemisia tabaci* oviposition rate on tomato lines carrying an introgression from *S. habrochaites*. **BMC Genetics**, London, v. 15, n. 1, p. 142, Dec. 2014.

LUCINI, T. et al. Acylsugar and the role of trichomes in tomato genotypes resistance to *Tetranychus urticae*. **Arthropod-Plant Interactions**. Dordrecht, v. 9, n. 1, p. 45-53, Feb. 2015.

LUCINI, T. et al. Repellent effects of various cherry tomato accessions on the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 1, p. 1-6, Mar. 2016.

LUCKWILL, L. C. **The genus Lycopersicon**: a historical, biological and taxonomic survey of wild and cultivated tomatoes. Aberdeen: Aberdeen University, 1943. 44 p.

MACIEL, G. M. et al. Híbridos pré-comerciais resistentes a *Tuta absoluta* obtidos de linhagem de tomateiro rica em açúcares. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 151-156, Apr./June 2011.

MALUF W. R. et al. Relationships between trichome types and spider mite (*Tetranychus evansi*) repellence in tomatoes with respect to foliar zingiberene contents. **Euphytica**, Dordrecht, v. 121, n. 1, p. 73–80, Aug. 2001.

MALUF, W. R. et al. Higher glandular trichome density in tomato leaflets and repellence to spider mites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 42, n. 9, p. 1227-1235, Set. 2007.

MALUF, W. R. et al. Broad-spectrum arthropod resistance in hybrids between high- and low-acylsugar tomato lines. **Crop Science**, Madison, v. 50, n. 2, p. 439–450, Mar. 2010.

MUIGAI, S. G. et al. Greenhouse and field screening of wild *Lycopersicon* germplasm for resistance to the whitefly *Bemisia Argentifolii*. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 31, n. 1, p. 27-38, Feb. 2003.

NEIVA I. P. **Resistência à Mosca-Branca em tomateiro mediada por aleloquímicos, por tricomas glandulares e pelo gene *Mi***. 2016. 79 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

NEVES, L. G. et al. Estimativa de parâmetros genéticos e correlação entre componentes de resistência à traça-do-tomateiro em progênies de *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum* f. *glabratum*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 456-458, July 2003.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015.

RESENDE, M.D.V.; DUARTE, J.B. Precisão e controle de qualidade em 476 experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, Set. 2007.

RESENDE, J. T. V. et al. Inheritance of acylsugar contents in tomatoes derived from an interspecific cross with the wild tomato *Lycopersicon pennellii* and their effect on spider mite repellence. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 2, p. 106-116, June 2002.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, M. J. et al. Whitefly resistance traits derived from the wild tomato *Solanum pimpinellifolium* affect the preference and feeding behavior of *Bemisia tabaci* and reduce the spread of Tomato yellow leaf curl virus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 101, n. 10, p. 1191-1201, Oct. 2011.

SAEIDI, Z. et al. Resistance of 14 accessions/cultivars of *Lycopersicon* spp. to two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), in laboratory and greenhouse. **Journal of Entomological Society of Iran**, Tehran, v. 32, n. 1, p. 93-108, 2012.

SALINAS, M. et al. Genetic mapping of two QTL from the wild tomato *Solanum pimpinellifolium* L. controlling resistance against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 126, n. 1, p. 83-92, Jan. 2013.

SILVA, V. F. et al. Resistência mediada por aleloquímicos de genótipos de tomateiro à mosca-branca e ao ácaro-rajado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1262-1269, Sep. 2009.

SILVA A. A. et al. Resistência a *Myzus persicae* em genótipos de tomateiro com altos teores foliares de aleloquímicos. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 2, p.173-179, 2013.

SILVA A. A. et al. Resistência à *Helicoverpa armigera* em genótipos de tomateiro obtidos do cruzamento de *Solanum lycopersicum* com *Solanum galapagense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n.7, p.801-808, Jul. 2016.

SILVA, A. A. **Resistência à *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e a *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) em genótipos de tomateiro obtidos do cruzamento com *Solanum galapagense***. 2016. 77 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

SIMMONS, A. T.; GURR, G. M. Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. **Agricultural and Forest Entomology**, St Albans, v. 7, n. 4, p. 265-276, Nov. 2005.

WESTON, P. A.; SNYDER, J. C. Thumbtack Bioassay: A Quick Method for Measuring Plant Resistance to Twospotted Spider Mites (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 83, n. 2, p. 500-504, 1990.

WILCOX, D. et al. 2002. **Image tool for Windows, version 3.0**. San Antonio: University of Texas Health Science Center in San Antonio, Texas, 2002.

Table 1. Trichome density on tomato genotypes, derived from interspecific cross *S. galapagense* 'LA1401' x *S. Lycopersicum* 'TOM-684'.

Treatments	Trichome density (trichomes/mm <sup>2</sup> )					
	Abaxial surface			Adaxial surface		
	Type IV	Types I+VI+VII	Types II+III+V	Type IV	Types I+VI+VII	Types II+III+V
Clones (Low density of type IV glandular trichomes)						
BPX-486-382	0.0 a	0.0 a	92.3 e	0.0 a	0.3 a	35.0 e
BPX-486-297	0.0 a	0.0 a	56.6 e	0.0 a	0.0 a	21.0 d
BPX-486-383	0.0 a	0.0 a	59.6 e	0.0 a	0.0 a	49.6 f
BPX-486-80	0.0 a	0.0 a	37.0 c	0.0 a	0.0 a	22.3 d
BPX-486-248	0.0 a	0.0 a	73.3 e	0.0 a	0.0 a	26.3 d
BPX-486-278	0.0 a	0.0 a	16.0 b	0.0 a	0.0 a	8.0 b
BPX-486-66	0.0 a	0.0 a	74.3 e	0.0 a	0.0 a	27.3 d
BPX-486-333	0.0 a	0.0 a	67.0 e	0.0 a	0.0 a	29.0 d
BPX-486-158	0.0 a	0.0 a	46.3 d	0.0 a	0.0 a	15.0 c
BPX-486-319	0.0 a	0.0 a	46.0 d	0.0 a	0.3 a	17.3 c
BPX-486-154	0.0 a	0.0 a	70.0 e	0.0 a	0.0 a	20.6 d
BPX-486-337	0.0 a	0.0 a	38.6 d	0.0 a	0.0 a	13.3 c
BPX-486-413	0.0 a	0.0 a	25.6 b	0.0 a	0.0 a	12.0 c
BPX-486-313	0.0 a	0.0 a	44.3 d	0.0 a	0.3 a	13.0 c
BPX-486-201	0.0 a	0.0 a	47.6 d	0.0 a	0.0 a	17.6 c
Clones (High density of type IV glandular trichomes)						
BPX-486-60	36.3 d	0.0 a	0.3 a	9.0 c	0.6 a	7.6 b
BPX-486-199	23.6 c	0.0 a	2.6 a	5.6 c	0.3 a	5.3 b
BPX-486-62	22.3 c	0.0 a	31.0 c	8.0 c	0.3 a	10.0 b

Table 1, continued

Treatments	Trichome density (trichomes/mm <sup>2</sup> )					
	Abaxial surface			Adaxial surface		
	Type IV	Types I+VI+VII	Types II+III+V	Type IV	Types I+VI+VII	Types II+III+V
BPX-486-340	12.6 b	0.0 a	15.6 b	3.3 b	0.3 a	16.6 c
BPX-486-85	11.6 b	0.0 a	28.6 c	3.0 b	0.6 a	16.3 c
BPX-486-08	32.3 d	0.0 a	15.6 b	4.3 c	0.0 a	13.3 c
BPX-486-188	22.6 c	0.3 b	17.3 b	6.6 c	0.0 a	14.3 c
BPX-486-213	11.6 b	0.0 a	11.6 b	2.6 b	1.0 b	9.3 b
BPX-486-269	21.3 c	0.0 a	18.3 b	6.0 c	1.0 b	14.3 c
BPX-486-148	15.6 b	0.3 b	30.3 c	4.3 c	2.0 c	13.3 c
BPX-486-342	17.0 c	0.0 a	6.0 a	5.3 c	0.6 a	9.3 b
BPX-486-328	14.3 b	0.0 a	16.3 b	2.3 b	3.0 c	10.3 b
BPX-486-46	33.3 d	0.0 a	9.3 b	5.0 c	0.0 a	16.3 c
BPX-486-17	43.0 d	0.0 a	2.6 a	8.3 c	0.3 a	16.6 c
BPX-486-10	18.3 c	0.0 a	22.3 b	10.0 c	1.3 b	11.3 c
Checks						
LA1401	29.3 d	0.0 a	1.3 a	25.6 d	0.0 a	1.3 a
TOM-684	0.0 a	0.0 a	74.3 e	0.0 a	0.3 a	34.6 e
Santa Clara	0.0 a	0.0 a	68.6 e	0.0 a	0.0 a	34.6 e
Mean followed by standard error						
Clones (Low density of type IV glandular trichomes)	0.0 (± 0.0)	0.0 (± 0.0)	54.3 (± 3.2)	0.0 (± 0.0)	0.0 (± 0.0)	22.6 (± 1.6)
Clones (High density of type IV glandular trichomes)	22.4 (± 1.7)	0.0 (± 0.0)	15.2 (± 1.7)	5.6 (± 0.6)	0.7 (± 0.1)	12.3 (± 0.7)
Accuracy	0.98	-	0.98	0.96	0.81	0.96

Means followed by the same letter within a column do not differ according to the Scott-Knott test ( $\alpha=0.05$ ).

Table 2. Average distance walked by *Tetranychus urticae* after 20, 40 and 60 minutes on tomato genotypes, derived from interspecific cross *S. galapagense* 'LA1401' x *S. Lycopersicum* 'TOM-684'.

Treatments	Distances (mm) walked by spider mites on leaflet surfaces after		
	20 minutes	40 minutes	60 minutes
Clones (Low density of type IV glandular trichomes)			
BPX-486-382	20.5 b	25.9 c	26.7 c
BPX-486-297	15.2 b	24.1 c	24.7 c
BPX-486-383	17.3 b	22.4 c	22.3 c
BPX-486-80	15.4 b	19.2 c	21.3 c
BPX-486-248	15.5 b	20.9 c	20.5 c
BPX-486-278	14.4 b	19.3 c	20.3 c
BPX-486-66	14.5 b	18.0 c	20.1 c
BPX-486-333	16.7 b	20.3 c	17.7 c
BPX-486-158	15.3 b	16.7 c	17.3 c
BPX-486-319	12.8 b	16.4 c	16.4 c
BPX-486-154	15.8 b	15.8 c	16.1 c
BPX-486-337	15.5 b	16.2 c	16.0 c
BPX-486-413	12.3 b	14.3 c	15.9 c
BPX-486-313	12.7 b	13.6 c	14.8 c
BPX-486-201	10.6 b	14.3 c	13.9 c
Clones (High density of type IV glandular trichomes)			
BPX-486-60	9.4 b	10.0 b	11.4 b
BPX-486-199	10.1 b	11.5 b	10.7 b
BPX-486-62	7.8 a	9.8 b	10.7 b

Table 2, continued

Treatments	Distances (mm) walked by spider mites on leaflet surfaces after		
	20 minutes	40 minutes	60 minutes
BPX-486-340	9.7 b	9.2 b	10.7 b
BPX-486-85	8.1 a	9.7 b	8.5 b
BPX-486-08	6.8 a	7.1 b	8.3 b
BPX-486-188	7.1 a	10.9 b	8.2 b
BPX-486-213	6.7 a	7.8 b	7.7 b
BPX-486-269	5.9 a	6.2 a	5.5 a
BPX-486-148	3.7 a	3.8 a	4.9 a
BPX-486-342	2.8 a	4.4 a	4.7 a
BPX-486-328	4.5 a	5.4 a	4.5 a
BPX-486-46	3.1 a	2.6 a	3.4 a
BPX-486-17	2.6 a	2.0 a	2.7 a
BPX-486-10	1.2 a	1.6 a	2.4 a
Checks			
LA1401	3.8 a	4.5 a	5.4 a
TOM-684	25.6 b	27.5 c	28.0 c
Santa Clara	24.4 b	25.8 c	27.5 c
Mean followed by standard error			
Clones (Low density of type IV glandular trichomes)	15.0 ( $\pm$ 0.9)	18.5 ( $\pm$ 1.1)	18.9 ( $\pm$ 1.0)
Clones (High density of type IV glandular trichomes)	4.8 ( $\pm$ 0.7)	6.8 ( $\pm$ 0.8)	6.9 ( $\pm$ 0.6)
Accuracy	0.88	0.90	0.92

Means followed by the same letter within a column do not differ according to the Scott-Knott test ( $\alpha=0.05$ ).



Table 3. Correlation between the trichome density and *Tetranychus urticae* movement (after 20, 40 and 60 minutes) on tomato genotypes, derived from interspecific cross *S. galapagense* 'LA1401' x *S. Lycopersicum* 'TOM-684'.

	Abaxial surface			Adaxial surface			Mite movement	
	Type IV	Types I+VI+VII	Types II+III+V	Type IV	Types I+VI+VII	Types II+III+V	after 20 min	after 40 min
Types I+VI+VII - abaxial	0.06 <sup>ns</sup>							
Type II+III+V - abaxial	-0.69**	-0.05 <sup>ns</sup>						
Type IV - adaxial	0.64**	0.06 <sup>ns</sup>	-0.56**					
Types I+VI+VII - adaxial	0.19 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	-0.23*	0.23*				
Type II+III+V - adaxial	-0.39**	-0.07 <sup>ns</sup>	0.66**	-0.37**	-0.28**			
Movement (after 20 min)	-0.51**	-0.11 <sup>ns</sup>	0.55**	-0.51**	-0.33**	0.42**		
Movement (after 40 min)	-0.54**	-0.13 <sup>ns</sup>	0.57**	-0.52**	-0.35**	0.43**	0.91**	
Movement (after 60 min)	-0.56**	-0.15 <sup>ns</sup>	0.58**	-0.54**	-0.38**	0.41**	0.84**	0.96**

\*\*Significant at the 0.01 level; \*Significant at the 0.05 level; <sup>ns</sup>Non-Significant at the 0.05 level.

Table 4. Contrasts between tomato genotypes with different densities of type IV glandular trichomes to the traits *Tetranychus urticae* movement (after 20, 40 and 60 minutes).

Estimated contrasts	Spider Mite movement		
	after 20 min	after 40 min	after 60 min
Low density - High density	9.0**	11.7**	12.0**

Probability considering the test t. \*\*Significant at the 0.01 level.

High density: Average density of clones with high density of type IV glandular trichomes.

Low density: Average density of clones with low density of type IV glandular trichomes.

**ARTIGO 2: Relationship between acylsugar contents and trichome density in tomato genotypes derived from the interspecific cross *Solanum lycopersicum* x *Solanum galapagense* accession LA1401**

## ABSTRACT

Type IV glandular trichomes have been associated with pest resistance in *Solanum galapagense*. An earlier study carried out by the vegetable breeding program at the Universidade Federal de Lavras has identified two QTLs (Quantitative trait loci), on chromosome 2 and 3, associated with the density of type IV glandular trichomes in an F<sub>2</sub> population derived from the interspecific cross between *Solanum lycopersicum* 'TOM-684' and *S. galapagense* accession LA1401. In this current study, we aimed to confirm the relation between these QTLs and the presence of type IV trichomes in more advanced generations (F<sub>3</sub> and F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub>) and to determine the interrelations between the QTLs, type IV trichomes and foliar acylsugar contents. Seventy two genotypes (21 F<sub>3</sub> genotypes and 51 F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> genotypes) were tested for trichome density, acylsugar contents and the presence of the QTLs. The parents (TOM-684 and LA1401), F<sub>1</sub> (TOM-684 x LA1401) and the commercial cultivar Santa Clara were used as checks. Acylsugar contents were positively correlated with densities of type IV glandular trichomes. The results confirmed the association between the QTLs with both the production of acylsugar and the presence of type IV glandular trichomes in the advanced populations. Selection of plants with high type IV glandular trichomes densities can be used as an indirect selection for arthropod pest resistance mediated by acylsugars. The InDel markers were effective to select individuals with high levels of acylsugar and high density of type IV trichomes in advanced populations from the cross *S. galapagense* 'LA1401' x *S. lycopersicum* 'TOM-684'.

**Keywords:** indirect selection, integrated pest management, allelochemicals, InDel markers.

## RESUMO

Tricomas glandulares tipo IV têm sido associados à resistência a pragas em *Solanum galapagense*. Um estudo prévio realizado pelo programa de melhoramento de hortaliças da Universidade Federal de Lavras identificou dois QTLs (Locos de caracteres quantitativos), nos cromossomos 2 e 3, respectivamente, associados com a densidade de tricomas glandulares tipo IV em uma população F<sub>2</sub> derivada do cruzamento interespecífico *Solanum lycopersicum* TOM-684 x *Solanum galapagense* LA1401. No presente estudo, o objetivo foi confirmar a relação entre esses QTLs e a presença de tricomas glandulares tipo IV em gerações mais avançadas (F<sub>3</sub> e F<sub>2</sub>RC<sub>1(1)</sub>) e determinar as inter-relações entre os QTLs, os tricomas tipo IV e o teor foliar de acilacúcares. Setenta e dois genótipos (21 genótipos F<sub>3</sub> e 51 genótipos F<sub>2</sub>RC<sub>1(1)</sub>) foram testados para densidade de tricomas, teor de acilacúcar e presença dos QTLs. Os parentais (TOM-684 e LA1401), F<sub>1</sub> (TOM-684 x LA1401) e a cultivar comercial Santa Clara foram usados como testemunhas. O teor de acilacúcares correlacionou-se positivamente com a densidade de tricomas glandulares tipo IV. Os resultados confirmaram a associação dos QTLs com a produção de acilacúcar e com a presença de tricomas glandulares tipo IV nas populações avançadas. A seleção de plantas com maiores densidades de tricomas glandulares tipo IV mostrou-se um critério seguro de seleção indireta para resistência a pragas mediada por acilacúcares. Os marcadores InDel foram eficazes para selecionar indivíduos com altos níveis de acilacúcar e alta densidade de tricomas glandulares em populações avançadas do cruzamento entre *S. galapagense* 'LA1401' x *S. lycopersicum* 'TOM-684'.

**Palavras-chave:** seleção indireta, manejo integrado de pragas, aleloquímicos, marcadores InDel.

## 1 INTRODUCTION

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is subject to a high incidence of arthropod pests, a fact that induces producers to make frequent use of chemical products, in an attempt to reduce losses. Breeding programs have sought sources of pest resistance in order to obtain cultivars with satisfactory levels of resistance, that would allow for reduction in the use of agricultural pesticides (MALUF et al., 2010; FIRDAUS et al., 2013; LUCATTI et al., 2014; DIAS et al., 2016; LUCINI et al., 2016; ANDRADE et al., 2017). Indirect selection for arthropod pest resistance has been deployed, with selection of plants with high levels of allelochemicals that confer resistance (RESENDE et al. 2006; 2008; SILVA et al., 2009; MACIEL et al. 2011). Nonetheless, cultivars with satisfactory levels of resistance are not yet available on the market.

Wild species of tomato (*S. habrochaites*, *S. peruvianum*, *S. pennellii* and *S. pimpinellifolium*) have been used as sources of pest resistance mediated by allelochemicals (among them acylsugars) with insecticidal properties or repellence to arthropods (MALUF et al., 2001; ALBA et al., 2009; RESENDE et al., 2009; LUCATTI et al., 2013; SCHILMILLER et al., 2015). The wild species *Solanum galapagense* also shows resistance to arthropod pests, associated with high density of type IV glandular trichomes on the leaflets and with high acylsugar contents (JOUY, BORDAT; BESSIERE, 1992; FIRDAUS et al., 2012; LUCATTI et al., 2013; LUCINI et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Knowledge of the genetic control of the presence of type IV glandular trichomes and acylsugar contents as well as the chromosomal regions and/or the genes associated with the production of these trichomes and allelochemicals may facilitate the transfer of these characteristics to the cultivated tomato (RESENDE et al., 2002; FIRDAUS et al., 2013; ANDRADE, 2015). The use of molecular markers would aid in the identification of genes associated with the presence of type IV trichomes and/or production of acylsugar. Andrade (2015), evaluating populations derived from *S. galapagense* accession LA1401, identified two QTLs (Quantitative trait loci) associated with the presence of type IV glandular trichome. One major QTL (gal.IV-2) on chromosome 2 and a minor QTL (gal.IV-3) on chromosome 3. She suggested that type IV glandular trichome in *S. galapagense* has relatively simple inheritance, which would favor its use in breeding programs.

The objective of this work was to evaluate the relationship between type IV glandular trichome density and acylsugar contents in advanced populations (F<sub>3</sub> and F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub>) derived from the interspecific cross *Solanum lycopersicum* 'TOM-684' x *Solanum galapagense*

‘LA1401’ and to confirm the association between the QTLs, identified by Andrade (2015), and both the presence of type IV trichome and the foliar acylsugar contents in these segregating populations.

## 2 MATERIAL AND METHODS

The experiments were carried out at the Universidade Federal de Lavras – UFLA, in Lavras, State of Minas Gerais, Brazil (21°14'43" south latitude, 45°59'59" west longitude, altitude 919 meters) and Hortiagro Sementes S.A. seed company, Palmital farm, in Ijaci, State of Minas Gerais, Brazil (21°14'16" south latitude and 45° 08'00" west longitude, altitude 918 meters).

Segregating populations were obtained from the interspecific cross *Solanum lycopersicum* ‘TOM-684’ x *Solanum galapagense* ‘LA1401’. TOM-684 is a fresh-market tomato inbred line from Hortiagro Sementes S.A., with low type IV glandular trichome density, susceptible to arthropod-pests and low level of foliar acylsugars. LA1401 is a wild accession, resistant to arthropod-pests, with high density of type IV glandular trichome and high levels of foliar acylsugar. LA1401 and TOM-684 were crossed to obtain the F<sub>1</sub> generation. F<sub>1</sub> plants were self-pollinated and backcrossed with the parent TOM-684 obtaining respectively the F<sub>2</sub> generation and the backcross generation: F<sub>1</sub>BC<sub>1(1)</sub> [(F<sub>1</sub> x TOM-684)]. Two plants from the F<sub>2</sub> population, designated as BPX-486A-136 and BPX-486A-71, were selected based on their high density of type IV glandular trichome, and subsequently were self-pollinated in order to obtain F<sub>3</sub> families. Likewise, the plant BPX-486A-337, from the F<sub>2</sub> population, was selected based on its low density of type IV glandular trichome and self-pollinated, to obtain another F<sub>3</sub> family. Three plants from the F<sub>1</sub>BC<sub>1(1)</sub> population, designated as BPX-488A-19, BPX-488A-33 and BPX-488A-50, were previously selected for heterozygosity in both QTL loci of chromosomes 2 and 3, associated with the InDel markers identified by Andrade (2015). After that, these plants were self-pollinated, obtaining three F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> families.

Parents (TOM-684 and LA1401), their F<sub>1</sub> population, the F<sub>3</sub> and F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> families, as well as ‘Santa Clara’ (an arthropod-pests susceptible cultivar with low density of glandular trichome and low acylsugar contents), were sown in flat 128-weel seed trays with commercial potting mix. After one month, the seedlings were transplanted into polyethylene pots with 500 mL capacity totaling 72 genotypes (plants): 27 F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants derived from BPX-488A-19, 21 F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants derived from BPX-488A-33, 3 F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants derived from BPX-488A-50,

7 F<sub>3</sub> plants derived from BPX-486A-136, 8 F<sub>3</sub> plants derived from BPX-486A-71 and 6 F<sub>3</sub> plants derived from BPX-486A-337, plus four genotypes used as checks: 8 plants from TOM-684, 6 plants from LA1401, 9 plants from F<sub>1</sub> (TOM-684 x LA1401) and 8 plants from ‘Santa Clara’.

Trichome densities and acylsugar contents were measured in order to confirm the association between QTLs gal.IV-2 and gal.IV-3, (InDel markers identified by Andrade, 2015), and both acylsugar contents and density of type IV glandular trichomes. Identification and quantification of trichomes types was performed at the Plant Anatomy laboratory, UFLA. Two months after transplanting, the fully-expanded fourth apical leaf from each plant was collected and stored in 70% ethanol. Paradermal cuts were prepared from abaxial and adaxial surfaces, cleared in 50% sodium hypochlorite and washed in water. After staining in 0.1% safranin, sections were washed twice in water, and semi-permanent slides were prepared in glycerinated water. Slides were photographed in a 10x optical microscope (Carl Zeiss, model AXIL1) with an attached camera (AxionCam ERc5s), in three different fields of 1 mm<sup>2</sup> on each of both abaxial and adaxial surfaces. The photomicrographs were analyzed using the Image Tool v. 3.00 software (WILCOX et al., 2002) and the identification and classification of trichomes types were performed based on Luckwill (1943). Non-glandular trichome types II, III, V were counted together as a single class, as well as glandular trichome types I, VI, VII. Type IV glandular trichomes were counted as a separate class. The number of trichomes considered for statistical analysis was obtained by the sum of the mean densities in both surfaces.

The analysis of acylsugar contents was performed at the Organic Chemistry laboratory, UFLA. Three leaflets were collected of the fully-expanded fourth apical leaf from each plant. Samples were dried in racked vials in a drying oven, with temperature at 80 to 85 degree F, for about three days. After that, three milliliters of methanol were added to a dried leaf sample and immediately after, the vial was capped, inverted a couple of times and hand-swirled for a second or two. Solution (1 mL) was removed to appropriate strip tube. After all the dried leaf samples in the vials have been washed and sampled, the tray was placed in a hood to dry overnight and leafs were weighed when all of the remaining alcohol has evaporated. Subsequently 100uL of each sample to be assayed were transferred to the appropriate wells of microtiter plate. After that, 100uL 6M ammonium hydroxide were added to each well of the plate, sealed with a sticky PCR plate cover and incubated for 24 hours in a fume hood. Covers were removed to allow samples to dry down in the fume hood (two days), after which were added 200uL PGO (Peroxidase/Glucose Oxidase) reagents and incubated for



three hours at room temperature for uniform color development on orbital shaker. Plate was read using spectrophotometer set at 490nm (red), obtaining the absorbance values (SAVORY, 2004). Two replications per plant were carried out, with two repeated observations per replication. The absorbance values were divided by leaflet dry weight and the results (absorbance per gram of dry leaf weight) were considered for statistical analysis.

Molecular analysis were performed at the Molecular Genetics laboratory, UFLA, in order to characterize each plant's genotype for both QTL loci (gal.IV-2 and gal.IV-3). The InDel markers used in the present work were previously developed by Andrade (2015) for validation of QTLs responsible for the presence of type IV glandular trichomes, in the F<sub>2</sub> population derived from the cross between *S. lycopersicum* 'TOM-684' and *S. galapagense* 'LA1401'. DNA from the parents (TOM-684 and LA1401), F<sub>1</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> and 'Santa Clara' plants, was extracted from young leaves using the CTAB procedure (FERREIRA; GRATAPAGLIA, 1998). Leaflets (120 mg) were macerated in 1.5 mL microtubes in the liquid nitrogen, and 700 µL of extraction buffer (0.2 g of cetyltrimethyl ammonium bromide, 1 mL of 1 M Tris, 0.4 mL of 0.5M EDTA; 0.82 g of NaCl; 0.1 g of polyvinylpyrrolidone 40,000; 0.86 mL of pure water) was added. The macerate was then maintained in a water bath at 65°C for 30 minutes, and shaken every 10 minutes. After this time, 600 µL of the chloroform isoamyl alcohol 24:1 solution was added. The tubes were shaken for five minutes to form a homogeneous emulsion. The material was then centrifuged for 5 minutes at 12,000 rpm. The aqueous phase was carefully collected (540µL), transferred to another tube (2.2 mL microtube), 900 µL of ammonium acetate was added, and the tubes were incubated at -20°C overnight, after which they were centrifuged at 12,000 rpm for 5 minutes. The supernatant was discarded and the pellet subjected to three washes, two with 1 mL of 70% ethanol and one in absolute ethanol, intercalated with centrifugation for 3 minutes at 12,000 rpm. The pellet was dried under vacuum for 2 minutes. The DNA was resuspended in TE (1 mM Tris to 0.1 mM EDTA) and its quality was checked by running samples on a 1% agarose gel and visually inspecting the ethidium bromide stained aliquots. Primers used are described in the Table 1. Polymerase Chain Reaction (PCR) conditions were standardized for InDel markers comprising 2.5 µL buffer A 10X, 0.7 µL Taq DNA polymerase, 1 µL dNTP (1.25 mM), 0.25 µL of each primer (forward and reverse), 2.5 µL genomic DNA, and pure water added to a volume of 17.8 µL. Amplifications were carried out in thermocycler with the following programming: 94°C for 3 min, denaturation at 94°C for 45 s, annealing at 56°C for 45 s, and elongation at 72°C for 45 s, repeated for 40 cycles and finishing at 72°C for 5 min. PCR

products were separated on 8% polyacrylamide gel at 240 V run for one hour and stained with ethidium bromide for 20 min. The gel was photographed in ultraviolet light.

Means and standard deviation were calculated for trichome density and acylsugar contents. Pearson's correlation analysis was used to identify the correlation among densities of trichome types, and between acylsugar contents and trichome density. Confirmation of the presence of both *S. galapagense* QTL alleles gal.IV-2 and gal.IV-3 was based on regression between InDel marker genotypes and phenotypic data on trichome and acylsugar obtained as previously described. All analyses were performed in R 3.2.3 (R CORE TEAM, 2015).

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

Means of acylsugar contents, trichomes densities and marker results found in the F<sub>3</sub> and F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> populations, derived from the cross between *S. lycopersicum* 'TOM-684' and *S. galapagense* 'LA1401', are shown in the Table 2. The high acylsugar check 'LA1401' (*S. galapagense*) showed indeed high levels of acylsugar (absorbance per gram of dry leaf), whereas the low acylsugar checks *S. lycopersicum* 'TOM-684' and the commercial line 'Santa Clara' had low acylsugar contents. Plants F<sub>1</sub> (TOM-684 x LA1401) showed intermediate levels of acylsugar. Lucatti et al. (2013) also have reported high levels of acylsugars in *S. galapagense* accession 'LA1401' and its association with resistance to whitefly *Bemisia tabaci*.

F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants derived from the F<sub>1</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants BPX-488A-19, BPX-488A-33 and BPX-488A-50 varied widely in the acylsugar contents (Table 2). These F<sub>1</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants were previously selected as being heterozygous for both the *S. lycopersicum* and the *S. galapagense* InDel alleles of Andrade (2015). Most of F<sub>3</sub> plants derived from the high type IV trichome density plant BPX-486A-136 and all the F<sub>3</sub> plants derived from the BPX-486A-71 showed high levels of acylsugar, similar to the one found in the *S. galapagense* accession 'LA1401'. In contrast, most of F<sub>3</sub> plants derived from BPX-486A-337, a plant previously selected for low type IV glandular trichome density, had low acylsugar contents, close to those of the *S. lycopersicum* 'TOM-684' and 'Santa Clara' (Table 2).

Considering all genotypes under study, type IV was the most frequent glandular trichome (Table 2). Types I+VI+VII glandular trichomes occurred in very low densities, with count values near zero, and types II+III+V non-glandular trichomes varied widely in the different populations evaluated. The *S. galapagense* accession 'LA1401' showed high density of type IV glandular trichome and low density of other types of trichomes. In contrast, the *S.*

*lycopersicum* ‘TOM-684’ and ‘Santa Clara’ had very low densities of type IV trichome, but high non-glandular trichome densities. F<sub>1</sub> (TOM-684 x LA1401) plants showed intermediate density of type IV trichome and high non-glandular trichome density. Similar results for ‘LA1401’, ‘TOM-684’, F<sub>1</sub> (TOM-684 x LA1401) and ‘Santa Clara’ were found by Silva et al. (2016) with reference to the presence of type IV glandular trichomes. Furthermore, different *S. galapagense* accessions are described by having high densities of type IV trichomes (FIRDAUS et al., 2012; LUCATTI et al., 2013).

F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants from the populations BPX-488A-19, BPX-488A-33 and BPX-488A-50, varied widely in the type IV glandular trichome density (Table 2). These plants showed high density of non-glandular types II+III+V trichomes. Most of F<sub>3</sub> plants from the BPX-486A-136 population and all the F<sub>3</sub> plants from the BPX-486A-71 population showed high type IV trichome densities. Types II+III+V trichomes density varied widely in these populations. In contrast, most of F<sub>3</sub> plants from BPX-486A-337 population had low type IV glandular trichome density and high types II+III+V trichome density.

There was a high negative correlation between type IV glandular trichome and types II+III+V non-glandular trichomes ( $r = -0.65$ ) (Table 3). Similar negative correlations were found by Andrade (2015), who detected the two QTLs associated with type IV glandular trichomes density. According to that author, the occurrence of negative correlation between the type IV trichomes and non-glandular trichomes, along with the effect of these two QTLs on opposite directions with respect to glandular vs non-glandular trichomes suggest an ontogenetic relationship between these types of trichomes, in which the *S. galapagense* alleles *gal*<sup>2</sup> and *gal*<sup>3</sup> could be involved in the glandular structure development of the trichomes. A significant positive correlation was found between types II+III+V non-glandular trichomes and types I+VI+VII glandular trichomes ( $r = 0.25$ ). Type IV and types I+VI+VII glandular trichomes did not show significant correlation.

High positive correlation was found between acylsugar contents and type IV glandular trichome density ( $r = 0.80$ ), showing that acylsugar contents is mainly associated to type IV glandular trichomes (Table 3). Lucini et al. (2015) also observed a high density of type IV glandular trichomes on the genotypes rich in acylsugar, in populations obtained through the cross between *S. lycopersicum* and *S. pennellii*. High negative correlation was found between acylsugar contents and types II+III+V non-glandular trichomes ( $r = -0.69$ ). Types I+VI+VII glandular trichome density did not show significant correlation with acylsugar contents.

The relation between arthropod pest resistance and presence of type IV trichomes and acylsugar contents has been reported in wild species of tomato such as *S. pennellii*, *S.*

*galapagense*, *S. habrochaites* and *S. pimpinellifolium* (GOFFREDA et al., 1989; RODRIGUÉZ-LÓPEZ et al., 2011; FIRDAUS et al., 2012; LUCATTI et al., 2014; LUCINI et al., 2015; LECKIE et al., 2016). *Solanum galapagense* accessions have shown high levels of resistance to whitefly *Bemisia tabaci* (FIRDAUS et al., 2013; LUCATTI et al., 2013; ANDRADE, 2015) and caterpillar *Helicoverpa armigera* (SILVA et al., 2016). Therefore, accessions of this species are important sources of resistance for breeding programs. High heritability for type IV trichomes has been reported for *S. galapagense*, indicating that this trait can be easily selected and introgressed (FIRDAUS et al., 2013; ANDRADE et al., 2017).

The presence of both *S. galapagense* QTL alleles gal.IV-2 and gal.IV-3 was confirmed as related to both high acylsugar contents and high type IV glandular trichome densities (Table 4). The QTL gal.IV-2 explained singly 37.3% of acylsugar contents variation and 32.7% of type IV glandular trichome variation. The QTL gal.IV-3 explained 27.8% of acylsugar variation and 26.7% of type IV trichome variation. In the F<sub>2</sub> population (*S. lycopersicum* ‘TOM-684’ x *S. galapagense* ‘LA1401’) studied by Andrade (2015), the QTL gal.IV-2 identified on chromosome 2 was the main locus responsible for the presence of type IV glandular trichomes. The interaction between the QTLs gal.IV-2 and gal.IV-3 was significant and along with the main effects it is responsible for 51.3% of acylsugar contents variation and 49.7% of type IV glandular trichome density variation (Table 4). The density of type IV trichomes and acylsugar contents is increased when the individual is homozygous for *S. galapagense* allele for both QTLs (gal<sup>2</sup>/gal<sup>2</sup> – gal<sup>3</sup>/gal<sup>3</sup>), followed by the individual which is heterozygous for QTL gal.IV-2 and homozygous for *S. galapagense* allele QTL gal.IV-3 (gal<sup>2</sup>/lyc<sup>2</sup> – gal<sup>3</sup>/gal<sup>3</sup>), homozygous for *S. galapagense* allele QTL gal.IV-2 and heterozygous for QTL gal.IV-3 (gal<sup>2</sup>/gal<sup>2</sup> – gal<sup>3</sup>/lyc<sup>3</sup>), and heterozygous for both QTLs (gal<sup>2</sup>/lyc<sup>2</sup> – gal<sup>3</sup>/lyc<sup>3</sup>) (Fig. 1 and 2). According to Andrade (2015) this interaction suggests that the action of the QTL gal.IV-3 is dependent on QTL gal.IV-2 and there is epistasis in the direction of an increase in the density of type IV trichomes whenever there is simultaneous presence of at least one allele derived from *S. galapagense* (gal<sup>2</sup> and gal<sup>3</sup>) in each one of the two loci in question. Firdaus et al. (2013) also detected a major QTL (Wf-1) on chromosome 2, in *S. galapagense* accession PRI195004, associated with density of type IV trichomes and production of acylsugars.

F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> plants from BPX-488A-19, BPX-488A-33 and BPX-488A-50 populations, that were homozygous for the alleles from *S. galapagense* ‘LA1401’ (gal<sup>2</sup> and gal<sup>3</sup>) in both QTL loci showed mostly high levels of acylsugar and high type IV glandular trichome density, whereas plants homozygous for the QTL *S. lycopersicum* alleles (lyc<sup>2</sup> and lyc<sup>3</sup>) had

low acylsugar contents and low type IV trichome density (Table 2). Heterozygotes in both QTL ( $lyc^2/gal^2$   $lyc^3/gal^3$ ) loci showed type IV trichomes and acylsugar contents, but they were lower than in homozygotes for the *S. galapagense* alleles. Similar results were observed for the F<sub>3</sub> plants from BPX-486A-136 and BPX-486A-71 populations and for the F<sub>3</sub> plants from BPX-486A-337 population with similar genotypic constitutions in both QTL loci. Andrade (2015) described a partial dominance action for both QTLs on chromosomes 2 (gal.IV-2) and 3 (gal.IV-3) in the direction of lower density of type IV trichomes. These results explain the fact of the number of type IV glandular trichomes and acylsugar contents in the heterozygotes are lower than the ones found in the homozygotes with the alleles from *S. galapagense* ‘LA1401’.

A regression model was estimated for type IV glandular trichome density, as follows:  $Y = 1.7853 - 7.0154*X_1 - 0.7117*X_2 + 11.7448*X_1*X_2$ , in which  $X_1 = 2$  when the plant was homozygous for the allele from *S. galapagense* ‘LA1401’,  $X_1 = 1$  when it was heterozygote and by  $X_1 = 0$  when it was homozygous for the allele from *S. lycopersicum* ‘TOM-684’, at QTL gal.IV-2. Likewise, were  $X_2$  values, at QTL locus gal.IV-3. Also, a similar regression model was estimated for acylsugar contents:  $Y = 2.87 - 1.04*X_1 + 0.04*X_2 + 2.74*X_1*X_2$ . Estimated values were obtained from these equations, and Spearman correlations were calculated between the estimated and observed values (Table 5). High positive correlations were found between the estimated type IV trichome density and the observed ones ( $r=0.72$ ) as well as for estimated acylsugar contents and the observed ones ( $r=0.69$ ), showing an agreement between the observed phenotypic data obtained and those estimated by the proposed linear regression models. These results indicate that the QTLs described by Andrade (2015) are not only associated with type IV trichome densities, but also with acylsugar contents: plants predicted to show high type IV trichome density not only show indeed high type IV density, but also show high acylsugar contents. Acylsugar contents are therefore present mostly if not exclusively in type IV glandular trichomes, and the QTL’s of Andrade (2015) can be effectively used in marker assisted selection for either glandular trichome density or acylsugar contents, in which they will provide resistance to a broad spectrum of arthropod pests.

## 4 CONCLUSIONS

1. The acylsugar contents are associated with type IV glandular trichomes density in advanced populations obtained from the cross between *S. galapagense* 'LA1401' and *S. lycopersicum* 'TOM-684'.
2. Selection of plants with high type IV glandular trichome density is a safe criterion of indirect selection for arthropod pest resistance mediated by acylsugars.
3. InDel markers developed by Andrade (2015) can be effectively deployed in F<sub>3</sub> or backcross populations derived from the cross *S. galapagense* 'LA1401' x *S. lycopersicum* 'TOM-684', in order to select individuals with high levels of acylsugar and high density of type IV trichomes.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank the following Brazilian institutions that provided support for this research project: CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, UFLA – Universidade Federal de Lavras, FAEPE/UFLA – Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, FUNDECC/UFLA – Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico and Hortiagro Sementes S.A.

## REFERENCES

- ALBA J. M.; MONTSERRAT M.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ R. Resistance to the two-spotted spider mite (*Tetranychusurticae*) by acylsucroses of wild tomato (*Solanum pimpinellifolium*) trichomes studied in a recombinant inbred line population. **Exp Appl Acarol**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 35–47, Sep. 2009.
- ANDRADE, M. C. **Genetic control of glandular trichome densities and their association with whitefly resistance from *Solanum galapagense* accession LA1401**. 2015. 96 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- ANDRADE, M. C. et al. Inheritance of type IV glandular trichome density and its association with whitefly resistance from *Solanum galapagense* accession LA1401. **Euphytica**, Dordrecht, v. 213, n. 52, p. 1-12, Feb. 2017.
- DIAS, D.M. et al. Acyl sugars and whitefly (*Bemisia tabaci*) resistance in segregating populations of tomato genotypes. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 2, p. 1-11, Apr. 2016.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p.
- FIRDAUS, S. et al. Resistance to *Bemisia tabaci* in tomato wild relatives. **Euphytica**, Dordrecht, v. 187, n. 1 p. 31–45, Sept. 2012.
- FIRDAUS, S. et al. Identification and QTL mapping of whitefly resistance components in *Solanum galapagense*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 126, n. 6, p. 1487-1501, June 2013.
- GOFFREDA, J. C. et al. Aphid deterrence by glucose esters in glandular trichome exudate of the wild tomato, *Lycopersicon pennellii*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 15, n. 7, p. 2135-2147, July 1989.
- JOUY, N.; BORDAT, D.; BESSIERE, J. M. Identification of (2,3,4-tri-O-acyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(3-O-acyl)- $\beta$ -D-fructofuranoside, responsible of the high level of leafminer resistance in *Lycopersicon cheesmanii*. **Report of the Tomato Genetics Cooperative**, Ithaca, v. 42, p. 22, 1992.
- LECKIE, B. M. et al. Differential and Synergistic Functionality of Acylsugars in Suppressing Oviposition by Insect Herbivores. **PLoS ONE**, California, v. 11, p. 1-19, Apr. 2016.
- LUCATTI, A. F. et al. Differences in insect resistance between tomato species endemic to the Galapagos Islands. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 13, n. 1, p. 175, Aug. 2013.
- LUCATTI, A. F. et al. Normal adult survival but reduced *Bemisia tabaci* oviposition rate on tomato lines carrying an introgression from *S. habrochaites*. **BMC Genetics**, London, v. 15, n. 1, p. 142, Dec. 2014.

LUCINI, T. et al. Acylsugar and the role of trichomes in tomato genotypes resistance to *Tetranychus urticae*. **Arthropod-Plant Interactions**. Dordrecht, v. 9, n. 1, p. 45-53, Feb. 2015.

LUCINI, T. et al. Repellent effects of various cherry tomato accessions on the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 1, p. 1-6, Mar. 2016.

LUCKWILL, L. C. **The genus Lycopersicon**: a historical, biological and taxonomic survey of wild and cultivated tomatoes. Aberdeen: Aberdeen University, 1943. 44 p.

MACIEL, G.M. et al. Híbridos pré-comerciais resistentes a *Tuta absoluta* obtidos de linhagem de tomateiro rica em acilaçúcares. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.29, n. 2, p.151-156, Abr/Jun 2011.

MALUF, W. R.; CAMPOS, G. A.; CARDOSO, M. G. Relationships between trichome types and spider mite (*Tetranychus evansi*) repellence in tomatoes with respect to foliar zingiberene contents. **Euphytica**, Dordrecht, v. 121, n. 1, p. 73-80, 2001.

MALUF, W. R. et al. Broad-spectrum arthropod resistance in hybrids between high- and low-acylsugar tomato lines. **Crop Science**, Madison, v. 50, p. 439–450, Mar./Apr.2010.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015.

RESENDE, J. T. V. et al. Inheritance of acylsugar contents in tomatoes derived from an interspecific cross with the wild tomato *Lycopersicon pennellii* and their effect on spider mite repellence. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 2, p. 106-116, May 2002.

RESENDE, J. T. V. et al. Acylsugars in tomato leaflets confer resistance to the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta* Meyr. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n.1, Jan/Feb 2006.

RESENDE, J. T. V. et al. Resistance of tomato genotypes with high level of acylsugars to *Tetranychusevansi* Baker & Pritchard. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 1, p. 31-35, Jan/Feb 2008.

RESENDE, J. T. V. et al. Resistance of tomato genotypes to the silverleaf whitefly mediated by acylsugars. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.27, n. 3, p.345-348, Jul/Set 2009.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, M. J. et al. Whitefly resistance traits derived from the wild tomato *Solanum pimpinellifolium* affect the preference and feeding behavior of *Bemisia tabaci* and reduce the spread of Tomato yellow leaf curl virus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 101, n. 10, p. 1191-1201, Oct. 2011.

SAVORY, E. A. **Modification of the PGO Assay for Use in Acylsugar Quantification**. Cornell University, 2004. 36p.



SCHILMILLER A. L. et al. Functionally Divergent Alleles and Duplicated Loci Encoding an Acyltransferase Contribute to Acylsugar Metabolite Diversity in *Solanum* Trichomes. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 27, n. 4, p. 1002-1017, Apr. 2015.

SILVA A. A. et al. Resistência à *Helicoverpa armigera* em genótipos de tomateiro obtidos do cruzamento de *Solanum lycopersicum* com *Solanum galapagense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n.7, p.801-808, Jul. 2016.

SILVA, V. F. et al. Resistência mediada por aleloquímicos de genótipos de tomateiro à mosca-branca e ao ácaro-rajado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 9, p. 1262-1269, Set. 2009.

WILCOX, D. et al. 2002. **Image tool for Windows, version 3.0**. San Antonio: University of Texas Health Science Center in San Antonio, Texas, 2002.

Table 1. InDel markers developed by Andrade (2015) for validation of QTLs, on chromosome 2 and 3, for presence of type IV glandular trichomes in populations derived from the interspecific cross of *S. galapagense* 'LA1401' x *S. Lycopersicum* 'TOM-684'.

QTL name	Chromosome	InDel Primer	Primer sequence
gal.IV-2	2	IND2.3Tri_IV	CGAATTGTGGCCCTCTCTCT ACGGGATCAAAGTGGGAGAC
gal.IV-3	3	IND3.2Tri_IV	TGATCAGTTTAAGACAGTACGGT CCGTCCAATTGCAAATCACA

Table 2. Acylsugar contents, trichome density and marker genotypes on segregating populations, derived from the interspecific cross of *S. galapagense* 'LA1401' x *S. Lycopersicum* 'TOM-684'.

	Markers <sup>(4)</sup>		Number of plants	Glandular trichome Trichomes/mm <sup>2</sup>		Non-glandular trichome Trichomes/mm <sup>2</sup>	Acylsugars
	gal.IV-2	gal.IV-3		Type IV	Type I+VI+VII	Type II+III+V	Absorbance /gram of dry leaf
<b>F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub><sup>(1)</sup> family</b>							
BPX-488A-19	R	R	6	20.6 (± 14.2)	1.0 (± 1.3)	41.3 (± 12.3)	8.5 (± 3.0)
BPX-488A-19	R	H	5	4.1 (± 7.0)	1.5 (± 1.7)	78.6 (± 28.1)	5.0 (± 1.8)
BPX-488A-19	H	R	2	16.8 (± 19.5)	0.7 (± 0.9)	39.0 (± 12.2)	4.9 (± 0.5)
BPX-488A-19	H	H	4	7.7 (± 8.4)	0.6 (± 0.7)	84.7 (± 23.9)	3.6 (± 3.0)
BPX-488A-19	H	S	4	0.0 (± 0.0)	0.5 (± 0.4)	84.0 (± 6.5)	3.0 (± 1.1)
BPX-488A-19	S	H	2	0.0 (± 0.0)	0.8 (± 1.1)	87.8 (± 8.2)	2.3 (± 0.3)
BPX-488A-19	S	S	4	0.1 (± 0.1)	0.7 (± 1.1)	89.4 (± 52.3)	2.6 (± 0.6)
BPX-488A-33	R	R	1	5.0	0.0	31.3	5.8
BPX-488A-33	R	H	2	14.0 (± 13.6)	0.2 (± 0.2)	86.1 (± 0.7)	9.6 (± 6.1)
BPX-488A-33	H	R	2	3.0 (± 4.2)	0.2 (± 0.2)	53.3 (± 18.3)	3.1 (± 1.3)
BPX-488A-33	H	H	10	5.2 (± 5.8)	1.6 (± 1.8)	95.1 (± 28.8)	3.9 (± 1.5)
BPX-488A-33	H	S	1	1.3	0.7	83.3	3.5
BPX-488A-33	S	H	1	0.0	1.3	80.3	3.1
BPX-488A-33	S	S	4	0.3 (± 0.4)	0.8 (± 0.6)	57.8 (± 21.2)	3.1 (± 2.2)
BPX-488A-50	H	H	1	0.0	0.0	57.3	3.3
BPX-488A-50	S	S	2	2.7 (± 3.7)	3.0 (± 2.8)	84.5 (± 22.8)	3.3 (± 0.6)

Table 2, continued

	Markers <sup>(4)</sup>		Number of plants	Glandular trichome Trichomes/mm <sup>2</sup>		Non-glandular trichome Trichomes/mm <sup>2</sup>	Acylsugars
	gal.IV-2	gal.IV-3		Type IV	Type I+VI+VII	Type II+III+V	Absorbance /gram of dry leaf
<b>F<sub>3</sub><sup>(2)</sup> family</b>							
BPX-486A-136	R	R	2	43.2 (± 3.5)	0.5 (± 0.2)	4.1 (± 2.5)	15.9 (± 1.4)
BPX-486A-136	H	R	4	22.4 (± 18.0)	0.6 (± 0.5)	29.3 (± 37.8)	12.7 (± 7.6)
BPX-486A-136	S	R	1	0.0	0.0	82	1.9
BPX-486A-71	R	R	8	46.0 (± 21.2)	0.8 (± 1.7)	14.9 (± 7.7)	14.0 (± 1.0)
<b>F<sub>3</sub><sup>(3)</sup> family</b>							
BPX-486A-337	S	R	6	1.3 ± (2.0)	0.5 (± 0.6)	56.0 (± 18.9)	3.1 (± 1.7)
<b>Checks</b>							
LA1401	R	R	6	28.9 (± 5.8)	0.1 (± 0.2)	4.2 (± 1.7)	14.5 ± (3.1)
F <sub>1</sub>	H	H	9	10.2 (± 11.7)	0.5 (± 0.7)	40.0 (± 16.5)	7.4 ± (1.8)
Santa Clara	S	S	8	0.0 (± 0.0)	0.8 (± 0.9)	110.2 (± 18.3)	1.8 (± 0.3)
TOM-684	S	S	8	0.0 (± 0.1)	1.2 (± 0.5)	107.1 (± 34.4)	2.3 (± 0.5)

Mean followed by standard deviation.

<sup>(1)</sup> F<sub>2</sub>BC<sub>1(1)</sub> (selected for 2 heterozygous loci - QTLs gal.IV-2 and gal.IV-3 - on F<sub>1</sub>BC<sub>1(1)</sub> (F<sub>1</sub>×TOM-684))

<sup>(2)</sup> F<sub>3</sub> (selected for high density of type IV trichome on F<sub>2</sub> generation)

<sup>(3)</sup> F<sub>3</sub> (selected for low density of type IV trichome on F<sub>2</sub> generation)

<sup>(4)</sup> R = homozygous for the *S. galapagensis* QTL alleles gal.IV-2 and gal.IV-3

S = homozygous for the *S. lycopersicum* QTL alleles lyc.IV-2 and lyc.IV-3

H= heterozygous for the QTL alleles

Table 3. Pearson correlation between acylsugar contents and trichome density on segregating populations, derived from interspecific cross of *S. galapagense* 'LA1401' x *S. Lycopersicum* 'TOM-684'.

	Glandular trichome		Non-glandular trichome
	Type IV	Type I+VI+VII	Type II+III+V
Type I+VI+VII	-0.00 <sup>ns</sup>		
Type II+III+V	-0.65**	0.25*	
Acylsugar	0.80**	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.69**

\*\*Significant at the 0.01 level; \*Significant at the 0.05 level; <sup>ns</sup>Non-significant at the 0.05 level.

Table 4. Association between InDel markers, developed by Andrade (2015), and acylsugar contents and trichome density based on single marker-trait regression on segregating populations derived from the interspecific cross of *S. galapagense* ‘LA1401’ x *S. Lycopersicum* ‘TOM-684’.

	Markers	Single marker-trait regression	
		F-value	% Expl. (R <sup>2</sup> )
Acylsugar	gal.IV-2	22.1**	37.3
	gal.IV-3	14.6**	27.8
Type IV trichome	gal.IV-2	18.3**	32.7
	gal.IV-3	13.9**	26.7
Interaction gal.IV-2 x gal. IV-3 (Acylsugar)		11.7**	51.3
Interaction gal.IV-2 x gal. IV-3 (Type IV trichome)		11.0**	49.7

\*\* Significant at the 0.01 level; %Expl. is percentage of variance explained by phenotypic variation.

Table 5. Spearman correlation between observed acylsugar contents and estimated acylsugar contents; and between observed type IV trichome density and estimated type IV trichome density on segregating populations, derived from interspecific cross of *S. galapagense* 'LA1401' x *S. Lycopersicum* 'TOM-684'.

	Type IV trichome (observed)	Acylsugar contents (observed)
Type IV trichome (estimated)	0.72**	
Acylsugar contents (estimated)		0.69**

\*\*Significant at the 0.01 level

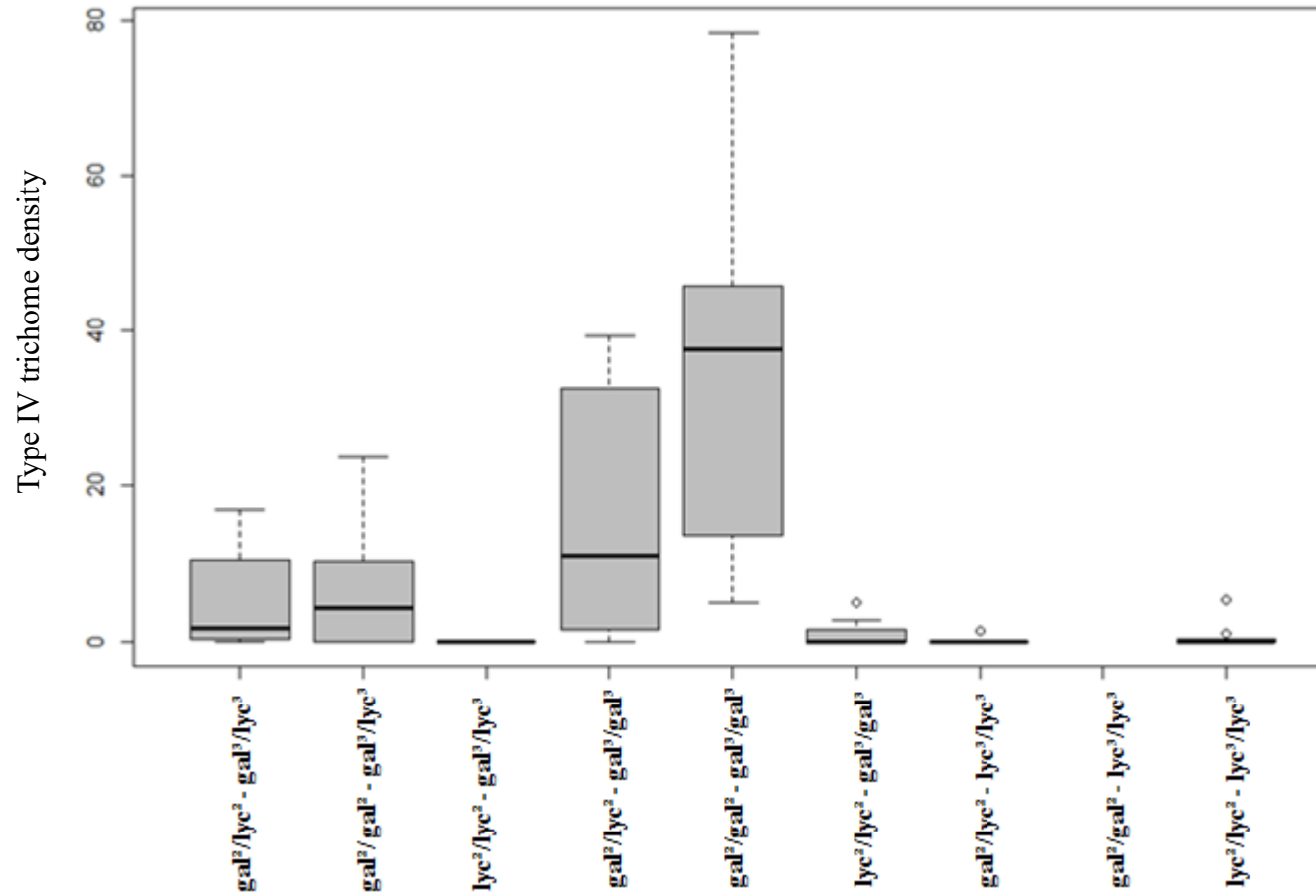


Fig 1. Interaction effect between the QTL gal.IV-2 (chromosome 2) and QTL gal.IV-3 (chromosome 3) for type IV trichome density on segregating populations (*S. lycopersicum* x *S. galapagense*).

The alleles gal<sup>2</sup> and gal<sup>3</sup> are the *S. galapagense* QTL on chromosomes 2 and 3; lyc<sup>2</sup> and lyc<sup>3</sup> are the *S. lycopersicum* alleles for QTL on chromosomes 2 and 3.



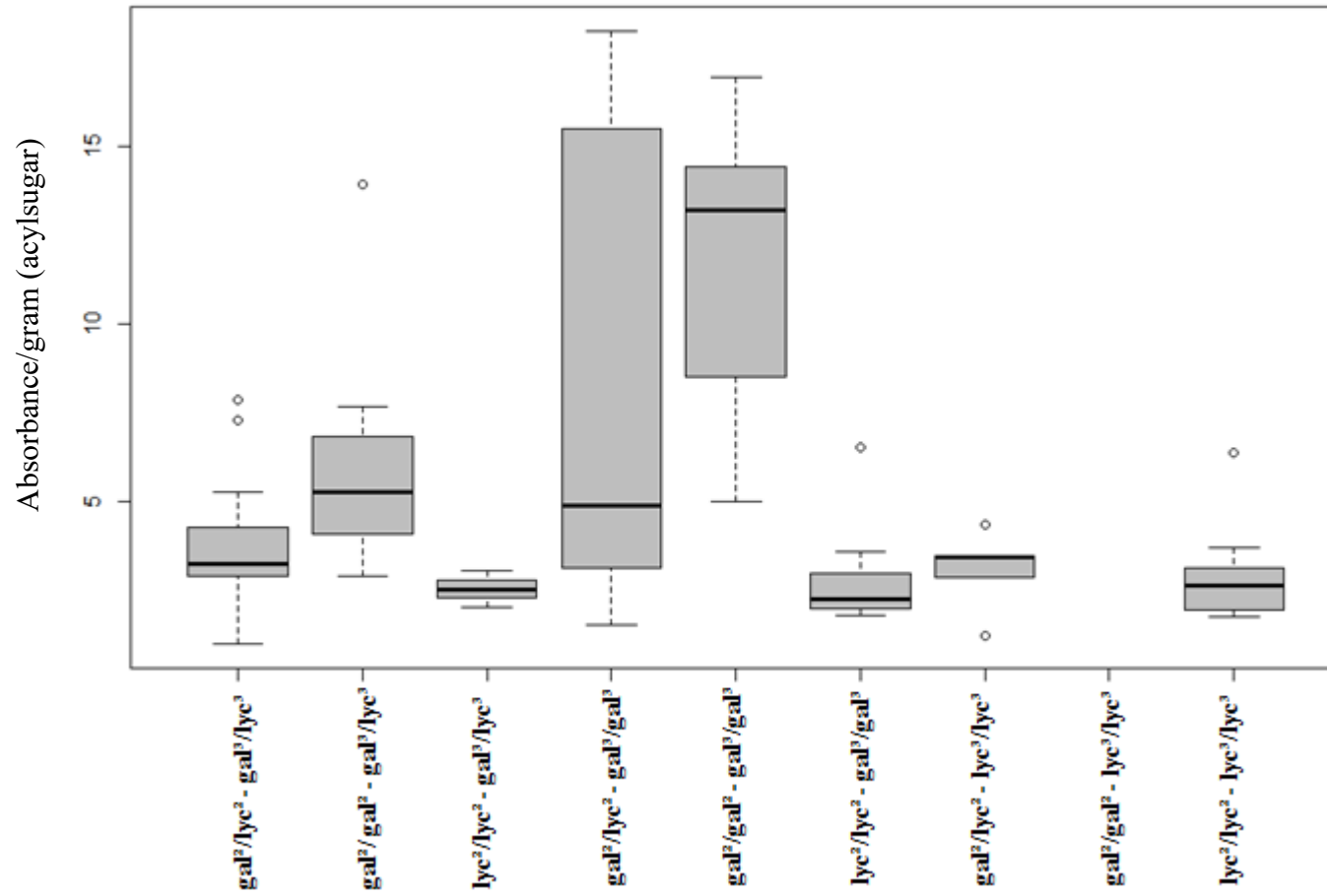


Fig 2. Interaction effect between the QTL gal.IV-2 (chromosome 2) and QTL gal.IV-3 (chromosome 3) for acylsugar contents on segregating populations (*S. lycopersicum* x *S. galapagense*).

The alleles gal<sup>2</sup> and gal<sup>3</sup> are the *S. galapagense* QTL on chromosomes 2 and 3; lyc<sup>2</sup> and lyc<sup>3</sup> are the *S. lycopersicum* alleles for QTL on chromosomes 2 and 3.