

FERNANDO CÉZAR JULIATTI

**REAÇÃO HOSPEDEIRA, INFECTIVIDADE E CONTROLE
GENÉTICO DA RESISTÊNCIA A TOSPOVIRUS EM TOMATEIRO**
(Lycopersicon esculentum Mill.)

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Curso de
Doutorado em Agronomia, área de concentração em
Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

Orientado

Prof. Dr. WILSON R

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1994

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFLA

Juliatti, Fernando César.

Reação hospedeira, infectividade e controle ge-
nético da resistência a tospovirus em tomateiro
(*Lycopersicon esculentum* Mill.) / Fernando César
Juliatti. -- Lavras : UFLA, 1994.

127p. : il.

Orientador: Wilson Roberto Maluf.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de
Lavras.

Bibliografia.

1. Tomate - Doenças e pragas - Controle. 2. To-
mate - Vira-cabeça - Resistência genética. 3. To-
mate - Variedades resistentes. 4. Tospovirus - To-
mate - Controle. I Universidade Federal de Lavras.
II. Título.

CDD-632.8

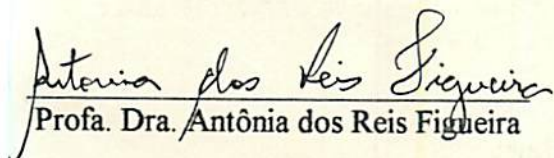
-635.64298

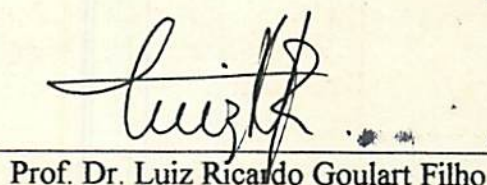
FERNANDO CÉZAR JULIATTI

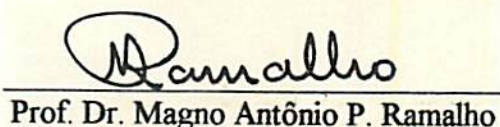
**REAÇÃO HOSPEDEIRA, INFECTIVIDADE E CONTROLE
GENÉTICO DA RESISTÊNCIA A TOSPOVIRUS EM TOMATEIRO
(*Lycopersicon esculentum* Mill)**

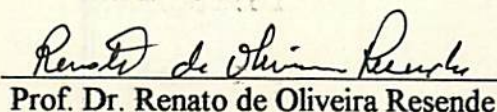
Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

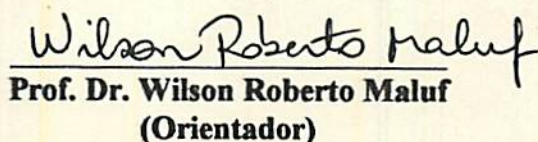
APROVADA em 20 de dezembro de 1994.


Profa. Dra. Antônia dos Reis Figueira


Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho


Prof. Dr. Magno Antônio P. Ramalho


Prof. Dr. Renato de Oliveira Resende


Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf
(Orientador)

A Deus, minha esposa

Mirtes e meus filhos

(Fernanda, Bruno e Breno)

dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Uberlândia pela liberação para o curso;

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela oportunidade de sua realização;
constituindo esta a primeira tese defendida na nova Universidade;

À CAPES-PICD e PIONEER SEMENTES pelo apoio financeiro;

Aos mestres pelos ensinamentos;

Ao Professor Wilson Roberto Maluf pela amizade e orientação;

Aos conselheiros e membros da Banca pelas sugestões e conhecimentos transmitidos;

Aos colegas de curso e os que ficaram no anonimato, mas que não hesitaram em colaborar para o sucesso deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Fernando César Juliatti, filho de Luiz Juliatti e Marízia Ribeiro Juliatti é natural de Ribeirão Vermelho-MG, onde concluiu os cursos primário e ginásial. Em 1977, concluiu o Colegial no Instituto Gammon, em Lavras-MG. Em 1978, iniciou o curso de Agronomia na Escola Superior de Agricultura de Lavras, graduando-se em dezembro de 1981.

Iniciou o curso de Fitopatologia, a nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, em março de 1982, com suporte financeiro da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), concluindo o mesmo em 1985. Em julho de 1984, foi contratado pela Fundação Faculdade de Agronomia "Luiz Meneghel", como professor de Fitopatologia e Cultura de Plantas Alimentícias. Em agosto de 1987, transferiu-se para a Universidade Federal de Uberlândia para a cadeira de Fitopatologia, através de concurso público. Em 1991 iniciou o Doutorado em Agronomia na ESAL (Escola Superior de Agricultura de Lavras), área de concentração em Fitotecnia, graduando-se em dezembro de 1994.

O propósito do melhoramento visando resistência às doenças é a manipulação do hospedeiro, do parasita e dos fatores que agem sobre eles, de tal modo que, para um dado meio ambiente, possam ser fornecidas variedades seguras com relação às doenças.

Coons (1953)

Os princípios fundamentais do melhoramento visando resistência às moléstias são quase os mesmos que se aplicam a outros caracteres. Há, porém, uma importante diferença. Para a resistência às doenças, lidam-se com duas séries de fatores hereditários: (1) os caracteres hereditários da planta hospedeira, e (2) as diferenças hereditárias no patógeno.

Hayes, Immer & Smith (1955)

Quanta virulência pode a natureza colocar nos fitopatógenos e quanta resistência pode o homem colocar nas plantas cultivadas? Esta é uma das mais importantes questões para a agricultura presente e futura.

Stakman & Harrar (1957)

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiii
SUMMARY	xv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1 O tomateiro	2
2.2 A doença - o complexo do vira-cabeça do tomateiro	3
2.3 O patógeno	4
2.3.1 Morfologia, purificação e comportamento viral "in vitro"	4
2.3.2 Estirpes, gama de hospedeiros e hospedeiros diferenciais	8
2.4 Sintomas e epidemiologia da doença	10
2.4.1 Aspectos morfológicos	10
2.4.2 Aspectos histológicos ou internos	11
2.4.3 Transmissão	12
2.4.3.1 Vetores	12
2.4.3.2 Sementes	12
2.4.4 Influência dos fatores físicos do meio ambiente no desenvolvimento da virose	13
2.5 Manejo da doença	13
2.5.1 Fontes de resistência e estudos de herança	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
3 HIPÓTESES	26
4 REAÇÃO DE LINHAGENS AVANÇADAS DE TOMATEIRO A ISOLADOS DE TOSPOVIRUS	27
RESUMO	27
SUMMARY	28
4.1 INTRODUÇÃO	29
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	31

	Página
4.2.1 Seleção das linhagens de <i>L. esculentum</i>	31
4.2.2 Obtenção e caracterização dos isolados	32
4.2.3 Estudo da reação de 5 linhagens de <i>L. esculentum</i> perante 7 isolados de Tospovirus	33
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.3.1 Seleção das linhagens de <i>L. esculentum</i>	34
4.3.2 Estudo da reação de 5 linhagens de <i>L. esculentum</i> a 7 isolados de Tospovirus	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
5 COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE PRESERVAÇÃO DE ISOLADOS DE TOSPOVIRUS	46
RESUMO	46
SUMMARY	47
5.1 INTRODUÇÃO	47
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	48
5.2.1 Obtenção e caracterização dos isolados	48
5.2.2 Preservação "in vivo" - inoculação mecânica	49
5.2.3 Preservação "in vivo" - enxertia por garfagem	49
5.2.4 Preservação "in vitro" - liofilização	50
5.2.5 Preservação "in vitro" - nitrogênio líquido	50
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
6 CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO TOMATEIRO A UM ISOLADO DE TOSPOVIRUS (TSWV) - ANÁLISE EM PLANTAS INDIVIDUAIS	55
RESUMO	55
SUMMARY	56
6.1 INTRODUÇÃO	57
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	60
6.2.1 Obtenção do isolado de Tospovirus	60
6.2.2 Testes prévios para determinação das linhagens parentais a serem usadas nos cruzamentos	60
6.2.3 Obtenção das populações segregantes	61
6.2.4 Metodologia de inoculação e avaliação para discriminar plantas resistentes e susceptíveis nas gerações parentais (P_1 e P_2), F_1 , retrocruzamentos (RC_{11} e RC_{21}) e geração F_2	61
6.2.5 Análises estatísticas e genéticas	63
6.2.5.1 Análise de variância	63
6.2.5.2 Componentes de média	64
6.2.5.3 Componentes de variância e estimativas do número de genes	64
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
6.3.1 Análise de variância	66
6.3.2 Distribuição de frequências	67
6.3.3 Componentes de médias	71

	Página
6.3.3.1 Cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547	71
6.3.3.2 Cruzamento Santa Clara x TSWV-556	73
6.3.3.3 Cruzamento Santa Clara x Stevens	75
6.3.3.4 Componentes de variância genética e estimativas das herdabilidades e número de genes	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
7 ESTIMATIVA DA HERDABILIDADE DA RESISTÊNCIA A TOSPOVIRUS UTILIZANDO POPULAÇÕES SEGREGANTES COM DIFERENTES PROPORÇÕES ALÉLICAS	82
RESUMO	82
SUMMARY	83
7.1 INTRODUÇÃO	84
7.2 MATERIAL E MÉTODOS	86
7.2.1 Cruzamento Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂)	86
7.2.1.1 Obtenção das populações e metodologia de inoculação	86
7.2.1.2 Estimativa das variâncias e herdabilidade no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2)	88
7.2.1.3 Distribuição de frequência	88
7.2.2 Cruzamento Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂)	88
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
8 SELEÇÃO DE PROGÊNIES RESISTENTES A UM ISOLADO DE TOSPOVIRUS EM <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	98
RESUMO	98
SUMMARY	99
8.1 INTRODUÇÃO	99
8.2 MATERIAL E MÉTODOS	101
8.2.1 Avaliação de plantas individuais	101
8.2.2 Teste de progênies	102
8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
8.3.1 Avaliação de plantas individuais	103
8.3.2 Teste de progênies	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
APÊNDICE	114

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Reação de linhagens avançadas de <i>L. esculentum</i> Mill. após uma inoculação mecânica de um isolado de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1991	35
2	Reação de plantas ou hospedeiras diferenciadoras a 7 isolados de tospovirus após inoculação mecânica. ESAL, Lavras, 1991	36
3	Quadro de Análise de Variância para cinco linhagens de tomateiro inoculadas com sete isolados de Tospovirus em duas épocas de avaliação. ESAL, Lavras-MG, 1991	38
4	Reação média de severidade de sintomas para isolados de Tospovirus, após inoculação mecânica em cinco linhagens de tomateiro (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.). ESAL, Lavras-MG, 1991	39
5	Médias para severidade de sintomas em linhagens de tomateiro (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.), inoculadas mecanicamente com diferentes isolados de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1991	40
6	Preservação e infectividade de isolados de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1993	51
7	Esquema da análise de variância, em blocos casualizados, ao nível de médias, com as respectivas esperanças matemáticas dos quadrados médios E(QM) e os componentes da variância fenotípica ao nível de plantas das gerações P ₁ , P ₂ , F ₁ F ₂ , RC ₁₁ e RC ₂₁ . ESAL, Lavras-MG, 1993	63

Tabela	Página	
8	<p>Quadro de ANAVA da severidade de sintomas, para efeito de gerações após inoculação de Tospovirus (TSWV), provenientes do cruzamento das linhagens Santa Clara x TSWV-556; Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e Santa Clara x Stevens. ESAL, Lavras-MG, 1993</p>	66
9	<p>Frequências observadas de 3 cruzamentos de <i>L. esculentum</i> Mill, quanto a severidade de infecção por TSWV. ESAL, Lavras-MG, 1993</p>	72
10	<p>Componentes de médias observados para os cruzamentos Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547, Santa Clara x TSWV-556 e Santa Clara x Stevens. ESAL, Lavras-MG, 1993</p>	73
11	<p>Estimativas das variâncias aditivas ($\hat{\sigma}_A^2$), dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), ambiental ($\hat{\sigma}_E^2$), herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2), grau médio de dominância (gmd) e número provável de genes (n). ESAL, Lavras-MG, 1993</p>	76
12	<p>Expressões utilizadas para obtenção das equações referentes aos cruzamentos Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂) e Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂) para determinação da variância fenotípica média ($\hat{\sigma}_F^2$), variância genética ($\hat{\sigma}_G^2$), variância aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$), variância de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), variância ambiental entre gerações ($\hat{\sigma}_{Eb}^2$), herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2). ESAL, Lavras - MG, 1994</p>	89
13	<p>Análise de variância para progênes F_2 RC₁₁, F_2 RC₂₁ e F_3 do cruzamento Santa Clara x TSWV-556 e os tratamentos comuns (TSWV-547, Stevens, Ângela Gigante I-5100, F_1 (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547), Santa Clara e TSWV-556). ESAL, Lavras, MG, 1994</p>	91
14	<p>Análise de variância para progênes RC₁₂, RC₂₂ e F_3 do cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e os tratamentos comuns (TSWV-547, Stevens, Ângela Gigante I-5100, F_1 (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547), Santa Clara e TSWV-556). ESAL, Lavras, MG, 1994</p>	92

Tabela

Página

15	Estimativas das variâncias fenotípica média ($\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$), variância genética ($\hat{\sigma}_G^2$), da soma das variâncias entre retrocruzamentos ($\hat{\sigma}_{RC}^2$), variância aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$), variância de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), variância ambiental entre ($\hat{\sigma}_{Eb}^2$), herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2), para dois cruzamentos em <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. ESAL, Lavras, MG, 1994	93
16	Proporção de plantas individuais com sintomas (susceptíveis) e resistentes nos retrocruzamentos F ₂ [Santa Clara x F ₁ (Santa Clara x Stevens)] e F ₁ [Nemadoro x F ₁ (Nemadoro x Stevens)]. ESAL, Lavras, 1994	104
17	Comportamento de progênes referentes a geração F ₃ do cruzamento Santa Clara x F ₁ (Santa Clara x Stevens), frente a um isolado de Tospovirus (TSWV). ESAL, Lavras-MG, 1994	105
18	Comportamento de progênes referentes a geração F ₂ do cruzamento Nemadoro x F ₁ (Nemadoro x Stevens). ESAL, Lavras, 1994	106

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estrutura e expressão gênica de Tomato Spotted Wilt Virus (Adaptado de Resende, 1993)	5
2	Obtenção, manutenção e produção de inóculo de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1994	53
3	Frequências relativas da severidade de infecção por TSWV, médias e variâncias em 6 gerações de <i>L. esculentum</i> Mill, proveniente do cruzamento Santa Clara x TSWV-556. ESAL, Lavras - MG, 1993	68
4	Frequências relativas da severidade de infecção por TSWV, médias e variâncias em 6 gerações de <i>L. esculentum</i> Mill, proveniente do cruzamento Ângela Gigante-I-5100 x TSWV-547. ESAL, Lavras - MG, 1993	69
5	Frequências relativas da severidade de infecção por TSWV, médias e variâncias em 6 gerações de <i>L. esculentum</i> Mill, proveniente do cruzamento Santa Clara x Stevens. ESAL, Lavras - MG, 1993	70
6	Distribuição de frequências para linhagens (Stevens, TSWV-547, TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara), F ₁ (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547), progênies F ₂ dos retrocruzamentos e F ₃ do cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547. ESAL, Lavras - MG, 1994	94
7	Distribuição de frequências para linhagens (Stevens, TSWV-547, TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara), F ₁ (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547), progênies F ₂ dos retrocruzamentos e F ₃ do cruzamento Santa Clara x TSWV-556. ESAL, Lavras - MG, 1994	95

RESUMO

JULIATTI, FERNANDO CÉZAR. **Reação hospedeira, infectividade e controle genético da resistência a tospovirus em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.).** Lavras: UFLA, 1994. 127p. (Tese - Doutorado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia)*.

O complexo viral do vírus de vira-cabeça do tomateiro, atualmente classificado na família Bunyaviridae e gênero Tospovirus, vem-se tornando muito limitante à cultura do tomateiro no Brasil. Este trabalho demonstrou que não existe interação diferencial das linhagens resistentes TSWV-556 e TSWV-547 (com resistência oriunda do acesso Rey de Los Tempranos) a um grupo de isolados do vírus pertencente às espécies Tomato Spotted Wilt Virus e Tomato Chlorotic Spot Virus, indicando que a resistência proveniente de Rey de Los Tempranos parece ser não específica para espécies de Tospovirus. Para os isolados das duas espécies do vírus, foi observado que o único método de preservação capaz de manter a infectividade de todos os isolados após 12 meses, foi o nitrogênio líquido. Determinaram-se herdabilidades no sentido amplo de $11,22 \pm 9,89$, $53,9 \pm 9,8$ e $77,1 \pm 7,6\%$, para os cruzamentos Santa Clara x TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e Santa Clara x Stevens, respectivamente. Conjectura-se assim a possibilidade de eficiente seleção para resistência a Tospovirus ao nível de plantas individuais, pelo menos nos dois

* Orientador: Wilson Roberto Maluf. Membros da Banca: Antônia dos Reis Figueira, Luiz Ricardo Goulart Filho, Magno Antônio Patto Ramalho e Renato de Oliveira Resende.

últimos cruzamentos. Estudou-se a herdabilidade da resistência à espécie TSWV, calculada ao nível de progênies, nos cruzamentos Santa Clara x TSWV-556 e Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547. Determinou-se por este estudo maior magnitude da variância de dominância em relação a aditiva, e herdabilidades no sentido amplo (h^2_a) com valores de 96,6% e 93,29%, respectivamente. Caracterizaram-se também progênies resistentes, após inoculação mecânica da espécie TSWV em plantas individuais, para os cruzamentos F_2 [Santa Clara x F_1 (Santa Clara x Stevens)] e F_1 [Nemadoro x F_1 (Nemadoro x Stevens)]. Procedeu-se a inoculação do vírus (espécie TSWV) nas progênies F_3 e F_2 de cada cruzamento e comprovou-se em seguida a presença do alelo de resistência do parental Stevens em progênies homozigotas e com formato de fruto semelhante a cultivar Santa Clara e nas progênies oriundas do parental Nemadoro.

SUMMARY

HOST RESPONSE, INFECTIVITY AND GENETICAL CONTROL OF RESISTANCE TO TOSPOVIRUS IN TOMATO PLANTS (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

The spotted wilt viral complex, currently classified in the Bungaviridae family and Tospovirus genus, has been highly limiting to the tomato crop in Brazil. This work showed that there is no differential interaction of the resistant lines TSWV-556 and TSWV-547 (with resistance issued from Rey de Los Tempranos access) to a group of different tospovirus isolates of the species "Tomato Spotted Wilt Virus" and "Tomato Chlorotic Spot Virus", indicating that the resistance issued from Rey de Los Tempranos seems to be non-specific for Tospovirus species. For the isolates of the two Tospovirus species tested, the only preservation method capable of keeping infectivity of all the isolates after 12 months was liquid nitrogen. The broad sense heritability of the Tospovirus resistance was 11.22 ± 9.89 ; 53.9 ± 9.8 and $77.1 \pm 7.6\%$ for the crosses Santa Clara x TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 and Santa Clara x Stevens, respectively. The possibility of selection for resistance to Tospovirus at individual plant level was presumed for at least in two latter crossings. Heritability of the resistance was studied at the progeny level in the crosses Santa Clara x TSWV-556 and Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547. Greater magnitude of the dominance variance related to the additive, and heritability in the wide sense (h_a^2) with values of 96.6% and 93.29%, respectively, was determined by means

of this study. Resistant progenies were also characterized after mechanical inoculation of the TSWV species into individual plants for the F_2 crosses [Santa Clara x F_1 (Santa Clara x Stevens)] and F_1 (Nemadoro x F_1 (Nemadoro x Stevens)]. Inoculation of the virus (TSWV species) was made in the F_3 and F_2 progenies of each cross, and confirmed the presence of the resistance allele of the parental Stevens in homozygous progenies with fruit shape similar to the cultivar Santa Clara and in the progenies issued from the parental line Nemadoro.

1 INTRODUÇÃO

O complexo patológico vira-cabeça do tomateiro é atualmente uma das enfermidades mais limitantes para a cultura do tomateiro no centro-sul do Brasil e em diversos países da Europa, Ásia, América do Norte, Central, do Sul e Austrália. Dado a importância de se trabalhar com este complexo viral em melhoramento genético para a cultura, além de que a resistência genética é a alternativa mais viável para o controle da doença, são relatados nos capítulos que sucedem: uma revisão geral sobre o problema (relação patógeno x hospedeiro); a caracterização de isolados frente a linhagens de tomateiro melhoradas a partir da fonte de resistência Rey de Los Tempranos; comparação entre métodos de preservação para isolados do vírus; o controle genético da resistência ao vírus ao nível de plantas individuais; estimativas da herdabilidade da resistência à Tospovirus utilizando populações segregantes com diferentes proporções alélicas e, finalmente a seleção e obtenção de progênies resistentes ao vírus baseando-se na inoculação mecânica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O tomateiro

O tomateiro é uma planta conhecida e cultivada no mundo inteiro, sendo o seu fruto a hortaliça de maior expressão econômica, consumida “in natura” ou industrializada. No Brasil, o tomate é a segunda hortaliça de maior importância econômica. O país produz cerca de 2 milhões de toneladas de tomate/ano, com uma produtividade média em torno de 35 ton/ha, contra 53 ton/ha dos EUA e 285 ton/ha da Holanda (FAO, 1990). Os Estados maiores produtores são em ordem decrescente, São Paulo, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Goiás (Anuário ..., 1992).

O tomate possui baixo valor energético, sendo uma ótima fonte de vitamina C, cujo teor varia de 11,2 a 21,6 mg/100 g. A espécie selvagem utilizada em programas de melhoramento, *Lycopersicon peruvianum* pode conter teores desta variando de 48,2 a 77,9 mg/100 g (Silva e Casali, 1979).

O México é apontado como o provável centro de origem do tomate cultivado (*L. esculentum* Mill), particularmente as regiões de Vera Cruz e Puebla (Jenkins, 1984; Rick e Fobes, 1975). Rick e Fobes (1975) consideram *L. esculentum* var. *cerasiforme* como ancestral do tomate cultivado. Quiros (1974) sugeriu uma filogenia que segue de um ancestral pré-*lycopersicon* para *L. peruvianum*, *L. hirsutum*, *L. esculentum* var. *cerasiforme*, até finalmente chegar ao tomate

domesticado. Mais recentemente, vários autores encontraram relações de filogenia entre essas espécies, por estudos de sequenciamento de DNA de mitocôndria e cloroplastos (Warnock, 1988). Nove espécies foram reconhecidas, abolindo-se os subgêneros (Warnock, 1988). Os taxons dentro do gênero *Lycopersicon* Miller (1754) são: *L. esculentum* Mill. (1768); *L. esculentum* Mill. var. *esculentum*; *L. esculentum* var. *cerasiforme* (Dun.) Gray (1886); *L. pimpinellifolium* (Jusl.) Mill. (1768); *L. cheesmanii* Riley (1925); *L. cheesmanii* Riley f. *cheesmanii*; *L. cheesmanii* f. *minor* (Hook. f.) Mull. (1940); *L. hirsutum* Humb & Bonpl. (1816); *L. hirsutum* Humb. & Bonpl. f. *hirsutum*; *L. hirsutum* f. *glabratum* Mull. (1940); *L. pennellii* (Corr.) D'arcy (1981); *L. pennellii* var. *puberulum* (Corr.) D'arcy (1981); *L. chmieliwskii* Rick, Kes., Fob. & Holle (1976); *L. parviflorum* Rick, Kes., Fob. & Holle (1976); *L. peruvianum* (L.) Mill.; *L. peruvianum* (L.) Mill. *peruvianum*; *L. peruvianum* var. *humifusum* Mull. (1940) e *L. chilense* Dun. (1852).

2.2 O complexo do vira-cabeça do tomateiro

O complexo patológico do vira-cabeça do tomateiro foi descrito pela primeira vez na Austrália por Britebank em 1915, causando perdas severas na cultura do tomate (Best, 1968). Desde então, tem sido considerado a causa de sérios problemas em várias culturas de regiões temperadas e subtropicais do mundo (Francki e Hatta, 1981).

A enfermidade conhecida por vira-cabeça do tomateiro é uma das mais importantes viroses nas condições brasileiras, e tem se tornado limitante ao cultivo do tomateiro na região Sudeste, Centro-Oeste (Lima, 1986) e Sul do Brasil (Lima Neto et al., 1988). No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez por Costa e Forster (1938), demonstrando ser particularmente devastadora em anos recentes, na região de Campinas-SP, onde ocorre com maior incidência entre

dezembro e abril, principalmente devido a proliferação de tripes vetores (Costa et al., 1964; Yuki e Costa, 1988).

A doença pode ocorrer em plantas de qualquer idade, sendo mais comum nos primeiros dois meses após o transplante das mudas para o campo, podendo até levar à morte das plantas no decorrer do ciclo da cultura. Britebank denominou esta fitovirose de “spotted wilt” do tomateiro. Em 1930, Samuel caracterizou o agente causal como um vírus e o chamou de “tomato spotted wilt virus” (Best, 1968). Costa e Forster (1941) estudando as propriedades físicas, vetores, sintomatologia em hospedeiros diferenciais e círculo de hospedeiras do vírus concluíram ser ele semelhante ao “spotted wilt”. Desde então, convencionou-se chamar a doença pelo nome de vira-cabeça.

2.3 O patógeno

2.3.1 Morfologia, purificação e comportamento viral “in vitro”

As partículas virais são complexas e aproximadamente isométricas (esféricas), medindo de 70-110 nm, são compostas de membrana ou envoltório (Best, 1968; Francki e Hatta, 1981; Ie, 1970). Estas contêm 20% de lipídio, 7% de carboidratos e 5% de RNA de fita simples e do tipo não infeccioso (Best, 1968). A membrana viral é composta por 4 proteínas estruturais (Figura 1). Uma proteína do nucleocapsídeo (N) de aproximadamente 29 KDa, duas glicoproteínas de membrana de 78 KDa (G₁) e 58 KDa (G₂), que formam as projeções no envelope viral e uma grande proteína de 331,5 KDa, presente em menor quantidade e associada ao nucleocapsídeo (Mohamed, Randles e Francki, 1973 e Tas, Bokerjan e Peters, 1977). O genoma

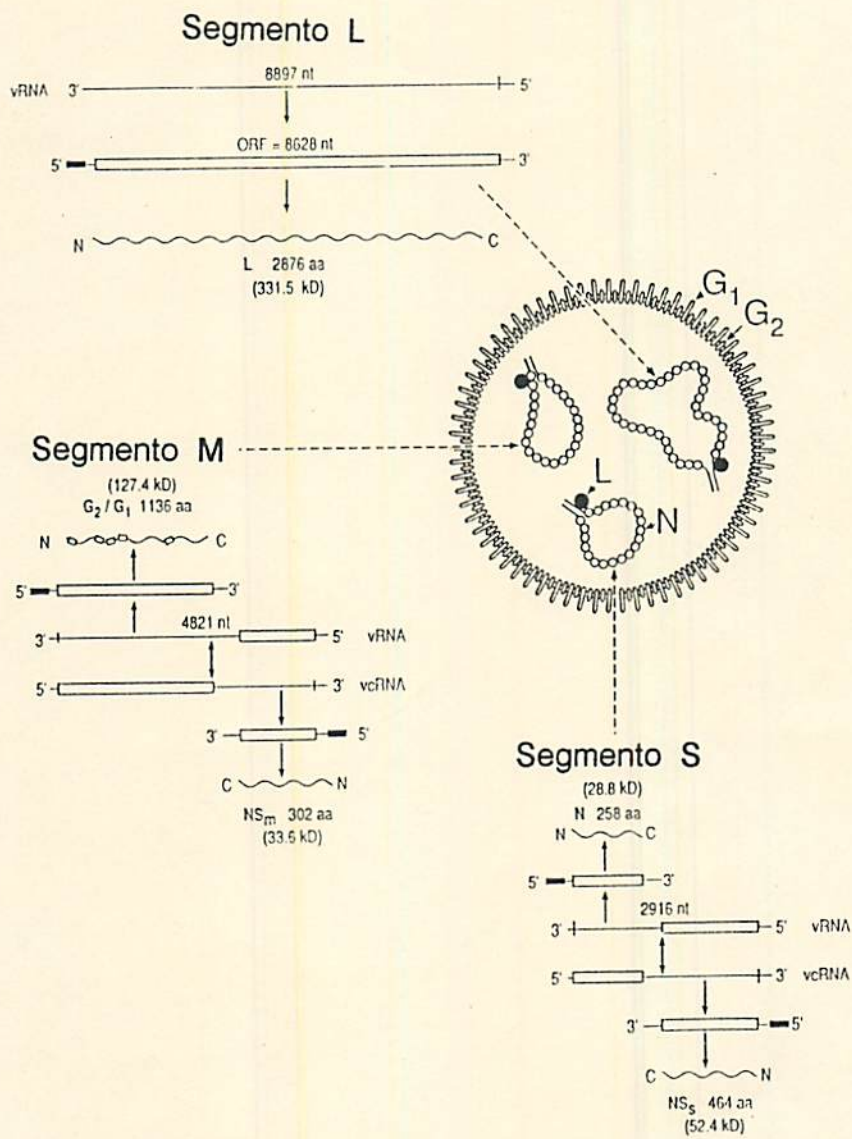


FIGURA 1 - Estrutura e expressão gênica de Tomato Spotted Wilt Virus (Adaptado de Resende, 1993).

viral consiste de três moléculas de RNA de fita simples, designadas de S-RNA (2,9 Kb), M-RNA (4,8 Kb) e L-RNA (8,9 Kb). Os RNAs genômicos estão associados à proteína do nucleocapsídeo e formam nucleocapsídeos pseudocirculares (Van Den Hurk, Tas e Peters, 1977; Mohamed, 1981 e Kormelink et al., 1991).

Os segmentos do RNA genômico têm diferentes funções na replicação viral. O L-RNA (8897 nucleotídeos) apresenta polaridade negativa e contém uma única "open reading frame" (ORF) correspondendo a tradução de um produto de 331,5 (KD) que provavelmente representa a transcriptase viral (De Haan et al., 1991). Ambos, M e S-RNA possuem organização "ambisense". O M-RNA é composto por 4821 nucleotídeos, codificando uma proteína não estrutural (NSm), no sentido viral, com 33,6 KD, e no sentido anti-viral codifica o precursor para as glicoproteínas (G₁ e G₂) de 127,4 KD. O S-RNA é composto por 2916 nucleotídeos e codifica uma proteína não estrutural (NSs) de 52,2 KD, no sentido viral e a proteína N do nucleocapsídeo no sentido anti-viral (Haan et al., citados por Resende, 1993).

Embora haja um grande interesse de fitopatologistas pelo vírus, dada a sua importância, a sua instabilidade "in vitro" perante substâncias oxidantes tem limitado os estudos físicos e químicos. Isso fez com que os primeiros pesquisadores a trabalhar com esse vírus tivessem dificuldades na sua purificação (Best, 1968), tendo sido purificado apenas parcialmente (Best et al., 1967). Os pesquisadores Black, Bakke e Vatter (1963) demonstraram uma metodologia de purificação do vírus comprovada pela densidade das partículas (1,21 g/cc) e sua morfologia através de microscopia eletrônica. Mohamed et al. (1973) sugeriram modificações neste método, as quais têm sido utilizadas nos estudos e detecção desse vírus em mamoeiro pela técnica sorológica ELISA (Gonsalves, 1986). A produção de antissoro para o vírus foi descrita

inicialmente por Fieldman e Boninsegna (1968), permitindo testes sorológicos de rotina, bem como a comparação das diferentes estirpes do vírus.

No Brasil, Ávila, Beek e Dusi (1988) também obtiveram uma purificação do vírus seguida da produção de antissoro. Estes avanços na purificação e produção de antissoro do vírus têm permitido comparar e discriminar germoplasmas de tomateiros resistentes e susceptíveis pela técnica de ELISA, após duas inoculações mecânicas com TSWV (Paterson, Scott e Gergerich, 1989 e Stevens, Scott e Gergerich, 1991).

No presente, para detecção em larga escala de tospovirus, a técnica ELISA, utilizando-se antissoros policlonais de alta especificidade contra vírus completo e a proteína de nucleocapsídeo, continua sendo a forma mais viável de detecção deste vírus em plantas e tripes (Resende et al., 1991; Cho et al., 1988).

A técnica de sondas de DNA é relatada para a detecção de TSWV em tomateiro (Ronco et al., 1989). Esta técnica de alta especificidade é realizada através da hibridização de DNA complementar, não havendo a necessidade de repetir a purificação viral, bem como a necessidade de produção de antissoro.

O TSWV é um dos mais instáveis "in vitro". O ponto de inativação térmica é de 40-46°C e a longevidade "in vitro" é de 2-5 horas. A transmissão mecânica é possível através do uso de tampão fosfato 0,01M (pH - 7,0), contendo sulfito de sódio na mesma molaridade, na extração do inóculo (Best, 1968; Ie, 1970 e Francki e Hatta, 1981). As partículas virais permanecem infectivas até uma diluição de 1:1000 em água destilada (Costa e Forster, 1941).

2.3.2 Estirpes, gama de hospedeiros e hospedeiros diferenciais

Tendo em vista que o vírus TSWV é cosmopolita ocorrendo nos mais diversos nichos ecológicos e hospedeiros, uma grande diversidade genotípica é esperada entre os diversos isolados de tospovírus. Muitos variantes genéticos têm sido encontrados, afetando diferentes espécies de plantas, provocando sintomas diversos e descritos ora como estirpes, ora como diferentes isolados.

Costa (s.d.) citado por Francki e Hatta (1981) relatou que algumas estirpes de TSWV têm-se adaptado à solanáceas, outras à feijão e outras à cucurbitáceas. Estes variantes têm sido caracterizados com respeito às suas propriedades biológicas e não existem dados disponíveis que expressam estas diferenças em propriedades físicas e químicas. Salienta-se que as diferentes moléculas de RNA que compõem o vírus atuam como causadoras do aparecimento das estirpes e variabilidade de sintomas (Best, 1968). Estirpes que diferem em severidade de sintomas têm sido relatadas a nível de campo (Best, 1968 e Francki e Hatta, 1981).

Os diferentes variantes do vírus têm dificultado a obtenção de material totalmente resistente a nível de campo (Finlay, 1952 e 1953) e Paterson, Scott e Gergerich (1989). A caracterização de isolados do vírus, torna-se necessária visando a triagem de germoplasma de tomate resistente. Deste modo, Cupertino et al. (1981) identificaram dois grupos principais de isolados: (a) isolados mais agressivos, com reação necrótica sistêmica, causando freqüentemente a morte do topo da planta (provenientes de ervilha e tomate); (b) isolados menos agressivos, de reação amarelo-arroxeadada (provenientes de batata, jiló, pimentão e tomate). Neste caso, foram retiradas partes de tecidos ao redor de lesões simples e individuais, para obtenção de isolados

puros, em folhas de feijoeiro 'Manteiga' (*Phaseolus vulgaris* L.) (Costa, 1957). Após o isolamento testou-se a virulência em plantas de tomate "Santa Cruz".

Barbosa e Figueira (1990) separaram isolados fortes, médios e fracos em tomateiros da região de Lavras-MG baseando-se em plantas de fumo *Nicotiana tabacum* L. cv. Turkish NN (TNN), *Datura stramonium* e *L. esculentum* "Kada".

As plantas como *Petunia hybrida*, *Nicotiana tabacum* cv. Turkish NN (TNN), *Datura stramonium*, *Cucumis sativus* (cotilédones) podem ser usadas como indicadoras, destacando-se a primeira pela rapidez na reprodução de lesões locais (2-4 dias) (Francki e Hatta, 1981).

Observa-se que todas estas classificações exclusivamente fenotípicas não foram conclusivas devido à falta de certos parâmetros que pudessem diferenciar estirpes e espécies de vírus. No presente, o "International Committee on Taxonomy of Viruses" (ICTV), introduziu na taxonomia moderna de vírus, o conceito de espécie de vírus evitando assim o uso de conceitos pouco discriminativos como sorogrupos e tipos (Francki et al., 1991). Tomato spotted wilt virus (TSWV) é hoje classificado como membro-tipo do gênero tospovirus, que foi incluído na família Bunyaviridae (Francki et al., 1991), devido a sua similaridade com alguns vírus que infectam animais vertebrados e invertebrados. O gênero Tospovirus abriga agentes causais de graves moléstias de plantas em todo o mundo, entre os quais encontramos TSWV, que causa severas perdas na produção do tomateiro (Costa, Forster e Fraga Jr., 1950; Francki e Hatta, 1981).

Recentemente Ávila et al. (1992, 1993a, 1993b) dividiu o gênero Tospovirus em quatro espécies baseando-se em propriedades sorológicas, na composição da proteína de nucleocapsídeo, seqüência de nucleotídeos dos RNAs virais e na reação de diferentes hospedeiros. Foram propostas as espécies: Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV), Tomato Chlorotic Spot Virus

(TCSV), Groundnut Ring Spot Virus (GRSV) e Impatiens Necrotic Spot Virus (INSV). Segundo Ávila (1993), os Tospovirus podem infectar cerca de 70 famílias botânicas e 550 espécies de plantas, sendo a grande maioria nas famílias Solanaceae e Compositae (Ávila, 1993).

Existem relatos de lista de hospedeiros do vírus (Costa e Forster, 1942; Edwardson e Christie, 1986). Entre as 40 plantas hospedeiras do vírus já relatadas no Brasil, as seguintes são as mais comuns e podem funcionar como hospedeiras às vezes sem exibir sintomas aparentes: *Nicotiana tabacum* L. (fumo) e outras do mesmo gênero, *Solanum tuberosum* L. (batata), *S. nigrum* L. (maria pretinha), *S. dulcamara* L., *S. melongena* L. (berinjela), *Lycopersicon esculentum* Mill (tomateiro), *Datura stramonium* L. (datúra), *Nicandra physaloides* Goerth, *Physalis peruviana*, *Physalis brasiliensis*, *Capsicum annum* L. (pimentão), *C. frutescens* L. (pimentas), *Petunia* sp. (petúnia), *Amaranthus* sp. (carurú), *Bidens pilosa* L. (picão), *Lactuca sativa* L. (alface), *Tropaeolum majus* L. e *Portulaca oleraceae* L. (beldroega) (Tokeshi e Carvalho, 1980). Em ervilha o patógeno causa um bronzeamento nas vagens, conhecido como "Brown pod" (Reifschneider et al., 1989).

2.4 Sintomatologia e epidemiologia da doença

2.4.1 Aspectos morfológicos

A doença de vira-cabeça do tomateiro caracteriza-se por multiplicidade de sintomas que podem variar, na mesma espécie hospedeira, com a idade, estado nutricional da planta, variedade, condições ambientais, bem como a estirpe do vírus (Costa, 1944).

Os sintomas morfológicos são caracterizados por lesões necróticas locais, mosaico sistêmico, clorose das nervuras, bronzeamento do limbo foliar, acúmulo de antocianina (arroxamento) em partes jovens da planta. Plantas inoculadas precocemente podem apresentar necroses, deformações foliares e amarelamento. Nos frutos de tomate e pimentão podem ocorrer manchas circulares que conferem variegação na tonalidade da cor dos frutos quando maduros (Francki e Hatta, 1981 e Tokeshi e Carvalho, 1980). A grande variabilidade na expressão dos sintomas é provavelmente devido a mistura de estirpes do vírus (Francki e Hatta, 1981). Pavan (1992), descreveu a infecção preferencial por tospovirus em flores, as quais devido a cor amarela servem como atrativo para o tripses vetor. Conseqüentemente, ocorre a presença de sintomas no fruto em detrimento da ausência de sintomas nas folhas.

2.4.2 Aspectos histológicos ou internos

A nível histológico podem ser observadas inclusões na forma de viroplasmas, caracterizadas por aglomerados de túbulos com cerca de 40 nm de diâmetro, e a ocorrência freqüente de massas densas no citoplasma. Outro sintoma comum é o aparecimento de partículas virais acumuladas no lúmen do retículo endoplasmático. As variações no aparecimento de inclusões depende do estágio de infecção de vírus e/ou estirpe (Francki e Hatta, 1981 e Ie, 1970).

2.4.3 Transmissão

2.4.3.1 Vetores

Os tospovirus são transmitidos na natureza por espécies de tripses (Thysanoptera:Thripidae) como, *Thrips tabaci* Lind., *Frankliniella schultzei* Trybom, *F. occidentalis* Perg. e *F. fusca* Hind. (Francki e Hatta, 1981). Forster e Costa (1938) descreveram a espécie *F. paucispinosa* como transmissora do vírus no Brasil. Segundo esses autores, *T. tabaci*, apesar de ocorrer comumente, parece não ser de importância como vetor de Tospovirus. As partículas são adquiridas em plantas infectadas pela fase larval e os adultos as transmitem de forma persistente (propagativo/ circulativo). O período de aquisição do vírus de 15 min para *T. tabaci*, e o período de incubação (período latente) é de 4-10 dias, dependendo da espécie de vetor. Os vetores são infectivos no máximo por 22-30 dias, após a aquisição das partículas, mas algumas vezes o vírus é retido no inseto adulto por toda sua vida. Não ocorre a transmissão do vírus de vetor para a sua progênie (Francki e Hatta, 1981 e Ie, 1970). No interior do inseto vetor o vírus permanece estável em pH variando de 5,0 a 5,6, enquanto "in vitro", é muito instável em pH inferior a 5,5 (Francki e Hatta, 1981).

2.4.3.2 Sementes

Admite-se a transmissão de TSWV em tegumento das sementes de *Cineria* (96%) e tomate. Neste segundo caso, acredita-se que somente em 1% dos casos o vírus é aparentemente transportado no tegumento (Francki e Hatta, 1981).

2.4.4 Influência dos fatores físicos do meio ambiente no desenvolvimento da virose

O tipo de sintomatologia desenvolvido é decorrente do genoma do hospedeiro, idade, estado nutricional da planta e condições ambientais (Best, 1968 e Francki e Hatta, 1981). Hokama e Mondail (1990) usando inoculação mecânica do vírus, citam que temperaturas de 32°C são ideais para a infecção em *Cucumis sativus* (pepino) e *Nicotiana glutinosa*. Em temperatura de 16°C não ocorreu infecção para os dois hospedeiros testados.

Hutton e Peak (1953) compararam o desenvolvimento de TSWV em diferentes espécies de *Lycopersicon*, resistentes e susceptíveis. Os autores concluíram que a inoculação de progênies segregantes, à uma temperatura de 32,2°C com uma estirpe necrótica e severa ("Ringspot strain") pode facilitar a diferenciação fenótipos resistentes e susceptíveis. Foi demonstrado também que uma estirpe mais agressiva e necrótica quando comparada a uma mistura de estirpes, parece ter mais facilidade em invadir o hospedeiro em temperaturas mais baixas (15,6 - 30,6°C), mesmo em espécies altamente resistente como *L. peruvianum*.

2.5 Manejo da doença

As epidemias causadas por Tospovirus são freqüentes nas épocas quentes e chuvosas do verão e no fim desta estação, a importância do vira-cabeça se torna muito grande, chegando a se tornar o fator limitante da cultura (Yuki e Costa, 1988). Em locais de altitude mais elevada, assim como nos meses mais frios e secos do ano, a ocorrência de vira-cabeça (Tospovirose) é menos frequente.

As medidas de controle adotadas, geralmente não apresentam a eficiência desejada. A eliminação das plantas atacadas no campo é uma medida que pode ser utilizada com algum sucesso (Costa, 1944; Bitancourt, 1936 e Berkeley, 1935), principalmente em plantações novas de tomateiro. O uso de inseticidas, que visem a eliminação dos insetos vetores (Costa e Costa, 1971 e 1972 e Costa e Nagai, 1977) é recomendado como alternativa de controle da virose. Outras medidas incluem a erradicação de ervas daninhas hospedeiras do vírus como beldroega e caruru. O plantio de barreiras vivas, como o milho e crotalárias, ao redor do tomatal, dificulta a migração dos Tripes (Silva e Casali, 1979 e Sonnenberg, 1985). No Hawaii, tem-se buscado um manejo integrado da doença em alface, baseando em estudos de epidemiologia, métodos de prognósticos e modelos econômicos para o controle da doença na cultura (Cho et al., 1987 e 1989). Baseando-se na ineficiência e inviabilidade econômica das estratégias de controle da fitovirose até o momento apresentadas, vislumbra-se que a única perspectiva viável para um efetivo controle de tospovirus é através da resistência varietal.

2.5.1 Fontes de resistência e estudos de herança

O primeiro relato da existência de resistência a Tospovirus no germoplasma Red Current (*L. pimpinellifolium*) é referenciado por Samuel et al., citados por Smith e Gardner (1951). Costa (1944) e Smith (1944) confirmaram a existência de resistência nesta espécie. As espécies *L. hirsutum* e *L. peruvianum* também foram citadas por Costa (1944) como resistente ao vírus. *L. peruvianum* apresenta problemas de cruzamento com variedades de tomate dificultando deste modo, o melhoramento convencional. Neste caso, torna-se necessário o uso de cultura de

embriões (Smith, 1944; Nagai, Lourenção e Siqueira, 1991; Siqueira, Fonseca e Sondhal, 1988; Duval, 1992 e Duval, Caldas e Cupertino, 1993).

Uma cultivar chamada Pearl Harbor, desenvolvida por Kikuta, Hendrix e Frazier (1945) no Hawaii foi resistente ao isolado local mas comportou-se como susceptível ao isolado de New Jersey (Holmes, 1948). Por outro lado, duas variedades Sul Americanas, oriundas da Argentina, Rey de Los Tempranos e Manzana comportaram-se como resistentes ao isolado do TSWV de New Jersey, mas quando testados no Hawaii, comportaram-se como susceptíveis. Posteriormente, Rey de Los Tempranos, Manzana e Pearl Harbor foram susceptíveis a isolados do TSWV da Austrália (Finlay, citado por Best, 1968 e Hutton e Peak, 1953).

Vários pesquisadores relataram diferenças no grau de resistência ou susceptibilidade de cultivares de *Lycopersicon esculentum* frente a TSWV. Mas, nenhuma variedade foi imune ao vírus e algumas foram tolerantes, sofrendo danos mínimos. Desde que produção e qualidade de fruto não foram associadas com resistência ao vírus, os melhoristas orientam seus programas na tentativa de introduzir a resistência aos Tosspovirus em cultivares susceptíveis com características comerciais desejáveis (Best, 1968).

Best (1968) relata um programa de melhoramento iniciado por Phipps e colaboradores na tentativa de transferir a resistência de *L. pimpinellifolium* para uma cultivar comercial susceptível, sendo as características resistência ao vírus e tamanho pequeno de fruto associadas. Smith e Gardner (1951) após 12 anos de pesquisas a nível de campo com uma seleção de *L. pimpinellifolium* ("Porter's selection") reportaram que nenhum nível adequado de resistência foi recuperado nas progênes. Hutton e Peak (1953) trabalhando também com a seleção de Porter chegaram a mesma conclusão.

Uma contribuição para a elucidação da genética da resistência ao vírus foi dada por Finlay (1953). Trabalhando em condições controladas, ele estudou a resistência e susceptibilidade de variedades de tomateiro a 10 isolados de TSWV, e demonstrou que 4 genes são os responsáveis pela resistência ao grupo de isolados estudados, e designou os símbolos Sw^a_1 , Sw^b_1 , sw_2 , sw_3 e Sw_4 . As fontes de resistência estudadas foram *L. pimpinellifolium* ("Porter's strain"), Rey de Los Tempranos, Pearl Harbor e Manzana, pertencentes a espécie *L. esculentum*. Em Rey de Los Tempranos foram encontrados os alelos Sw^b_1 , sw_2 , sw_3 e sw_4 .

Pelo teste de alelismo o autor observou também que o cruzamento entre Rey de Los Tempranos x *L. pimpinellifolium* produziu 50% de plantas F_2 resistentes a todos os isolados do vírus, mas que somente as plantas contendo os alelos SW_1^a e SW_1^b são completamente resistentes, sendo impossível produzir plantas resistentes e homozigóticas utilizando estes dois tipos parentais. Neste caso, não foi possível encontrar uma variedade de tomateiro totalmente resistente e homozigótica para os 10 isolados utilizados na pesquisa. A espécie *L. peruvianum* relatada como imune em condições de campo não foi incluída em seus estudos, tendo sido recomendadas para futuros programas de melhoramento visando resistência ao TSWV (Best, 1968).

No Brasil, existem vários trabalhos relatando ou descrevendo fontes de resistência ao vírus de vira-cabeça do tomateiro. Nagai e Costa (1967) testaram os germoplasmas *Lycopersicon pimpinellifolium* (PI 126410), Rey de Los Tempranos, Platense Tambau e Rei Umberto e verificaram que estas possuem certo nível de resistência a uma outra estirpe do vírus, mas nenhuma com amplitude de resistência desejável. Cupertino et al. (1986), com o objetivo de localizar fontes de resistência a Tospovirus para uso em programas de melhoramento, avaliou em testes de inoculação, feitos em casa de vegetação, os níveis de resistência a esse vírus apresentado

por linhagens e cultivares de *Lycopersicon esculentum*, *L. chesmanii*, *L. peruvianum*, *L. pimpinellifolium* e híbridos de *L. esculentum* x *L. pimpinellifolium*. Foram utilizados isolados do vírus coletados em lavoura de ervilha, pimentão e tomate, que se mostraram virulentos a tomate "Santa Cruz Kada", e que foram mantidos em *Datura stramonium* e *N. rustica*. Os resultados obtidos mostraram que dentre 120 introduções testadas, 46 se apresentaram como resistentes. Dessas, 37 eram *L. peruvianum*, 4 híbridos de *L. esculentum* x *L. pimpinellifolium* e 5 de *L. pimpinellifolium*.

Recentes avanços têm sido obtidos no melhoramento para resistência ao vírus no Brasil (Maluf, Thoma-Braghini e Corte, 1991 e Nagai, Lourenção e Siqueira, 1991). Nos estudos desenvolvidos em condições de campo por Maluf, Thoma-Braghini e Corte (1991) foram selecionados 5 acessos quanto a sua maior tolerância ou resistência a TSWV. Os acessos estudados foram Rey de Los Tempranos, *L. pimpinellifolium* (PI 732293-2V), *L. hirsutum* var. *hirsutum* (PI 127826), *L. hirsutum* var. *glabratum* (PI 134417) e um acesso de *L. peruvianum* (LA 444-1). Tendo como base o acesso Rey de Los Tempranos, uma variedade de *L. esculentum*, no programa de melhoramento, após 6 anos de testes de campo foi possível introduzir o(s) gene(s) dessa fonte em genótipos desejáveis agronomicamente, de base genética semelhante a Santa Clara e Ângela Gigante I-5100. Neste trabalho, o termo resistência foi usado como todo mecanismo de reduzir perdas na cultura e não necessariamente como sinônimo de imunidade, conforme citam também Cooper e Jones (1983). Os autores relataram que a resistência encontrada em Rey de Los Tempranos poderia ser supostamente conferida por alelo(s) recessivo(s).

No trabalho que vem sendo desenvolvido no IAC, por Nagai, Lourenção e Siqueira (1991), os acessos selvagens *L. peruvianum* (LA 444-1) e *L. hirsutum* var. *glabratum* (PI 134417) tem mostrado alto nível de resistência a TSWV e traça do tomateiro (*Scrobipalpuloides absoluta*).

LA 444-1 foi cruzado para *L. esculentum* utilizando um cruzamento ponte com *L. pimpinellifolium* (NAV 1062) seguido de cultura de embrião. O acesso PI 134417 foi cruzado e retrocruzado com *L. esculentum* sem o uso de cultura de embrião. As progênes desses cruzamentos foram avaliadas em condições de campo e laboratório, através de inoculações mecânicas com TSWV. Após 4 ciclos de seleção foram obtidas plantas resistentes a ambos os agentes e produzindo frutos vermelhos com cerca de 4 cm de diâmetro. Estas plantas, as quais foram derivadas de ambas as espécies selvagens, têm sido cruzadas entre si visando obter combinações mais desejáveis.

Novas metodologias vêm sendo testadas para identificar e selecionar germoplasmas resistentes a TSWV. Paterson, Scott e Gergerich (1989) desenvolveram a técnica ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), para a detecção de TSWV em plantas inoculadas mecanicamente. Germoplasmas diversos foram inoculados no estágio de 2^o par de folhas definitivas e reinoculadas uma semana depois usando tampão fosfato a 0,01M - pH = 7,0, no qual foi adicionado sulfito de sódio a 0,01 M. Todas as linhagens avaliadas foram susceptíveis, (ELISA positivo), incluindo linhagens resistentes do Hawaii, Brasil e Argentina. Os autores comentaram que a susceptibilidade desses germoplasmas se deve ao fato de a resistência em tomate ser específica para certas estirpes do vírus. Plantas individuais de *L. pimpinellifolium* e oito acessos de *L. peruvianum* não apresentaram sintomas e apresentaram testes de ELISA negativo. A cultivar Anahu foi susceptível embora tenha sido desenvolvida de *L. peruvianum* (PI 128657), que foi resistente ao isolado utilizado. Salientou-se neste trabalho que a resistência encontrada em *L. peruvianum*, seja controlada por fatores múltiplos. Os autores recomendam a utilização de 6 a 10 plantas de uma variedade susceptível inoculada em cada bandeja para monitorar a eficiência da inoculação.

Estes trabalhos demonstram que as variedades testadas, possuem certa resistência a determinadas estirpes do vírus, portanto torna-se necessário uma cuidadosa combinação de genes para o desenvolvimento de cultivares comerciais de tomateiro mais resistentes sob as condições de campo onde várias estirpes do vírus podem ocorrer simultaneamente (Nagai e Costa, 1967).

Van Zijl, Bosh e Coetzee (1986), relataram a resistência da cultivar "Stevens" ao TSWV, esta cultivar foi desenvolvida a partir do cruzamento entre *L. esculentum* e *L. peruvianum*. Mais recentemente, Stevens et al. (1991), estudaram a herança da resistência ao TSWV, nesta cultivar. Para tal, avaliaram-se populações oriundas do cruzamento entre Stevens e a cultivar Rodade. Os autores concluíram que se tratava de resistência controlada por um gene cujo alelo dominante foi designado de Sw-5, diferentemente dos quatro outros designados por Finlay (1953).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro: FIBGE, 1992. v.52, 1.116p.
- ÁVILA, A.C. Vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV): Organização do genoma, transmissão, citopatologia, classificação e identificação. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.18, p.252-253, ago. 1993. (Suplemento).
- ÁVILA, A.C.; BEEK, M.A.; DUSI, A.N. Purificação e sorologia para o vírus de vira-cabeça do tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.13, n.2, p.127, jul. 1988.
- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; KITAJIMA, E.W.; KORMELINCK, R.; RESENDE, R. de O.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Characterization of a distinct isolate of tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Impatiens* sp. in the Netherlands. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v.134, p.133-151, 1992.

- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; KITAJIMA, E.W.; KORMERLINCK, R.; RESENDE, R.O.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Classification of tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.74, n. p.153-159, 1993a.
- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; SMEETE, M.L.L.; RESENDE, R. de O.; KORMELINCK, R.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Distinct levels of relationship between tospovirus isolates. **Archives of Virology**, New York, v.128, n. , p.211-227, 1993b.
- BEST, R.J. Tomato spotted wilt virus. In: SMITH, K.M.; LAUFFER, M.A. (eds.). **Advances in virus research**. New York, 1968. v.13, p.65-146.
- BEST, R.J.; OLIVEIRA, A.R.; MATIELLO, J.B.; KITAJIMA, E.W.; COSTA, A.S. Purificação parcial do vírus de vira-cabeça do tomateiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Brasília, v.1, n.1, p.18, fev. 1967.
- BARBOSA, C.J.; FIGUEIRA, A.R. Susceptibilidade de cultivares de tomate à estirpes do vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV) identificado em Lavras-MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.137, jul. 1990.
- BERKELEY, G.H. Occurrence of "spotted wilt" of tomato in Ontario. **Scientific Agriculture**, Ottawa, v.15, p.389-392, 1935.
- BITANCOURT, A.A. A mancha anular do tomate. **O Biológico**, São Paulo, v.2, p.98-100, 1936.
- BLACK, L.M.; BAKKE, M.K.; VATTER, A.E. Purification and electronmicroscopy of tomato spotted wilt virus. **Virology**, New York, v.20, p.120-130, 1963.
- CHO, J.J.; MAU, R.F.L.; GERMAN, T.L.; HARTMANN, R.W.; YUDIN, L.S.; GONSALVES, D.; PROVVIDENTI, R. A multidisciplinary approach management of tomato spotted wilt virus in Hawaii. **Plant Disease**, St. Paul, v.73, p.375-383, 1989.
- CHO, J.J.; MAU, R.F.L.; HAMASAKI, R.T.; GONSALVES, D. Detection of tomato spotted wilt virus in individual thrips by Enzyme Linked Immunosorbent Assay. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, p.1348-1352, 1988.
- CHO, J.J.; MITCHEL, W.C.; MAU, R.F.L.; SAKIMURA, K. Epidemiology of tomato spotted wilt virus in Hawaii. **Plant Disease**, St. Paul, v.71, p.505-508, 1987.
- COOPER, J.I.; JONES, A.T. Responses of plants to viruses: Proposal for the use of terms. **Phytopathology**, St. Paul, v.73, n.2, p.127-128, 1983.
- COSTA, A.S. Feijoeiro manteiga, planta teste para os vírus de vira-cabeça e da necrose branca do fumo. **Bragantia**, Campinas, v.16, n.4, p.45-66, out. 1957.

- COSTA, A.S. Observações sobre vira-cabeça em tomateiros. **Bragantia**, Campinas, v.4, p.489-508, jan./jun. 1944.
- COSTA, A.S.; CARVALHO, A.M.B.; COSTA, C.L.; NAGAI, H. Moléstia de vírus do tomateiro. **Boletim de campo**, Campinas, v.183, p.8-26, 1964.
- COSTA, A.S.; FORSTER, R. Identidade do vírus de vira-cabeça e sua inclusão no grupo "spotted wilt". **Bragantia**, Campinas, v.1, n.7, p.491-516, jul. 1941.
- COSTA, A.S.; FORSTER, R. Lista de hospedeiros do vírus de vira-cabeça. **Bragantia**, Campinas, v.2, n.3, p.83-91, mar. 1942.
- COSTA, A.S.; FORSTER, R. A transmissão mecânica de vira-cabeça por fricção do suco. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.13, p.249-252, 1938.
- COSTA, A.S.; FORSTER, R.; FRAGA JÚNIOR, C. Controle de vira-cabeça do tomate pela destruição do vetor. **Bragantia**, Campinas, v.10, n.1, p.1-9, jan. 1950.
- COSTA, C.L.; COSTA, A.S. Controle de vira-cabeça do tomateiro pela combinação de tratamento inseticida com o aumento do número de plantas por cova. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Piracicaba, v.4, p.75-77, 1971.
- COSTA, C.L.; COSTA, A.S. Controle de vira-cabeça do tomateiro pela destruição do vetor. IV. Novas comparações de inseticidas foliares com um granulado sistêmico. **Revista de Olericultura**, Fortaleza, v.12, p.120-121, 1972.
- COSTA, C.L.; COSTA, A.S.; NAGAI, H. Controle de vira-cabeça do tomateiro pela destruição do vetor. III. Efeito de inseticida sistêmico granulado combinado com pulverizações. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.2, p.23-24, mar. 1977.
- CUPERTINO, F.P.; ÁVILA, A.C.; ARAÚJO, M.T.; KITAJIMA, E.W. Caracterização de isolados de vira-cabeça para emprego em programa de melhoramento do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.2, p.525, jul. 1981.
- CUPERTINO, F.P.; ÁVILA, A.C.; ARAÚJO, M.T.; MALUF, W.R. Fontes de resistência ao vírus de vira-cabeça em *Lycopersicon*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n.2, p.330, jul. 1986.
- DUVAL, C.M. Metodologia de avaliação de germoplasma de *Lycopersicon* visando resistência ao vírus de vira-cabeça do tomateiro e obtenção de híbridos entre *L. esculentum* x *L. peruvianum*, através de cultura de tecidos. Brasília: UnB, 1992. 118p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).
- DUVAL, C.M.; CALDAS, L.S.; CUPERTINO, F.P. Obtenção por cultura de embriões de híbridos entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum*, resistentes a tospovirus. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.11, n.1, p.14-17, maio 1993.

- EDWARDSON, J.R.; CHRISTIE, R.G. Viruses infecting forage legumes. Tomato Spotted Wilt Virus. **Agricultural Experiment Stations**, Gainesville, v.3, p.563-578, Dec. 1986. (Monografia 14).
- FIELDMAN, J.M.; BONINSEGNA, J.A. Antiserum for tomato spotted wilt virus. **Nature**, London, v.219, n.5149/5152, p.183-184, July 1968.
- FINLAY, K.W. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato. II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. **Australian Journal Biology Sciences**, Victoria, v.6, p.153-163, 1953.
- FINLAY, K.W. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato. I. Identification of strains of the virus by the resistance or susceptibility of tomato species. **Australian Journal Scientific Research**, Melbourne, v.5, p.303-314, 1952.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Production Yearbook - 1989**. Roma: Itália, 1990, v.43. 346p.
- FORSTER, R.; COSTA, A.S. Nota preliminar sobre a moléstia "vira-cabeça" do fumo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.13, p.69-78, 1938.
- FRANCKI, R.I.B.; FAUQUET, C.M.; KNUDSON, D.L.; BROWN, F. Classification and nomenclature of viruses. Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology**, New York, v.2, p.1-450, 1991. (Supplement).
- FRANCKI, R.J.B.; HATTA, T. Tomato spotted wilt virus. In: KURSTAK, E. (ed.). **Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis**. New York: North Holland Biomedical Press, 1981. p.491-512.
- GONSALVES, D.; TRUJILLO, E.E. Tomato spotted wilt virus in papaya and detection of the virus by ELISA. **Plant Disease**, St. Paul, v.70, n.6, p.501-506, June 1986.
- HAAN, P. de; KORMELINK, R.; RESENDE, R.O.; POELWIJK, F. van; PETERS, D.; GOLDBACH, R. Tomato spotted wilt virus LRNA encodes a putative RNA polymerase. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.72, n.9, p.2207-2216, 1991.
- HOKAMA, K.; MONDAIL, S.N. Effect of temperature on symptom expression of tomato spotted wilt virus in cucumber and *Nicotiana glutinosa*. **Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushi**, v.34, n.63, p.21-4, 1988. In: REVIEW OF PLANT PATHOLOGY, Richmond, v.69, n.6, p.362, 1990. (Abst. 2917).
- HOLMES, F.O. Resistance to spotted wilt in tomato. **Phytopathology**, St. Paul, v.38, p.467-473, 1948.

- HUTTON, E.M.; PEAK, A.R. Spotted wilt development in resistance and susceptible *Lycopersicon* species. **Australian Journal Agricultural Research**, Victoria, v.4, p.160-170, 1953.
- IBGE. Anuário Estatístico do Brasil. Rio de Janeiro, v.50, 1990. 783p.
- IE, T.S. Tomato spotted wilt virus. Commonwealth Mycological Institute/Association of Applied Biologist (C.M.I./A.A.B.). **Description of Plant Viruses**, Surrey, n.39, 1970. 4p.
- JENKINS, J.A. The origin of the cultivated tomato. **Economic Botany**, New York, v.2, p.379-392, 1948.
- KIKUTA, K.; HENDRIX, J.W.; FRAZIER, W.A. **Pearl Harbor, a tomato variety resistant to spotted wilt in Hawaii**. Honolulu: University of Hawaii Agricultural Experiment Station, 1945. (Circular 24).
- KORMELINK, R.; KITAJIMA, E.W.; de HAAN, P.; ZUIDEMA, D.; PETERS, D.; GOLDBACH, R. The nonstructural protein (NSa) encoded by the ambisense SRNA segment of tomato spotted wilt virus is associated with fibrous structures in infected plant cells. **Virology**, New York, v.181, p.459-468, 1991.
- LIMA, J.A. Principais problemas de plantas ocasionados por vírus no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n.2, p.263-264, jul. 1986. (In: Simpósio Latino Americano de Virologia Vegetal).
- LIMA NETO, V. da C.; LIMA, M.L.R. da C.; SOUZA, V.B.V. de; TOMAZ, R.; NIEDERHEITMANN, R.E. Vira-cabeça do tomateiro; problema para a cultura na região metropolitana de Curitiba. **Revista Setor Ciências Agrárias**, Curitiba, v.10, n.1/2, p.29-31, 1988.
- MALUF, W.R.; TOMA-BRAGHINI, M.; CORTE, R.D. Progress in breeding tomatoes for resistance to tomato spotted wilt. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.14, n.2, p.509-525, Apr. 1991.
- MOHAMED, N.A. Isolation and characterization of subviral structures from tomato spotted wilt virus. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.53, p.197-206, 1981.
- MOHAMED, N.A.; RANGLES, J.W.; FRANCKI, R.J. Protein composition of tomato spotted wilt virus. **Virology**, New York, v.56, p.12-24, 1973.
- NAGAI, H.; COSTA, A.S. Fontes de resistência as moléstias de vírus do tomateiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Piracicaba, v.1, n.1, p.35, fev. 1967.

- NAGAI, H.; LOURENÇÃO, A.L.; SIQUEIRA, W.J. Advances in tomato breeding for spotted wilt virus and leafminer resistance in Brazil. In: INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS: INTEGRATED MANAGEMENT FOR CROP PROTECTION, 12, Rio de Janeiro, Brazil, 1991. **Resumos...** Rio de Janeiro, 1991. s.p.
- PATERSON, R.G.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Resistance in two *Lycopersicon* species to an Arkansas isolated of tomato spotted wilt virus. **Euphytica**, Wageningen, v.43, n.1, p.173-178, Jan. 1989.
- PAVAN, M.A. Sintomas de vira-cabeça só em frutos. Explicação do fato com base no estudo de alguns parâmetros relacionados com a epidemiologia da doença. Piracicaba: ESALQ, 1992. 93p. (Tese -- Doutorado em Agronomia).
- QUIROS, C.F. Phylogeny of the tomato species. **Tomato Genetics Cooperative**, Davis, v.24, p.19-20, 1974.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B.; CAFÉ FILHO, A.C.L.; DUSI, A.N.; KITAJIMA, E. W. Brown pod, a disease caused by tomato spotted wilt virus on peas in Brazil. **Tropical Pest Management**, London, v.35, n.3, p.304-306, 1989.
- RESENDE, R.O. **Generation and characterization of mutants of tomato spotted wilt virus.** Wageningen: Wageningen Agricultural University, 1993. 115p. (Tese - Doutorado em Virologia de Plantas).
- RESENDE, R. de O.; DE ÁVILA, A.C.; GOLDBACH, R; PETERS, D. Comparison of polyclonal antisera in the detection of tomato spotted wilt virus using the double antibody sandwich and cocktail ELISA. **Journal of Phytopathology**, Amsterdam, v.132, p.46-56, 1991.
- RICK, C.M.; FOBES, J.F. Allozyme variation in the cultivated tomato and closely related species. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, New York, v.102, p.376-384, 1975.
- RONCO, A.E.; DALBÓ, E.; GHIRINGHELLI, P.D.; IMENDRANO, C.; ROMANOVSKI, V.; SARACHU, A.N.; GRAU, O. Cloned DNA probes for the detection of tomato spotted wilt virus. **Phytopathology**, St. Paul, v.79, n.11, p.1309-1313, Nov. 1989.
- SILVA, F.E.; CASALI, V.W.D. **Cultura do tomateiro.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1979. 33p.
- SIQUEIRA, W.J.; FONSECA, M.I.S.; SONDHAL, M. Regeneração de plantas híbridas entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum* a partir de calos com dois anos de cultura "in vitro". **Bragantia**, Campinas, v.47, n.1, p.1-8, 1988.
- SMITH, P.G. Embryo culture of tomato species hybrid. **American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.44, p.423-426, 1944.

- SMITH, P.G.; GARDNER, W. Resistance in tomato to the spotted wilt virus. **Phytopathology**, St. Paul, v.41, p.257-260, 1951.
- SONNEMBERG, P.E. Cultura do tomateiro. In: _____. **Olericultura Especial**. Primeira parte. 5.ed. Goiânia, 1985. p.123-188.
- STEVENS, M.R.; SCOTT S.J.; GERGERICH, R.C. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. **Euphytica**, Wageningen, v.59, n.1, p.9-17, 1991.
- TAS, P.W.L.; BOKERJAN, M.L.; PETERS, D. The structural proteins of tomato spotted wilt virus. **Journal of General Virology**, Essex, v.36, p.267-279, 1977.
- TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T. Doenças do tomateiro. In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de Fitopatologia; doenças das plantas cultivadas**. 2.ed. São Paulo: Ceres, 1980. v.2, p.511-552.
- VAN DEN HURK, J.; TAS, P.W.L.; PETERS, D. The ribonucleic acid of tomato spotted wilt virus. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.36, p.81-85, 1977.
- VAN ZIJL, J.J.B.; BOSH, S.E.; COETZEE, C.P.J. Breeding tomatoes for processing in South Africa. **Acta Horticulturae**, La Plata, v.194, p.69-75, 1986.
- WARNOCK, S.J. A review of taxonomy and phylogeny of the genus *Lycopersicon*. **Hortscience**, Alexandria, v.23, n.4, p.669-673, 1988.
- YUKI, V.A.; COSTA, A.S. Epidemiologia do vírus do vira-cabeça em Campinas, SP, mantém-se estável em 50 anos. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.14, n.1/2, p.56, jan./jun. 1988.

3 HIPÓTESES

1. A metodologia de duas ou três inoculações mecânicas consecutivas com intervalo semanal para o vírus de vira-cabeça do tomateiro poderá permitir a discriminação de plantas resistentes das susceptíveis em cada progênie testada;
2. É possível determinar a herança da resistência nas linhagens oriundas da variedade Rey de Los Tempranos; utilizando isolados fortes e necróticos do vírus com alta agressividade em tomateiros susceptíveis;
3. Os métodos de preservação de isolados de Tospovirus disponíveis podem permitir a manutenção da infectividade e integridade do patógeno;
4. Confirmar-se-á ou não que a resistência originária de Rey de Los Tempranos e introgridida nos "backgrounds" genéticos Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara é controlada supostamente por alelo ou alelo(s) recessivo(s);
5. A resistência ao vírus presente na cultivar Stevens, originária da África do Sul, portadora de um gene dominante de resistência poderá ser estável frente aos isolados brasileiros.

4 REAÇÃO DE LINHAGENS AVANÇADAS DE TOMATEIRO A ISOLADOS DE TOSPOVIRUS*

RESUMO

A reação de cinco linhagens de tomateiro foram avaliadas por inoculação mecânica de 7 isolados de Tospovirus de diferentes agressividades, coletados em diferentes locais. As linhagens testadas foram as cultivares Ângela Gigante I 5100 e Santa Clara (suscetíveis) bem como Rey de Los Tempranos, TSWV-547 e TSWV-556 (consideradas resistentes), sendo Rey de Los Tempranos a fonte comum da resistência. As linhagens TSWV-547 e TSWV-556 correspondem a genótipos de base genética semelhante a Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara, respectivamente. Realizaram-se 2 inoculações mecânicas, com intervalo de 7 dias entre elas, utilizando-se 56 plantas para cada isolado, com 3 repetições (blocos) em épocas diferentes. Oito plantas inoculadas com tampão fosfato 0,01M, pH 7,0, mais sulfito de sódio a 0,01M, constituíram o controle em cada parcela. A avaliação de plantas individuais foi feita aos 12 e 20 dias após a segunda inoculação e demonstrou uma maior severidade de sintomas para os isolados mais agressivos e necróticos de Lavras-MG e Uberlândia-MG, possibilitando a distinção das linhagens resistentes e susceptíveis. Não ocorreu interação diferencial entre os isolados e linhagens

* Trabalho publicado com algumas modificações na Revista Fitopatologia Brasileira, v.19, n.1, p.62-68, mar. 1994.

avaliadas. Estes resultados indicam a possibilidade do uso de isolados mais agressivos no estudo da herança da resistência proveniente de Rey de Los Tempranos, que parece ser do tipo parcial, porém efetiva contra uma ampla gama de isolados.

SUMMARY

The reaction of four tomato breeding lines inoculated mechanically with Brazilian isolates of tomato spotted wilt virus (TSWV) with varying degrees of aggressiveness and sampled in different locations was studied. The susceptible lines Ângela Gigante I-5100 and Santa Clara and the resistant lines Rey de Los Tempranos, TSWV-547 and TSWV-556 were evaluated. Rey de Los Tempranos was the common source of resistance. The genetic backgrounds of lines TSWV-547 and TSWV-556 are nearly isogenic to Ângela Gigante I-5100 and Santa Clara, respectively. Two inoculations were accomplished with a 7 days interval. Fifty six plants were inoculated for each isolate, with 3 replications (blocks) at different dates. Controls were groups of eight plants inoculated with a 0.01M phosphate buffer, pH = 7,0, with 0.01M sodium sulphite. The evaluation of plants at 12 and 20 days after the second inoculation, showed more severe symptoms with isolates from Lavras-MG and Uberlândia-MG, allowing the discrimination among resistant and susceptible lines. Differential interaction did not occur between the isolates and lines. These results indicated the possibility of using more aggressive isolates in the study of the

inheritance of resistance derived from Rey de Los Tempanos, which seems to be a partial resistance, but effective against an extensive range of isolates.

4.1 INTRODUÇÃO

Diversos isolados anteriormente descritos como o vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV) têm sido mencionados como agentes causais de doenças de importância para o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) no Brasil (Ávila, 1992 e 1993a). O patógeno infecta um número grande de hospedeiros naturais e experimentais. O vírus infecta no mínimo 550 espécies de plantas, incluindo mono e dicotiledôneas, em cerca de 70 famílias botânicas (Ávila, 1993a). O complexo viral pode induzir uma ampla variedade de sintomas, os quais, podem variar com a espécie hospedeira, idade, estado nutricional da planta e condições ambientais. A espécie do vírus, o genótipo do hospedeiro e seu estágio de desenvolvimento também influenciam na sintomatologia predominante.

As partículas dos tospovirus são transmitidas por diversas espécies de tripses (Thysanoptera: Thripidae). Estas são adquiridas no estágio larval dos insetos, cabendo ao inseto adulto sua transmissão de forma persistente, (Ie, 1970; Francki e Hatta, 1981). Forster e Costa (1938) descreveram *Frankliniella paucispinosa* como transmissora de Tospovirus. Segundo estes autores *Thrips tabaci*, apesar de ocorrer comumente, parece não ser de importância como vetor do vira-cabeça do tomateiro. As importantes espécies hospedeiras incluem culturas economicamente importantes como o tomateiro (*L. esculentum* Mill), pimentão (*Capsicum annum* L.), amendoim (*Arachis hipogea* L.), abacaxi [*Ananas comosus* L. (Merril)] e a alface (*Lactuca sativa* L.) (Best, 1968; Cho et al., 1987).

No Brasil, a ocorrência de epifitotias frequentes do vírus durante os meses quentes pode causar prejuízos totais à cultura do tomate, destruindo a planta ou causando desvalorização dos frutos já formados (Tokeshi e Carvalho, 1980).

Apesar da possibilidade de manejo da doença com o controle químico do inseto vetor (Francki e Hatta, 1981; Costa, Costa e Nagai, 1977), os problemas de reinfestações do vetor virulífero são relevantes, considerando o grande número de hospedeiros do vírus. Estudos prévios para identificar métodos alternativos de controle da doença, através de extratos inibidores naturais de plantas (Noronha et al., 1989) ou mesmo produtos com efeito antiviral, como ácido acetil salicílico e ácido poliacrílico (Fazio, Kudamatsu e Vicente, 1987), demonstraram alguns resultados positivos experimentalmente.

Dentre um sistema de manejo integrado para a doença, a resistência varietal ainda é o método ideal de controle do vírus, desde que sejam combinadas fontes de resistência adequadas, pois a resistência ao vírus, dependendo da fonte, pode ser poligênica, onde os genes individuais de resistência são específicos para certas estirpes do vírus (Finlay, 1952 e 1953; Paterson, Scott e Gergerich, 1989) ou monogênica (Stevens, Scott e Gergerich, 1991). Fontes de resistência a *Tospovirus* têm sido encontradas em *Lycopersicon* (Kikuta, Hendrix e Frazier, 1945 e 1946; Finlay, 1952 e 1953; Nagai e Costa, 1967; Eskes e Nagai, 1981; Nagai, Lourenção e Siqueira, 1991; Araújo et al., 1983; Upreti e Hartmann, 1984; Cupertino et al., 1986 e 1990; Maluf, Toma-Braghini e Corte, 1991 e Stevens, Scott e Gergerich, 1991).

No Brasil, Maluf, Toma-Braghini e Corte (1991) conseguiram incorporar gene(s) de resistência do acesso Rey de Los Tempranos, uma fonte de resistência em *L. esculentum*, em "backgrounds" genéticos comerciais de ampla aceitação no Brasil. Segundo os autores a resistência encontrada em Rey de Los Tempranos é possivelmente controlada por alelo(s)

recessivo(s). Outro germoplasma de *L. esculentum* resistente ao vírus é a cultivar Stevens originária de um programa de melhoramento na África do Sul e relatada como portadora de um gene dominante proveniente de *L. peruvianum* que controla a resistência ao vírus (Stevens, Scott e Gergerich, 1991).

Os objetivos deste trabalho são de relatar a reação de diferentes linhagens obtidas a partir de Rey de Los Tempranos (*L. esculentum* Mill.), tidas como susceptíveis ou resistentes ao vírus, a isolados de tospovirus de diferentes procedências e agressividades.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Seleção das linhagens de *L. esculentum*

Vinte e uma linhagens quase isogênicas à cultivar Santa Clara oriundas a partir do cruzamento que envolveu o acesso Rey de Los Tempranos e que receberam o código BPX-292 foram avaliadas em casa-de-vegetação quanto à reação a um isolado agressivo de Tospovirus, sendo usada a cultivar Santa Clara como testemunha suscetível e a linhagem (TSWV-547) quase isogênica à Ângela Gigante I-5100, como resistente. A linhagem TSWV-547, previamente descrita como BPX-276 pl \neq 55, por Maluf, Toma-Braghini e Corte (1991), teve sua resistência procedente do acesso Rey de Los Tempranos.

O inóculo foi extraído de folhas de fumo TNN (*Nicotiana tabacum* L.) com sintomas sistêmicos da infecção por um isolado agressivo de Tospovirus (Barbosa e Figueira, 1990), por maceração de folhas infectadas em almofariz na proporção de 4 g de folhas/20 ml de tampão fosfato gelado 0,01M, pH = 7,0, contendo sulfito de sódio a 0,01M (Duval, 1992). As

plantas foram obtidas nas bandejas de isopor do tipo "speedling" contendo 128 células nas dimensões 3,5 cm x 3,5 cm x 6 cm e cultivadas em composto orgânico. Em cada bandeja foram deixadas 24 plantas inoculadas apenas com o tampão para controle. As 96 plantas restantes no estágio de 2 pares de folhas definitivas (18 dias de idade) foram inoculadas mecanicamente após fricção com carborundum 300 mesh. Aos 12 e 20 dias após a inoculação, cada planta foi avaliada pela severidade de sintomas de TSWV, com base em uma escala de 1 a 5, onde 1 = plantas aparentemente saudáveis; 2 = plantas com sintomas leves, ligeiro amarelecimento, arroxamento dos folíolos e desenvolvimento normal; 3 = plantas com arroxamento mais severo dos folíolos com presença de alguns anéis e pontos necróticos, nos folíolos superiores e/ou tombamento do ponteiro para baixo (epinastia); 4 = plantas com arroxamento e/ou amarelecimento severo com redução acentuada no crescimento e necrose severa dos folíolos; 5 = necrose severa em toda planta ou planta morta.

4.2.2 Obtenção e caracterização dos isolados

Os isolados foram obtidos de tomateiros em áreas olerícolas nos municípios de Lavras-MG, Uberlândia-MG e São João Del Rey-MG. Após testes prévios de inoculação mecânica, conforme procedimento anterior nas indicadoras *Datura stramonium* L., *L. esculentum* Mill. (cultivar Kada) e *N. tabacum* L. (TNN) com 3-4 pares de folhas definitivas, os isolados foram selecionados segundo o seu comportamento, quanto à rapidez em incitar sintomas e tipo de sintomatologia apresentado pelas indicadoras. Foram estudados 7 isolados, sendo 4 provenientes de Lavras, 2 de Uberlândia e 1 de São João Del Rey-MG. Em seguida os isolados foram enviados

ao Dr. Antônio Carlos de Ávila (CNPQ-EMBRAPA) e ao Dr. Francisco P. Cupertino (UnB-Brasília), para caracterização com base nas espécies de *Tospovirus*.

4.2.3 Estado da reação de 5 linhagens de *L. esculentum* perante 7 isolados de *Tospovirus*

Neste ensaio foram utilizadas as linhagens susceptíveis Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara e as resistentes Rey de Los Tempranos, TSWV-547 e TSWV-556. As duas últimas correspondem a “backgrounds” genéticos quase isogênicos à Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara, respectivamente. Os isolados utilizados foram previamente caracterizados no item 4.2.2.

As inoculações foram realizadas em 56 plantas semeadas em bandejas contendo substrato orgânico “Plantmax”, de modo semelhante ao ensaio anterior. Oito plantas em cada 1/2 bandeja (parcela) constituíram testemunhas, inoculadas apenas com a solução tampão. A inoculação foi repetida 7 dias após para evitar escapes, conforme o recomendado por Paterson, Scott e Gergerich (1989). As plantas inoculadas foram mantidas em casa-de-vegetação com registro diário de temperaturas mínimas e máximas. O ensaio foi repetido por três vezes em épocas diferentes (blocos) constituindo assim um delineamento experimental do tipo blocos ao acaso, em esquema fatorial nas parcelas (linhagens x isolados), subdivididas no tempo (data avaliação) (Steel e Torrie, 1980). As avaliações foram realizadas aos 12 e 20 dias após a segunda inoculação, observando-se a severidade de infecção, conforme relatado anteriormente. Procedeu-se a análise de variância para as médias de cada parcela e realizou-se o teste de Tukey a 5% e 1% de probabilidade pelo software Sanest, segundo Pimentel Gomes (1990).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Seleção das linhagens de *L. esculentum*

Os resultados da Tabela 1, para as duas avaliações, identificaram as progênes BPX-292B pl ≠ 133, pl ≠ 134, pl ≠ 136, pl ≠ 143, pl ≠ 146, pl ≠ 148, pl ≠ 166 e pl ≠ 167, como resistentes ao isolado testado, com níveis de infecção zero ou abaixo de 11%. Em contrapartida, a cultivar Santa Clara apresentou 67% das plantas inoculadas com sintomas. Observou-se reação diferenciada das diversas linhagens frente ao patógeno (Tabela 1), nas plantas inoculadas com o vírus. As linhagens TSWV-547 e BPX-292B pl ≠ 166 (TSWV-556), quase isogênicas a Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara, respectivamente, que apresentaram 0% de infecção ao isolado testado foram selecionadas para o segundo experimento. Finlay (1953) relatou a resistência de Rey de Los Tempranos a sete estirpes de TSWV de um total de dez testadas. Quatro genes (Sw^b_1 , sw_2 , sw_3 e sw_4) foram descritos como responsáveis por esta resistência. Maluf, Toma-Braghini e Corte (1991) tendo como base o acesso Rey de Los Tempranos no programa de melhoramento e após 6 anos de testes em campo conseguiram incorporar o(s) gene(s) dessa fonte nas linhagens selecionadas neste ensaio. Neste caso, os autores relataram a ação da resistência com a finalidade de reduzir perdas na cultura (Resistência Parcial - Maluf, 1993 - Comunicação pessoal). Fraser (1990) supõe que sistemas oligogênicos similares à resistência parcial poderão conferir maior estabilidade perante as variações de vírus de plantas em condições de campo.

Os isolados selecionados para estudos mais avançados estão na Tabela 2. Com base nas 3 indicadoras utilizadas os isolados 1, 2, 5 e 7 foram considerados como de maior agressividade dado a rapidez no desenvolvimento de sintomas sistêmicos e presença de anéis,

TABELA 1 - Reação de linhagens avançadas de *L. esculentum* Mill. após uma inoculação mecânica de um isolado de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1991.

Linhagens ¹	Nota - Severidade média ² (Incidência) ³	
	12 dias	20 dias
BPX-292B pl#133	1,00 (0%)	1,10 (7,4%)
BPX-292B pl#134	1,01 (1,06%)	1,17 (9,6%)
BPX-292B pl#135	2,11 (38,7%)	2,71 (61,3%)
BPX-292B pl#136	1,00 (0%)	1,00 (5,3%)
BPX-292B pl#143	1,00 (0%)	1,20 (10,2%)
BPX-292B pl#146	1,02 (2,1%)	1,15 (10,5%)
BPX-292B pl#148	1,03 (2,08%)	1,09 (8,3%)
BPX-292B pl#151	1,14 (10,53%)	1,22 (16,8%)
BPX-292B pl#154	1,03 (1,05%)	1,28 (17,9%)
BPX-292B pl#155	1,00 (0%)	1,58 (47,9%)
BPX-292B pl#156	1,32 (13,83%)	1,66 (43,6%)
BPX-292B pl#159	1,53 (22,58%)	1,77 (32,2%)
BPX-292B pl#161	1,16 (8,14%)	1,55 (27,9%)
BPX-292B pl#162	1,06 (6,38%)	1,49 (39,4%)
BPX-292B pl#163	1,68 (35,42%)	2,33 (59,4%)
BPX-292B pl#164	1,36 (19,35%)	1,43 (22,6%)
BPX-292B pl#165	2,06 (49,47%)	2,74 (72,6%)
BPX-292B pl#166	1,00 (0%)	1,00 (0%)
BPX-292B pl#167	1,02 (2,08%)	1,05 (3,1%)
BPX-292B pl#171	1,11 (3,41%)	1,57 (23,9%)
BPX-292B pl#173	1,18 (9,38%)	1,68 (35,4%)
TSWV 547 ⁴	1,00 (0%)	1,00 (0%)
Santa Clara ⁵	2,60 (46,8%)	3,16 (67%)

¹ Linhagens obtidas a partir da fonte original o Rey de Los Tempranos para o "background" Santa Clara.

² Média de 96 plantas inoculadas com Tospovirus (notas de 1 a 5).

³ Incidência (entre parêntesis) - Percentagem de plantas infectadas após uma inoculação mecânica.

⁴ Linhagem "background" Ângela Gigante I-5100 com resistência a Tospovirus oriunda de Rey de Los Tempranos.

⁵ Cultivar Suscetível.

TABELA 2 - Reação de plantas ou hospedeiras diferenciadoras a 7 isolados de tospovirus após inoculação mecânica. ESAL, Lavras, 1991.

Isolados	Nível Agressividade	Reação nas indicadoras		
		<i>L. esculentum</i> Mill. (Kada)	<i>Datura stramonium</i> L.	<i>N. tabacum</i> L. (TNN)
1. Lavras-MG ¹	+++ ²	LS, AN, NA ³	LS, AN, NA, DF	LS, AN, NA
2. Lavras-MG	+++	LS, AN, NA	LS, AN, NA, DF	LS, AN, NA
3. Lavras-MG	++	LS, AR, NA	LS, AN, NA, DF	LS, AN, NA
4. Lavras-MG	+	LS, AN, DN	LS, AN, DN, DF	LS, AN, DN
5. Uberlândia-MG	+++	LS, AN, NA	LS, AN, NA, DF	LS, AN, NA
6. Uberlândia-MG	++	LS, AR, NA	LS, AN, NA, DF	LS, AN, NA
7. São João Del Rey-MG	+++	LS, AN, NA	LS, AN, NA, DF	LS, AN, NA

¹ +++ - Alta agressividade (10 dias); ++ - Média agressividade (15 dias); + - Baixa agressividade (20 dias) - (rapidez no desenvolvimento de sintomas)

² Isolado obtido na linhagem TSWV-556 em condições de campo

³ Lesões e mosaico sistêmicos (LS); Anéis necróticos (AN); Nanismo (NA); distorções foliares (DF); Arroxamento (AR) e Desenvolvimento normal da planta (DN).

necrose e nanismo nas indicadoras testadas. Os isolados 3 e 6 foram considerados de média agressividade dado a um retardamento de sintomas nas indicadoras e presença de arroxamento intenso nas plantas de tomate Kada, com presença de anéis necróticos em fumo TNN e datura (*Datura stramonium* L.).

O isolado 4 foi considerado de baixa agressividade por apresentar sintomas tardios nas indicadoras, embora apresentasse anéis necróticos nas três espécies testadas. Os isolados de média e alta agressividade de Uberlândia-MG foram obtidos na mesma lavoura de tomateiro "Kada". Descarta-se a possibilidade dos isolados menos agressivos conterem "defective interfering L-RNAs" -DI (Resende *et al.*, 1992), dado apresentarem esta característica de sintomas atenuados

nos locais de coleta no campo, além de serem mantidos por enxertia em tomateiro "Kada". Cupertino *et al.* (1981) relataram a ocorrência de isolados de Tospovirus mais agressivos e necróticos e isolados menos agressivos que incitavam arroxamento em tomateiro. Os autores ressaltaram a importância da caracterização dos isolados do vírus para uso em programas de Melhoramento.

4.3.2 Estudo da reação de 5 linhagens de *L. esculentum* a 7 isolados de tospovirus

Os resultados na Tabela 3 demonstraram não haver interação entre isolados e linhagens, mas houve diferenças na reação dos diferentes isolados em relação ao grupo de linhagens de tomateiro testadas e vice-versa (Tabelas 4 e 5). A ausência de interação genótipos x isolados, e o efeito significativo de genótipos, indicam que a resistência dos acessos TSWV-547, TSWV-556 e de Rey de Los Tempranos parece ser do tipo horizontal, efetiva contra um grande número de estirpes e/ou isolados do vírus. A linhagem TSWV-547 apresentou um nível de resistência superior a fonte original Rey de Los Tempranos, demonstrando que esta resistência foi incorporada ao "background" Ângela Gigante I-5100. A introgressão dos genes de resistência de Rey de Los Tempranos também foi obtida no "background" Santa Clara, ou seja, na linhagem TSWV-556. Possivelmente, existam genes modificadores em Ângela Gigante I-5100 que interajam de forma mais eficiente com o gene ou genes de Rey de Los Tempranos elevando o nível da resistência ao vírus de vira-cabeça do tomateiro (Maluf, Toma-Braghini e Corte, 1991). Os resultados demonstram a eficiência da inoculação mecânica para reproduzir os resultados de campo relatados por Maluf, Toma-Braghini e Corte (1991).

TABELA 3 - Quadro de Análise de Variância para cinco linhagens de tomateiro inoculadas com sete isolados de Tosspovirus em duas épocas de avaliação. ESAL, Lavras-MG, 1991.

Causas da variação	G.L.	Q.M.	Valor de F	Prob. > F
Blocos (épocas)	2	15,8549093	21,4642	0,00001
Linhagens	4	9,8816992	13,3778	0,00001
Isolados	6	12,309116	16,6529	0,00001
Lin. x Isol.	24	0,3404867	0,4609	0,98162
Resíduo (A)	68	0,7386659		
Parcelas	104	203,44304		
Avaliação	1	28,4611242	11,7644	0,07408
Resíduo (B) ¹	2	2,419256		
Lin. x Aval.	4	0,4438016	4,8262	0,00207
Isol. x Aval.	6	0,3029598	3,2946	0,00683
Lin. x Isol. x Aval.	24	0,0652303	0,7094	0,82491
Resíduo (C)	68	0,0919577		
Total	209	248,154299		

Coefficiente de variação (A) = 33,81%

Coefficiente de variação (C) = 11,93%

¹ Resíduo (B) corresponde a interação Blocos x Avaliação

Na Tabela 4 estão relacionadas as espécies TSWV e TCSV de Tosspovirus, relatadas por Ávila et al. (1993b), com base na divergência da proteína do nucleocapsídeo. O mesmo autor refere que as espécies tomato spotted wilt virus (TSWV), tomato chlorotic spot (TCSV) e groundnut ring spot virus (GRSV) e outras espécies devem ser identificadas com base na sorologia e seqüência de nucleotídeos do genoma viral (Ávila et al., 1993a). Mas, relatos recentes de Nagata et al. (1993) e Boiteux e Ávila (1993) reforçam a utilização da pimenteira

CNPH 679 (PI 159236), para separar isolados pertencentes a espécie tomato spotted wilt virus (TSWV), para os quais o gene dominante da pimenteira CNPH 679 é altamente efetivo. Isolados de TCSV e GRSV, quebram a resistência conferida por este gene (Boiteux e Ávila, 1993).

TABELA 4 - Reação média de severidade de sintomas para isolados de Tospovirus, após inoculação mecânica em cinco linhagens de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). ESAL, Lavras-MG, 1991.

Isolados	Agressividade/sintomas em <i>L. esculentum</i>	Espécie Tospovirus	Média severidade	
			5%	1%
Lavras-MG	Alta/lesões em anéis e necrose nas folhas ¹	TSWV* ³	3,5 a ^{4,5}	a
Lavras-MG	Alta/lesões em anéis e necrose nas folhas	TSWV* ³	2,92 b	b
Lavras-MG	Média/arroxamento dos folíolos	TCSV ²	2,05 d	d
Lavras-MG	Fraca/lesões em anéis e necrose	TCSV ²	1,97 de	d
Uberlândia-MG	Alta/lesões em anéis e necrose nas folhas	TSWV* ³	3,04 b	b
Uberlândia-MG	Média/arroxamento dos folíolos	TCSV ²	2,54 c	c
S.J. Del Rey-MG	Alta/lesões necróticas em toda a planta	TCSV ²	1,78 e	d
CV %		33,81		

¹ Isolado obtido na linhagem TSWV-556

² Isolados identificados como tomato chlorotic spot virus (TCSV) pelo Dr. de Ávila - EMBRAPA/CNPH - comunicação pessoal

³ Isolados identificados como sendo tomato spotted wilt virus (TSWV) pelo professor Francisco P. Cupertino - UNB/Brasília-DF (comunicação pessoal) - Estes isolados não infectaram a pimenteira CNPH 679 (*Capsicum chinense* L. PI 159236)

⁴ Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 e 1% de probabilidade.

⁵ Notas de 1 a 5 (1 = plantas sem sintomas visíveis e 5 = plantas mortas).

TABELA 5 - Médias para severidade de sintomas em linhagens de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), inoculadas mecanicamente com diferentes isolados de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1991.

Linhagens	Médias	5%	1%
1. TSWV-547	1,97 ¹	d	d
2. Rey de Los Tempranos	2,32	c	c
3. TSWV-556 (BPX-292-C pl ¹ 166)	2,35	c	c
4. Ângela Gigante I-5100	2,92	b	b
5. Santa Clara	3,16	a	a
CV %	33,81		

¹ Médias de 56 plantas inoculadas mecanicamente com 7 isolados de Tospovirus, com base em notas de 1 a 5.

² Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 e 1% de probabilidade.

Pelos resultados apresentados para os diferentes isolados, parece haver uma maior agressividade dos isolados pertencentes a espécie TSWV. Isolados da espécie TCSV apresentaram média e baixa agressividade às linhagens utilizadas no presente trabalho. Visualiza-se a estabilidade da resistência das linhagens TSWV-547 e TSWV-556 para os diferentes isolados do vírus pertencentes às duas espécies de Tospovirus testadas no presente trabalho (Tabela 5).

Os isolados mais agressivos de Uberlândia-MG e Lavras-MG foram selecionados para o estudo da herança da resistência nas linhagens avaliadas. Hutton e Peak (1953) observaram que sob efeito de altas temperaturas os isolados que provocam de lesões em anéis podem mutar para tipos necróticos apenas, que são menos agressivos, fatos estes que podem explicar o comportamento do isolado de São João Del Rey-MG que após inoculações sucessivas por vários meses em casa-de-vegetação teve sua agressividade reduzida. Os demais isolados foram mantidos

por enxertia de garfagem em tomateiro "Kada". Segundo Ie (1982) transferências sucessivas do extrato viral tendem a aumentar a presença de massas amorfas e escuras no citoplasma da planta hospedeira, enquanto as partículas esféricas do vírus tornam-se menos freqüentes, podendo eventualmente obter-se isolados que produzem apenas massas amorfas e nenhuma partícula completa do vírus. Esses isolados são chamados de defectivos e foram também estudados por Verkleij e Peters (1983), sendo caracterizados pela ausência de partículas envelopadas, inteiramente desenvolvidas (Kitajima et al., 1991). Trabalhos mais recentes de Ávila et al. (1990) e Resende et al. (1991) comprovam estas observações. Segundo Verkleij e Peters (1983) a falta de glicoproteínas nestas formas defectivas foram causadas por mutações de ponto no M-RNA, impedindo assim a transmissão do vírus por tripes vetores.

Para trabalhos de avaliação de germoplasma visando resistência ao vírus, uma das dificuldades é a manutenção e multiplicação de isolados. As inoculações mecânicas sucessivas do vírus, podem gerar o aparecimento de segmentos interferentes de L-RNA ("defective interfering L-RNA" - DI), devido a deleções no L-RNA normal (Resende et al., 1991, 1992). As partículas "DI" possuem um genoma defectivo necessitando assim de partículas do vírus selvagem (L-RNA normal) para sua multiplicação. Neste caso, a presença de genoma viral do tipo interferente está freqüentemente associado com a atenuação de sintomas (Resende et al., 1991). Estas observações refletem o comportamento do isolado de São João Del Rey - MG que possivelmente deve ser um isolado com partículas do tipo DI, dada a redução acentuada de sintomas, após inoculações mecânicas em casa de vegetação por 2 anos.

As avaliações das linhagens quanto à severidade de sintomas demonstraram que a avaliação aos 20 dias após a segunda inoculação foi mais eficiente para discriminar os germoplasmas resistentes e suscetíveis em relação a avaliação aos 12 dias (Juliatti et al., 1992).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, M.T.; ÁVILA, A.C.; CUPERTINO, F.P.; MALUF, W.R. (*L. hirsutum*) nova fonte de resistência ao vírus de vira-cabeça (TSWV). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 23, Rio de Janeiro, 1983. Resumos... Rio de Janeiro, SOB, 1983. p.164.
- ÁVILA, A.C. **Diversity of Tospoviruses**. Wageningen: Wageningen Agricultural University, 1992. 135p. (Tese - Doutorado em Virologia de Plantas).
- ÁVILA, A.C. Virus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV): Organização do genoma, taxonomia, diagnose e controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.11, n.2, p.179-183, mar. 1993.
- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; KORMELINK, R.; RESENDE, R.O.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Classification of tospoviruses based on phylogeny at nucleoprotein gene sequences. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.74, p.153-59, 1993a.
- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; SMEETE, M.L.L.; RESENDE, R. de O. ; KORMELINK, R.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Distinct levels fo relationship between tospovirus isolates. **Archives of Virology**, New York, v.128, p.211-227, 1993b.
- ÁVILA, A.C.; HUGUENOT, C.; RESENDE, R. de O.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Serological differentiation of twenty isolates of tomato spotted wilt virus (TSWV). **Journal of General Virology**, Cambridge, v.71, p.2801-2807, 1990.
- BARBOSA, C.J.; FIGUEIRA, A.R. Susceptibilidade de cultivares de tomate à estirpes do vírus de vira-cabeça do tomateiro (TSWV) identificado em Lavras-MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.137, jul. 1990. (Abstr.).
- BEST, R.J. Tomato spotted wilt virus. **Advances in virus Research**, New York, v.13, p.65-146, 1968.
- BOITEUX, L.S.; ÁVILA, A.C. Resistência ao tomato spotted wilt virus (TSWV) na linhagem de pimenta CNPH 679 controlada por um gene dominante L^{sw}. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 33, Brasília, 1993. Resumos... Brasília, 1993. 5p. (Resumo 28).
- CHO, J.J.; MITCHELL, W.C.; MAU, R.F.L.; SAKIMURA, K. Epidemiology of tomato spotted wilt virus in Hawaii. **Plant Disease**, St. Paul, v.71, p.505-508, 1987.
- COSTA, C.L.; COSTA, A.S.; NAGAI, H. Controle de vira-cabeça do tomateiro pela destruição do vetor. IV. Efeito de inseticida sistêmico granulado combinado com pulverizações. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.2, n.1, p.23-24, 1977.

- CUPERTINO, F.P.; ÁVILA, A.C.; ARAÚJO, M.T.; KITAJIMA, E.W. Caracterização de isolados de vira-cabeça para emprego em programa de melhoramento do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.2, p.525, jul. 1981. (Resumo).
- CUPERTINO, F.P.; ÁVILA, A.C.; ARAÚJO, M.T.; MALUF, W.R. Fontes de resistência ao vírus de vira-cabeça em *Lycopersicon*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.2, p.330, jul. 1986. (Resumo).
- CUPERTINO, F.P.; DUVAL, C.M.; FREITAS, M.A.; MEDEIROS, R.B.; BORN, R. Resistência múltipla a vírus e a nematóides das galhas em linhagens de *Lycopersicon peruvianum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, p.152, jul. 1990. (Resumo).
- DUVAL, C.M. Metodologia de avaliação de germoplasma de *Lycopersicon*, visando resistência ao vírus de vira-cabeça do tomateiro e obtenção de híbridos entre *L. esculentum* x *L. peruvianum*, através de cultura de tecidos. Brasília: Universidade de Brasília, 1992 129p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).
- ESKES, A.B.; NAGAI, H. Nova fonte de resistência ao vírus de vira-cabeça do tomateiro, derivada de *Lycopersicon pimpinellifolium* (Just.) Mill. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 21, Campinas, 1981. Resumos... Campinas: SOB, 1981. p.164.
- FAZIO, G. de; KUDAMATSU, M.; VICENTE, M. Efeito antiviral do ácido acetil salicílico e do ácido poliacrílico sobre o vírus de vira-cabeça do tomateiro ("Brazilian tomato spotted wilt virus -TSWV") em plantas de fumo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.1, p.53-57, abr. 1987.
- FINLAY, K.W. Inheritance of resistance to spotted wilt virus in tomato. I. Identification of strains of the virus by the resistance or susceptibility of tomato species. **Australian Journal Scientific Research**, Victoria, v.5, p.303-314, 1952.
- FINLAY, K.W. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato. II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. **Australian Journal Biology Science**, Victoria, v.6, p.153-163, 1953.
- FORSTER, R.; COSTA, A.S. Nota preliminar sobre a moléstia "vira-cabeça", do fumo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.13, p.69-78, 1938.
- FRANCKI, R.I.B.; HATTA, T. Tomato spotted wilt virus. In: KURSTAK, E. (ed.). **Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis**. Amsterdam: North-Holland Biomedical Press, 1981. Cap.17, p.491-512.
- FRASER, R.S.S. The genetics of resistance to plant viruses. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.28, p.179-200, 1990.

- HUTTON, E.M.; PEAK, A.R. Spotted wilt development in resistance and susceptible *Lycopersicon species*. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.4, p.1660-1670, 1953.
- IE, T.S. A sap-transmissible, defective form of tomato spotted wilt virus. **Journal General Virology**, Essex, v.59, p.387-391, 1982.
- IE, T.S. Tomato spotted wilt virus. **Description of Plant Viruses**, Surrey, 1970, n.39. 4p.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R.; FIGUEIRA, A.R.; BARBOSA, C.J. Identificação e seleção de linhagens de *Lycopersicon esculentum* Mill, resistentes a um isolado forte e necrótico do vírus de vira-cabeça do tomateiro (TSWV), por inoculação mecânica. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.215, ago. 1992. (Resumo).
- KIKUTA, K.; FRAZIER, W.A. Breeding tomatoes for resistance to spotted wilt in Hawaii. **Proceeding American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.47, p.271-276, 1946.
- KIKUTA, K.; HENDRIX, J.W.; FRASIER, W.A. Pearl Harbor, a tomato variety resistant to spotted wilt in Hawaii. Honolulu, University of Hawaii Agricultural Experiment Station, 1945. 4p. (Circular 24).
- KITAJIMA, E.W.; RESENDE, R.O.; ÁVILA, A.C.; GOLDBACH, R.; PETERS, D. A simplified electron microscopic method to detect defective forms of tomato spotted wilt virus. In: COLÓQUIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA, 13, Caxambú, 1991. **Resumos...** Caxambú, 1991. n.p.
- MALUF, W.R.; TOMA-BRAGHINI, M.; CORTE, R.D. Progress in breeding tomatoes for resistance to tomato spotted wilt. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.14, p.509-525, 1991.
- NAGAI, H.; COSTA, A.S. Fontes de resistência às moléstias de vírus do tomateiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Piracicaba, v.1, p.35, 1967. (Resumo).
- NAGAI, H.; LOURENÇÃO, A.L.; SIQUEIRA, W.J. Advances in tomato breeding for spotted wilt virus and leafminer resistance in Brazil. In: INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS: INTEGRATED MANAGEMENT FOR CROP PROTECTION, 12, Rio de Janeiro, 1991. **Abstracts...** Rio de Janeiro, 1991. n.p.
- NAGATA, T.; BOITEUX, L.S.; IIZUKA, N.; DUSI, A.N. Identification of phenotypic variation of Tosspovirus isolates in Brazil based on serological analysis and differential host response. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p.425-430, Sept. 1993.

- NORONHA, A.B.; DUARTE, L.M.L.; ALEXANDRE, A.V.; VICENTE, M. Inhibition of tomato spotted wilt virus (TSWV) systemic infection in tomato plants by Caryophyllales extracts. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.14, n.3/4, p.283-287, Oct./Dec. 1989.
- PATERSON, R.G.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Resistance in two *Lycopersicon* species to an Arkansas isolate of tomato spotted wilt virus. *Euphytica*, Wageningen, v.43, p.173-178, 1989.
- PIMENTEL GOMES, F. *Curso de Estatística Experimental*. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468p.
- RESENDE, R.O.; ÁVILA, A.C.; KITAJIMA, E.W.; KORMELINK, R.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Generation of envelope and defective interfering RNA mutants of tomato spotted wilt virus by mechanical passages. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.72, p.2375-2383, 1991.
- RESENDE, R. de O.; DE HAAN, P.; VAN DE VOSSEN, E.; ÁVILA, A.C.; GOLDBACH, R.; PETERS, D. Defective interfering (DI) L-RNA segments of tomato spotted wilt virus (TSWV) retain both virus genome termini and have extensive internal deletion. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.73, p.2504-2516, 1992.
- STEEL, R.G.; TORRIE, J.H. *Principles and procedures of statistics; a biometrical approach*. 2.ed., New York: McGraw-Hill, 1980. 633p.
- STEVENS, M.R.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, Wageningen, v.59, n.1, p.9-17, 1991.
- TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T. Doenças do tomateiro. In: GALLI, F. (Coord.). *Manual de Fitopatologia; doenças das plantas cultivadas*. 2.ed., São Paulo: Ceres, 1980. v.2, p.551-52.
- UPRETI, G.; HARTMANN, R.W. Inheritance of resistance to spotted wilt virus in tomato. *Journal IASS (Institute of Agricultural and Animal Sciences)*, v.4, p.19-25, 1984.
- VERKLEIJ, F.N.; PETERS, D. Characterization of a defective form of tomato spotted wilt virus. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.64, p.677-686, 1983.

5 COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE PRESERVAÇÃO DE ISOLADOS DE TOSPOVIRUS

RESUMO

Neste trabalho foram testados os seguintes métodos de preservação de Tospovirus:

1) manutenção "in vivo" através de inoculação mecânica em *Nicotiana tabacum* cv. Turkish NN (TNN) e *Lycopersicon esculentum* cultivar Kada; 2) Manutenção através da enxertia por garfagem de ponteiros de tomateiros infectados, em tomateiros sadios; 3) liofilização de folhas infectadas de *N. tabacum* (TNN) e tomateiro Kada, seguida por manutenção em vidros de penicilina contendo sílica gel, no congelador (-20°C); e 4) manutenção de vidros de penicilina destampados contendo folhas de tomateiro Kada e fumo TNN infectadas sistemicamente, dentro de bujões de nitrogênio líquido a -196°C. Pelos resultados apresentados na recuperação do vírus em fumo TNN, o método de preservação em nitrogênio líquido foi o único que permitiu a manutenção de todos os isolados de Tospovirus, além de não ocorrer contaminação por outros vírus, o que pode acontecer na preservação "in vivo" em casa-de-vegetação por enxertia ou inoculação mecânica.

SUMMARY

In this work were tested four preservation methods of Tospovirus: 1) "In vivo" maintenance of TSWV by mechanical inoculation infected leaf of *Nicotiana tabacum* cv. Sansum NN (TNN) and *Lycopersicon esculentum*, Kada cultivar; 2) Maintenance through grafting of infected tomato cuttings on tomato rootstocks; 3) lyophilization of infected leaf pieces of *N. tabacum* (TNN) and *L. esculentum* (Kada) followed by storage at -20°C in 10 ml flasks with silica gel and 4) storage of infected tomato leaf fragments in open 10 ml flasks placed in liquid nitrogen (-196°C). Preservation in liquid nitrogen was the only method able to maintain all Tospovirus isolates for longer periods of time with minimum risk of isolates losses or contamination by other viruses.

5.1 INTRODUÇÃO

O gênero Tospovirus da família Bunyaviridae foi subdividido nas espécies "Tomato Spotted Wilt Virus" (TSWV), "Tomato Chlorotic Spot Virus" (TCSV), "Groundnut Ring Spot Virus" (GRSV) e "Impatiens Necrotic Spot Virus" (INSV) (Ávila et al., 1992, 1993). Até o presente momento, a única forma mais segura para o controle do vírus é a resistência genética. Neste caso, a maior dificuldade em trabalhos de avaliação de germoplasmas visando resistência ao vírus é a manutenção e multiplicação dos isolados. A transmissão mecânica em casa de vegetação e repicagens sucessivas do vírus, podem gerar mutantes contendo L-RNA defectivos interferentes ("defective interfering L-RNA"), que provocam atenuação de sintomas (Resende et al., 1991 e 1992).

A contaminação do inóculo por outros vírus, seleção de um variante atípico do vírus e eventual perda dos isolados do vírus (devido a morte da hospedeira) evidencia também a necessidade de desenvolver métodos eficientes de preservação do vírus.

Os métodos de preservação podem ser agrupados em congelamento, desidratação e liofilização (Duval e Cupertino, 1993). Segundo Duval e Cupertino (1993), um dos métodos mais eficientes para conservação do vírus, principalmente vírus instáveis como os do gênero *Tospovirus*, é a liofilização.

Para evitar a geração de formas defectivas do L-RNA do vírus utiliza-se mais comumente a transmissão por enxertia ou pelo tripses-vetor e o armazenamento dos tecidos infectados em nitrogênio líquido (Ávila et al., 1990). Tanto o método de liofilização quanto armazenamento em nitrogênio líquido são onerosos e nem sempre estão disponíveis na maioria dos laboratórios do Brasil (Duval e Cupertino, 1993).

O objetivo deste trabalho é de investigar a eficiência de métodos de preservação de isolados pertencentes a duas espécies de *Tospovirus*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Obtenção e caracterização dos isolados

Os isolados utilizados neste trabalho foram previamente caracterizados em duas espécies de *Tospovirus* e tiveram as seguintes procedências (Juliatti, Maluf e Figueira, 1994): Lavras-MG (dois isolados da espécie TSWV e dois da espécie TCSV); Uberlândia-MG (um da espécie TSWV e outro da espécie TCSV); de São João Del Rey-MG (um isolado da espécie

TCSV) e Ijaci-MG (1 isolado de espécie não definida). Todos os isolados foram transmitidos inicialmente para plantas de fumo TNN, *Datura stramonium* L. e tomateiro Kada, por inoculação mecânica e em seguida, após sua caracterização, foram deixados em estufa à prova de insetos. Posteriormente foram mantidos através de enxertia de garfagem no topo de tomateiro "Kada".

5.2.2 Preservação "in vivo" - inoculação mecânica

Os isolados descritos no item 1 foram inoculados mecanicamente em folhas polvilhadas com carborundum 600 mesh. O inóculo constituiu-se de folhas provenientes de plantas de tomateiro, infectadas sistemicamente, maceradas em almofariz contendo 20 ml de tampão fosfato 0,01 M, pH = 7,0, acrescido de sulfito de sódio a 0,01 M. Procederam-se inoculações mensais em tomateiro Kada ou fumo TNN com 2-3 pares de folhas definitivas.

5.2.3 Preservação "in vivo" - enxertia por garfagem

Após a caracterização dos isolados estes foram inoculados mecanicamente (item **caracterização de isolados**), e logo após o aparecimento de sintomas de necrose sistêmica no ponteiro do tomateiro, realizaram-se 3 enxertias/isolado pelo método de garfagem dos ponteiros infectados sistemicamente com o vírus. Foram utilizados tomateiros Kada sadios e com 3-4 pares de folhas definitivas, fazendo-se enxertias mensais durante dois anos.

5.2.4 Preservação “in vitro” - liofilização

Neste método foi utilizado o liofilizador modelo Edwards - L4KR, por 24 horas à -40°C. Previamente ao processo de liofilização os isolados foram inoculados mecanicamente em folhas de fumo TNN, conforme item **caracterização de isolados**. Após as inoculações as folhas com sintomas de mosaico sistêmico e necroses referentes a cada isolado foram colocadas em placas de Petri e colocadas em congelador (-20°C) por 12 horas. Em seguida se realizou a liofilização a frio. Após a liofilização os diferentes isolados foram colocados em vidros de penicilina contendo sílica gel e armazenados em congelador (-20°C). Mensalmente procedeu-se a inoculação mecânica em fumo TNN e tomateiro Kada.

5.2.5 Preservação “in vitro” - nitrogênio líquido

Após a inoculação dos isolados em fumo TNN (**item caracterização de isolados**) e a obtenção de folhas de fumo com sintomas sistêmicos, estas foram retiradas, fragmentadas e colocadas em vidros de penicilina destampados, devidamente identificados e mergulhadas em bujões contendo nitrogênio líquido a -196°C. Mensalmente foram retiradas alíquotas de todos os isolados, os quais foram inoculados em fumo TNN e tomateiro Kada na proporção de 1:5 (g/ml de tampão fosfato) pH = 7,0 a $\pm 5^\circ\text{C}$.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados na Tabela 6.

TABELA 6 - Preservação e infectividade de isolados de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1993.

Isolados	Agressividade/sintomas ¹ em <i>L. esculentum</i>	Espécie Tospovirus ²	Métodos de preservação													
			Inoculação mecânica/enxertia						Líof. + Cong.				N líquido			
			Meses						Meses				Meses			
3	6	9	12	15	18	0	1	2	3	3	6	9	12	15	18	
Lavras-MG	Alta/lesões em anéis e necrose nas folhas	TSMV	+ ³	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lavras-MG	Alta/lesões em anéis e necrose nas folhas	TSMV	+	+	+	+	0	0	+	-	-	-	+	+	+	+
Lavras-MG	Média/arroxeamento dos folíolos	TCSV	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Lavras-MG	Fraca/lesões em anéis e necrose	TCSV	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
S.J. Del Rey-MG	Alta/lesões em anéis e necrose	TCSV	+	+	+	+	0	0	+	-	-	-	+	+	+	+
Ijaci-MG	Alta/lesões em anéis e necrose	ND	+	+	+	+	0	0	+	-	-	-	+	+	+	+
Uberlândia-MG	Média/arroxeamento dos folíolos	TCSV	+	+	+	+	0	0	+	-	-	-	+	+	+	+
Uberlândia-MG	Alta/lesões necróticas em toda a planta	TSMV	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+

1 - Tomateiro Kada

2 - Juliatti, Maluf e Figueira (1994)

3 - (+) infectivo em fumo TNN (*N. tabacum* cv. Turkish) e tomateiro cultivar Kada (*L. esculentum*)

(-) não infectivo.

(0) Não recuperação dos isolados devido ausência de translocação do vírus, seguida da morte dos ponteiros enxertados, além da presença de TMV nas folhas de fumo TNN inoculadas mecanicamente.

Pelos resultados apresentados na Tabela 6 percebe-se que apenas o nitrogênio líquido preservou a identidade e infectividade dos diferentes isolados de Tospovirus. Após 12 meses, metade dos isolados mantidos por inoculação mecânica e enxertia apresentaram perda da infectividade. Neste caso, alguns isolados não foram recuperados. Atribui-se tal ocorrência, principalmente pela morte do enxerto, translocação irregular do vírus do enxerto para o porta-enxerto, e/ou contaminação por TMV nas plantas de tomateiro. Deste modo, ficou inviabilizada a continuidade do estudo comparativo entre os diferentes métodos. A ocorrência do TMV em plantas de tomateiro pode ser atribuída a contaminação das mudas na fase de viveiro ou

possivelmente a partículas de vírus veiculadas por sementes. Conjectura-se que tais riscos não ocorrem quando se preserva em Nitrogênio líquido, justificando assim a implementação deste método em laboratórios que dele dispõem. Deve-se ressaltar que através do uso de N líquido realiza-se apenas uma inoculação mecânica para multiplicação do inóculo.

Já foi observado que inoculações mecânicas sucessivas do vírus, podem gerar o aparecimento de segmentos defectivos interferentes de L-RNA (“defective interfering L-RNA-DI) que causam atenuação de sintomas em plantas experimentais (Resende et al., 1991, 1992). Estas observações refletem o comportamento do isolado de São João Del Rey-MG que possivelmente deve ser um isolado com partículas DI, dada a redução acentuada de sintomas, após 15 meses de inoculações mecânicas, impedindo inclusive sua manutenção “in vivo”.

Plantas de fumo TNN mostraram-se eficientes para testar a infectividade dos isolados principalmente em contaminações dos isolados de Tospovirus com TMV, para isolados recém coletados no campo (Juliatti e Maluf, 1993). O método de liofilização seguido por armazenamento em congelador não se mostrou eficaz na manutenção dos isolados, devido a perda da infectividade por todos os isolados 30 dias após o armazenamento em congelador (-20°C). Segundo Duval e Cupertino (1993) fatores como a concentração do vírus nos tecidos da hospedeira, por ocasião da liofilização dos tecidos e a temperatura de armazenamento podem afetar a preservação da infectividade de isolados de Tospovirus. Além disso, pode ocorrer variação na preservação da infectividade para diferentes isolados do vírus.

A Figura 2 apresenta um esquema geral de preservação e multiplicação de isolados de Tospovirus “in vitro”, que poderá servir como subsídios para programas de melhoramento visando resistência ao complexo viral.

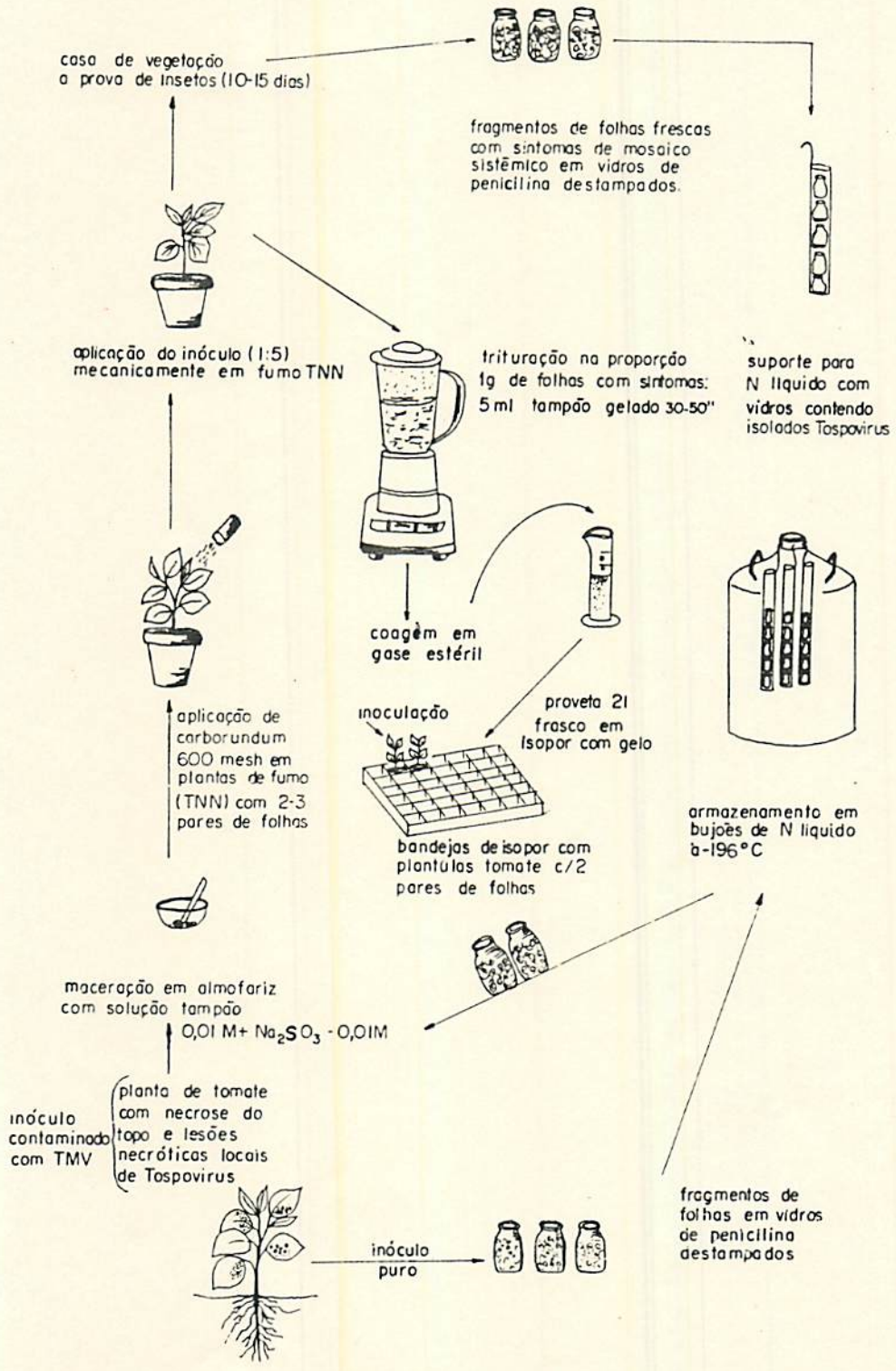


FIGURA 2 - Obtenção, manutenção e produção de inóculo de Tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1994.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, A.C. **Diversity of Tospovirus**. Wageningen, Agricultura University, 1992, 135p. (Tese - Doutorado em Virologia de Plantas).
- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; KORMELINCK, R.; RESENDE, R. de O.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Classification of tospovirus based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.74, p.153-159, 1993.
- ÁVILA, A.C.; HUGUENOT, C.; RESENDE, R. de O.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Serological differentiation of 20 isolates of tomato spotted wilt virus. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.71, p.2801-2807, 1990.
- DUVAL, C.M.; CUPERTINO, F.P. Preservação da infectividade de isolados de Tospovirus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.2, p.233-237, 1993.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R. Comparação entre métodos de preservação de Tospovirus. In: CONGRESSO DA PÓS-GRADUAÇÃO NA ESAL, 6, Lavras, 1993. **Anais...** Lavras: ESAL, 1993. p.205-206.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R.; FIGUEIRA, A.R. Reação de linhagens avançadas de tomateiro a isolados de Tospovirus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.62-68, mar. 1994.
- RESENDE, R. de O.; ÁVILA, A.C.; KITAJIMA, E.W.; KORMELINK, R.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Generation of envelope and defective interfering RNA mutants of tomato spotted wilt virus by mechanical passages. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.72, p.2375-2383, 1991.
- RESENDE, R. de O.; DE HAAN, P.; VAN DE VOSSEN, E.; ÁVILA, A.C.; GOLDBACH, R.; PETERS, D. Defective interfering (DI) LRNA segments of tomato spotted wilt virus (TSWV) retain both virus genome termini and have extensive internal deletion. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.73, p.2504-2516, 1992.

6 CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO TOMATEIRO A UM ISOLADO DE TOSPOVIRUS (TSWV) - ANÁLISE EM PLANTAS INDIVIDUAIS*

RESUMO

Foi estudada a herança de resistência a um isolado de Tospovirus nas linhagens TSWV-556, TSWV-547 e Stevens. As duas primeiras, cuja base genética é semelhante a Santa Clara e Ângela Gigante I-5100, respectivamente, têm em comum a resistência proveniente de Rey de Los Tempanos. A cultivar Stevens foi introduzida da África do Sul, e sua resistência foi introgridida a partir de *L. peruvianum*. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 4 repetições. As gerações analisadas em cada parcela foram os parentais, F₁, retrocruzamentos (RC₁₁ e RC₂₁) e F₂, nos cruzamentos Santa Clara x TSWV-556; Santa Clara x Stevens e Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547. Oito plantas controle da cultivar Santa Clara também foram inoculadas com o vírus em tampão fosfato 0,01 M, pH = 7,0, mais sulfito de sódio a 0,01 M, no segundo par de folhas definitivas, em cada bandeja (controle). Seguiram-se mais duas inoculações com intervalo de 7 dias entre si. A avaliação de plantas individuais ocorreu ao 14 dias após a terceira inoculação, atribuindo-se notas de 1 (= ausência de sintomas) a 5 (plantas mortas), com base na severidade de sintomas. Após a análise de variância nos três experimentos foram obtidas as estimativas das herdabilidades no sentido amplo e restrito, grau médio de

* Trabalho aceito a ser publicado em Fitopatologia Brasileira, v.20, 1995.

dominância e curvas de distribuição de frequências relativas. Estimou-se que pelo menos 1 a 3 genes com dominância parcial controlam a resistência nas linhagens TSWV-556 e TSWV-547 e um gene, com expressão do alelo dominante na cultivar Stevens, ao isolado de Tospovirus procedente de Uberlândia-MG. As estimativas das herdabilidades no sentido amplo ao nível de plantas individuais foram 11,22, 53,9 e 77,1% para os cruzamentos Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂), Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂) e Santa Clara (♀) x Stevens (♂). Isso demonstra a possibilidade de sucesso para seleção de indivíduos resistentes em populações segregantes baseando-se na análise de plantas individuais para os dois últimos cruzamentos.

SUMMARY

The inheritance of resistance to TSWV in breeding lines TSWV-556, TSWV-547 and Stevens was studied. The breeding lines TSWV-556 and TSWV-547 have a common source of resistance (Rey de Los Tempranos) and are near isogenic lines to Santa Clara and Ângela Gigante I-5100, respectively. The cultivar Stevens was introduced from South Africa, and its resistance was obtained from *Lycopersicon peruvianum*. The experimental design was in randomized complete blocks with 4 replications. The generations analysed were the parents, F₁, backcrosses to both parents (RC₁₁ e RC₂₁) and F₂. Eight control Santa Clara plants in the 2nd leaf stage in every tray were inoculated with the virus in 0,01M phosphate buffer, pH = 7.0, with added 0.01M sodium sulphite. Three inoculations were made, at 7-days intervals. Evaluation of

the individuals plantas was made 14 days after the third inoculation. Ratings varying between 1 (= no symptoms) and 5 (= dead plants) were used for the severity of symptoms. Estimates of both broad and narrow sense heritabilities were obtained. An estimate of 1 to 3 genes with partial dominance was obtained for the control of resistance in the breeding lines TSWV-547 and TSWV-556, and of one dominant gene for the cultivar Stevens. Broad sense heritability estimates were 11.22, 53.9 and 77.1%, respectively for the crosses Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂), Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂) and Santa Clara (♀) x Stevens (♂). This demonstrates the possibilities of success in the selections of resistant plants in segregating populations with basis in individual plants analyses for the latter two crosses.

6.1 INTRODUÇÃO

O complexo patológico do vira-cabeça do tomateiro é uma das doenças de maior importância para o tomateiro no Brasil (Lima, 1986). O patógeno tem um número grande de hospedeiros, englobando cerca de 70 famílias botânicas e 550 espécies de plantas sendo a maioria pertencente às famílias Solanaceae e Compositae (Ávila, 1993a). O vírus pode induzir uma ampla variedade de sintomas, os quais podem variar com a espécie hospedeira, idade, estado nutricional da planta e condições ambientais. A estirpe do vírus, o genótipo do hospedeiro e seu estágio de desenvolvimento também influenciam na sintomatologia predominante (Costa, 1947; Ie, 1970 e Cupertino et al., 1981). Recentemente Ávila (1993b) descreveu as espécies Tomato Chlorotic Spot Virus (TCSV), Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV), Groundnut Ring Spot Virus (GRSV) como pertencentes ao gênero Tospovirus. As Tospoviroses foram classificadas dentro da família Bunyaviridae (Francki et al., 1991).

No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez por Costa e Forster (1938). Esta virose é a principal doença virótica do tomateiro nas nossas condições, impedindo o seu cultivo durante os meses quentes. Pode causar prejuízos totais, destruindo a planta ou causando desvalorização dos frutos já formados (Tokeshi e Carvalho, 1980). Na região de Campinas-SP, Triângulo Mineiro e Planalto Central, o patógeno tem demonstrado ser particularmente devastador, em anos recentes, ocorrendo com maior incidência entre dezembro a abril, principalmente devido a proliferação de tripes vetores (Costa et al., 1964; Yuki e Costa, 1988). A inexistência de variedades comerciais resistentes, grandes áreas plantadas e diversidade de hospedeiras, além de aspectos da relação vírus-hospedeiro-vetor dificultam o melhor manejo da doença nos cinturões verdes.

Atualmente, a resistência é o método ideal para o controle da doença, desde que sejam combinadas fontes de resistência adequadas. Para alguns pesquisadores, a resistência ao vírus é provavelmente poligênica, onde os genes individuais de resistência são específicos para certas estirpes ou isolados do vírus (Finlay, 1952 e Patterson, Scott e Gergerich, 1989). Finlay (1953) relatou a resistência de Rey de Los Tempranos a sete estirpes de TSWV de um total de dez testadas, sendo esta controlada por 4 genes: Sw_1^b , sw_2 , sw_3 e sw_4 . A resistência a outras estirpes é controlada pelo alelo Sw_1^a . Van Zijl, Bosh e Coetzee (1986), relataram a resistência da cultivar "Stevens" ao TSWV. Esta cultivar foi desenvolvida a partir do cruzamento entre *L. esculentum* e *L. peruvianum*. Mais recentemente, Stevens, Scott e Gergerich (1991) relataram a herança da resistência ao vírus na cultivar "Stevens", após cruzamento com a cultivar Rodade. Na população segregante avaliada concluiu-se que a resistência era controlada por um alelo dominante que foi denominado Sw-5, diferentemente dos cinco outros designados por Finlay (1953).

No Brasil, Maluf, Toma-Braghini e Corte (1991) introgridiram gene(s) de resistência da cultivar Rey de Los Tempranos, uma fonte de resistência em *Lycopersicon esculentum*, nos "backgrounds" genéticos comerciais Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara, respectivamente. As linhagens TSWV-547 e TSWV-556 assim obtidas, demonstraram uma resistência do tipo parcial ou incompleta a 7 isolados do vírus, provenientes de 3 municípios de Minas Gerais, após duas inoculações mecânicas (Juliatti et al., 1992 e Juliatti, Maluf e Figueira, 1994). A resistência encontrada em Rey de Los Tempranos é possivelmente controlada por gene(s) com alelo(s) recessivo(s) (Maluf, Toma-Braghini e Corte, 1991).

No caso do tomateiro, o conhecimento do controle genético da resistência a Tospovirus, ainda deixa muito a desejar quando comparado a outras doenças. Uma das metodologias utilizadas para o estudo do controle genético apresentada na literatura é o uso de progenitores F_1 , F_2 e outras populações segregantes (Mather e Jinks, 1984). Neste caso, permite-se determinar os componentes da média (Cavalli, 1952 e Rowe e Alexander, 1980) como da variância genética para estimar herdabilidades (Warner, 1952).

O objetivo deste trabalho é de estudar a herança da resistência a Tospovirus nas linhagens TSWV-547, TSWV-556 e na cultivar "Stevens" frente a um isolado de Tospovirus, com base na análise de plantas individuais.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Obtenção do isolado de Tospovirus

O isolado foi obtido de uma coleção mantida por enxertia de garfagem em tomateiro cultivar Kada. O isolado T-6 da espécie TSWV, procedente de Uberlândia (Juliatti, Maluf e Figueira, 1994), é de alta agressividade e expressa com predominância sintomas em anéis necróticos ("Ringspot Strain"), Finlay (1952). A multiplicação do mesmo se deu em plantas de fumo (*N. tabacum*)- TNN com 3-4 pares de folhas para posterior inoculação nas plantas das gerações a serem testadas.

6.2.2 Testes prévios para determinação das linhagens parentais a serem usadas nos cruzamentos

As linhagens TSWV-556 e TOM-547 (TSWV-547) tiveram sua resistência ao Tospovirus confirmadas por Juliatti et al. (1992) e Maluf, Toma-Braghini e Corte (1991), respectivamente. Estas foram cruzadas com os dois respectivos backgrounds genéticos recorrentes susceptíveis (Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara), para a obtenção da geração F₁.

A cultivar Stevens, originária da África do Sul, mostrou-se resistente a uma mistura de isolados e a isolados bastante agressivos nos Estados Unidos (Stevens, Scott e Gergerich, 1991). Para a obtenção da geração F₁ foi utilizada a cultivar Santa Clara como parental feminino, obtendo-se assim o F₁ Santa Clara x Stevens.

6.2.3 Obtenção das populações segregantes

Foram realizados os cruzamentos Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂); Santa Clara (♀) x Stevens (♂) e Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂). As sementes foram obtidas em casa de vegetação, sendo obtida para cada cruzamento as gerações F_1 , F_2 , $RC_{11}(P_1 \times F_1)$ e $RC_{21}(P_2 \times F_1)$.

Dez plantas para cada parental foram deixadas em estufa (20-28°C), as quais foram irrigadas diariamente, segundo as necessidades. Realizaram-se polinizações manuais, em flores na fase de botão 1 a 2 dias antes da antese, após a extração prévia de pólen com vibrador manual movido a pilha. Cada cruzamento foi identificado por uma fita de lã com coloração referente ao parental masculino. Após o início do amadurecimento dos frutos as sementes foram extraídas junto a polpa e postas a fermentar por 3 dias, em seguida secadas, embaladas e armazenadas em câmara fria (10-15°C).

Conforme a metodologia descrita foram obtidas as gerações de RC_{11} para o parental resistente (masculino) e RC_{21} para o susceptível (feminino). A geração F_2 foi obtida pela autofecundação natural de 10 plantas da geração F_1 , extraíndo-se sementes F_2 dos frutos obtidos de autopolinização.

6.2.4 Metodologia de inoculação e avaliação para discriminar plantas resistentes e susceptíveis nas gerações parentais (P_1 e P_2), F_1 , retrocruzamentos (RC_{11} e RC_{21}) e geração F_2

O método básico de inoculação foi o de três inoculações sucessivas com intervalo semanal em plantas no estágio de 2-3 folhas definitivas (Paterson, Scott e Gergerich, 1989). A

obtenção do inóculo utilizado foi obtida a partir de plantas de fumo TNN com sintomas sistêmicos (Juliatti, Maluf e Figueira, 1994), para uma concentração de 1:5 (Duval et al., 1993). Para tanto, foram utilizadas as linhagens parentais, F₁, os retrocruzamentos (RC₁₁ e RC₂₁) e a geração F₂, referente aos cruzamentos iniciais Santa Clara x TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e Santa Clara x Stevens.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com 4 repetições. Oito plantas da cultivar Santa Clara, também inoculadas com o vírus em tampão-fosfato 0,01 M, pH = 7,0, com o acréscimo de sulfito de sódio a 0,01M, constituíram o controle em cada parcela com 56 plantas ou 64 plantas.

Para controle fitossanitário foram utilizados o fungicida Benomil (1 g p.c./l), o antibiótico agrimicina (4 g p.c./l) e o inseticida Abermectin + Dipel (1,0 + 1,0 ml/l), no dia seguinte as inoculações. Seguiu-se a suplementação de adubo foliar Ouro Verde, após as inoculações.

As avaliações das plantas individuais em cada parcela ocorreram aos 12 dias após a 3^a inoculação, atribuindo-se notas de 1 a 5 com base na severidade de sintomas (Juliatti, Maluf e Figueira, 1994): 1 = plantas aparentemente sadias; 2 = plantas com sintomas leves, ligeiro amarelecimento, arroxamento dos folíolos e desenvolvimento normal; 3 = plantas com arroxamento mais severo dos folíolos e presença de alguns anéis e pontos necróticos nos folíolos superiores e/ou tombamento do ponteiro para baixo (epinastia); 4 = plantas com arroxamento e/ou amarelecimento severo com redução acentuada no crescimento e necrose severa dos folíolos; 5 = necrose severa em toda planta ou planta morta.

6.2.5 Análises estatísticas e genéticas

6.2.5.1 Análise de variância

Utilizou-se as notas de severidade com base nas plantas individuais e foi realizada a análise de variância (ANAVA) para cada cruzamento utilizando as gerações P₁, P₂, F₁, RC₁₁, RC₂₁ e F₂. As estimativas das variâncias dentro para cada geração corresponderam a variâncias médias dentro ponderada pelos respectivos graus de liberdade em cada repetição (Tabela 7).

TABELA 7 - Esquema da análise de variância, em blocos casualizados, ao nível de médias, com as respectivas esperanças matemáticas dos quadrados médios E(QM) e os componentes da variância fenotípica ao nível de plantas das gerações P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁₁ e RC₂₁. ESAL, Lavras-MG, 1993.

F.V.	G.L.	QM	E(QM)	F
Blocos	r-1	Q ₃	$\hat{\sigma}_e^2 + a \cdot \hat{\sigma}_B^2$	Q ₃ /Q ₁
Gerações	p-1	Q ₂	$\hat{\sigma}_e^2 + r \cdot \hat{\sigma}_P^2$	Q ₂ /Q ₁
Resíduo	(r-1)(p-1)	Q ₁	$\hat{\sigma}_e^2$	

Populações	G.L.	$\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2 = \text{QM}$	Componentes da variância fenotípica
Dentro P ₁	n ₁ -1	Q ₄	$\hat{\sigma}_E^2$
Dentro P ₂	n ₂ -1	Q ₅	$\hat{\sigma}_E^2$
Dentro F ₁	n ₃ -1	Q ₆	$\hat{\sigma}_E^2$
Dentro F ₂	n ₄ -1	Q ₇	$\hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_E^2$
Dentro RC ₁	n ₅ -1	Q ₈	$\frac{1}{2}\hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2 + \frac{1}{2}F + \hat{\sigma}_E^2$
Dentro RC ₂	n ₆ -1	Q ₉	$\frac{1}{2}\hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2 - \frac{1}{2}F + \hat{\sigma}_E^2$

Onde:

$\hat{\sigma}_e^2$: variância do resíduo

$\hat{\sigma}_B^2$: variância entre blocos

$\hat{\sigma}_P^2$: variância genética entre populações

F: covariância entre efeito dos locos em homozigose (efeito aditivo) e locos em heterozigose (efeito de dominância).

6.2.5.2 Componentes de média

Neste procedimento utilizou-se o teste de Escala Conjunta segundo Rowe e Alexander (1980), com base no modelo digênico aditivo-dominante proposto por Cavalli (1952) e apresentado por Mather e Jinks (1982 e 1984). As análises foram realizadas segundo o método dos quadrados mínimos ponderados (Mather e Jinks, 1982; Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993), para os cruzamentos Santa Clara x TSWV-556 e Santa Clara x Stevens.

6.2.5.3 Componentes de variância e estimativas do número de genes

Com base no esquema proposto por Warner (1952) estimou-se as variâncias aditivas, de dominância, herdabilidades no sentido amplo (h_a^2), no sentido restrito (h_r^2). As estimativas dos erros obtidos com base na expressão geral $\hat{\sigma}[\hat{\sigma}(x)] = \frac{2[\hat{\sigma}(x)]^2}{GL+2}$ apresentada por Vello e Vencovsky (1974). Os autores também apresentaram expressões para estimativa dos erros das herdabilidades no sentido amplo e restrito. As expressões utilizadas foram:

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

$$h_r^2 = \frac{\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_{F_2}^2} = \frac{2\hat{\sigma}_{F_2}^2 - \hat{\sigma}_{RC11}^2 - \hat{\sigma}_{RC21}^2}{\hat{\sigma}_{F_2}^2}$$

$$s_{(\hat{\sigma}_A^2)} = \left[\frac{4 \times 2 (\hat{\sigma}_{F_2}^2)^2}{GL+2} + \frac{2 (\hat{\sigma}_{RC11}^2)^2}{GL+2} + \frac{2 (\hat{\sigma}_{RC21}^2)^2}{GL+2} \right]^{1/2}$$

$$s_{(\hat{\sigma}_D^2)} = \left\{ \frac{2(\hat{\sigma}_{RC11}^2)^2}{GL+2} + \frac{2(\hat{\sigma}_{RC21}^2)^2}{GL+2} + \frac{2(\hat{\sigma}_{F_2}^2)^2}{GL+2} + \left[\frac{2(\hat{\sigma}_{F_1}^2)^2}{GL+2} + \frac{2(\hat{\sigma}_{P_2}^2)^2}{GL+2} + \frac{2(\hat{\sigma}_{F_1}^2)^2}{GL+2} \right] / 9 \right\}^{1/2}$$

$$s_{(h_a^2)} = \left\{ \frac{2}{9} \left[\frac{1}{(\hat{\sigma}_{F_2}^2)^2} \left(\frac{(\hat{\sigma}_{F_1}^2)^2}{n_1+2} + \frac{(\hat{\sigma}_{P_2}^2)^2}{n_2+2} + \frac{(\hat{\sigma}_{F_1}^2)^2}{n_3+2} \right) + \left(\frac{1}{n_4+2} \right) (3-h_a^2)^2 \right] \right\}^{1/2}$$

$$s_{(h_r^2)} = \left\{ 2 \left[\left(\frac{1}{(\hat{\sigma}_{F_2}^2)^2} \right) \left(\frac{(\hat{\sigma}_{RC11}^2)^2}{n_5+2} + \frac{(\hat{\sigma}_{RC21}^2)^2}{n_6+2} \right) + \left(\frac{1}{n_4+2} \right) (2-h_r^2)^2 \right] \right\}^{1/2}$$

Onde:

$s_{(h_a^2)}$ e $s_{(h_r^2)}$: erro associado as estimativas da herdabilidade no sentido amplo e restrito, respectivamente. Sendo n_1, n_2, n_3, n_4, n_5 e n_6 = número de indivíduos do parental masculino, feminino, do F_1, F_2, RC_{11} e RC_{21} , respectivamente.

Para estimativa do número de genes utilizou-se a expressão de Burton (1951):

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

onde n : número de genes

$D = \bar{P}_2 - \bar{P}_1$. Onde, \bar{P}_1, \bar{P}_2 e \bar{F}_1 são as médias gerais dos parentais e do \bar{F}_1 , respectivamente, para a expressão do caráter.

As estimativas das variâncias ambientais ($\hat{\sigma}_E^2$) foram obtidas com base nas seguintes expressões:

$$\hat{\sigma}_E^2 = \sqrt[3]{\hat{\sigma}_{P_1}^2 \times \hat{\sigma}_{P_2}^2 \times \hat{\sigma}_{F_1}^2} \quad (\text{menores estimativas}) \text{ e}$$

$$\hat{\sigma}_E^2 = \frac{\hat{\sigma}_{P_1}^2 + \hat{\sigma}_{P_2}^2 + 2 \hat{\sigma}_{F_1}^2}{4} \quad (\text{maiores estimativas})$$

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Análise de variância

Os resultados da análise de variância para os três cruzamentos estão apresentados na Tabela 8. Observou-se o efeito significativo ($P \leq 0,01$) de gerações em todos os casos.

TABELA 8 - Quadro de ANOVA da severidade de sintomas, para efeito de gerações após inoculação de Tospovirus (TSWV), provenientes do cruzamento das linhagens Santa Clara x TSWV-556; Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e Santa Clara x Stevens. ESAL, Lavras-MG, 1993.

FV	Cruzamentos								
	Santa Clara (P ₂) x TSMV-556 (P ₁)			Ângela Gigante I-5100 (P ₂) x TSMV-547 (P ₁)			Santa Clara (P ₂) x Stevens (P ₁)		
	GL	QM	F	GL	QM	F	GL	QM	F
Blocos	3	0,088	0,70ns	3	0,12	1,68ns	3	0,196	2,07ns
Gerações	5	1,451	11,44**	5	1,389	19,51**	5	4,406	46,61**
Erro	15	0,127		15	0,071		15	0,095	
Dentro (P ₁)	213	1,745		218	0,6088		220	0,0442	
Dentro (P ₂)	216	1,4398		211	2,7999		216	1,4398	
Dentro F ₁	220	2,0532		213	1,2904		220	0,3945	
Dentro RC ₁₁	219	1,5697		219	0,4905		217	0,2709	
Dentro RC ₂₁	218	2,2649		216	1,0839		214	1,7508	
Dentro F ₂	247	1,9463		245	1,5477		245	1,2775	
CV (%)	13,01			15,28			16,5		

6.3.2 Distribuição de freqüências

Os histogramas relativos a distribuição de freqüência em cada geração para os três cruzamentos estão apresentados nas Figuras 3, 4 e 5. Para o cruzamento Santa Clara x TSWV-556 as gerações demonstraram uma distribuição contínua para o caráter. Embora tenham sido realizadas 3 inoculações a intervalos semanais e o monitoramento a nível de bandejas com 8 plantas da cultivar Santa Clara, observou-se a presença de escapes, o que pode ser atribuído a falhas durante a inoculação mecânica, ou ainda a presença de L-RNA defectivo interferente, presentes no inóculo (Resende et al., 1991 e 1992). A amplitude térmica durante o período experimental foi de $35,2 \pm 3,5^{\circ}\text{C}$ e $18,77 \pm 1,37^{\circ}\text{C}$, para as máximas e mínimas, respectivamente. Os pesquisadores Hutton e Peak (1953), Hokama e Mondail (1990) e Juliatti, Maluf e Figueira (1994) relatam que a amplitude térmica pode influenciar na velocidade de aparecimento de sintomas. Comparando-se a distribuição das freqüências dos parentais, do F_1 e da geração F_2 no cruzamento Santa Clara x TSWV-556 evidencia-se uma provável dominância parcial para o controle da resistência na linhagem TSWV-556.

No cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 (Figura 4), embora tenha sido observado uma baixa severidade de sintomas (nota 1,306) na linhagem resistente, após 3 inoculações mecânicas do vírus, ocorreram nela algumas plantas com notas 3, 4 e 5. Para o progenitor Ângela Gigante I-5100 ocorreu amplo espectro de reação ao patógeno. Maluf, Toma-Braghini e Corte (1991) salienta a possível ação de genes modificadores na expressão da resistência neste "background" genético, quando comparado a cultivar Santa Clara. Uma outra hipótese a ser levantada é a heterogeneidade de indivíduos dentro da cultivar Ângela Gigante I-5100, a qual pode ser composta por uma mistura de linhas puras que foram fixadas frente ao

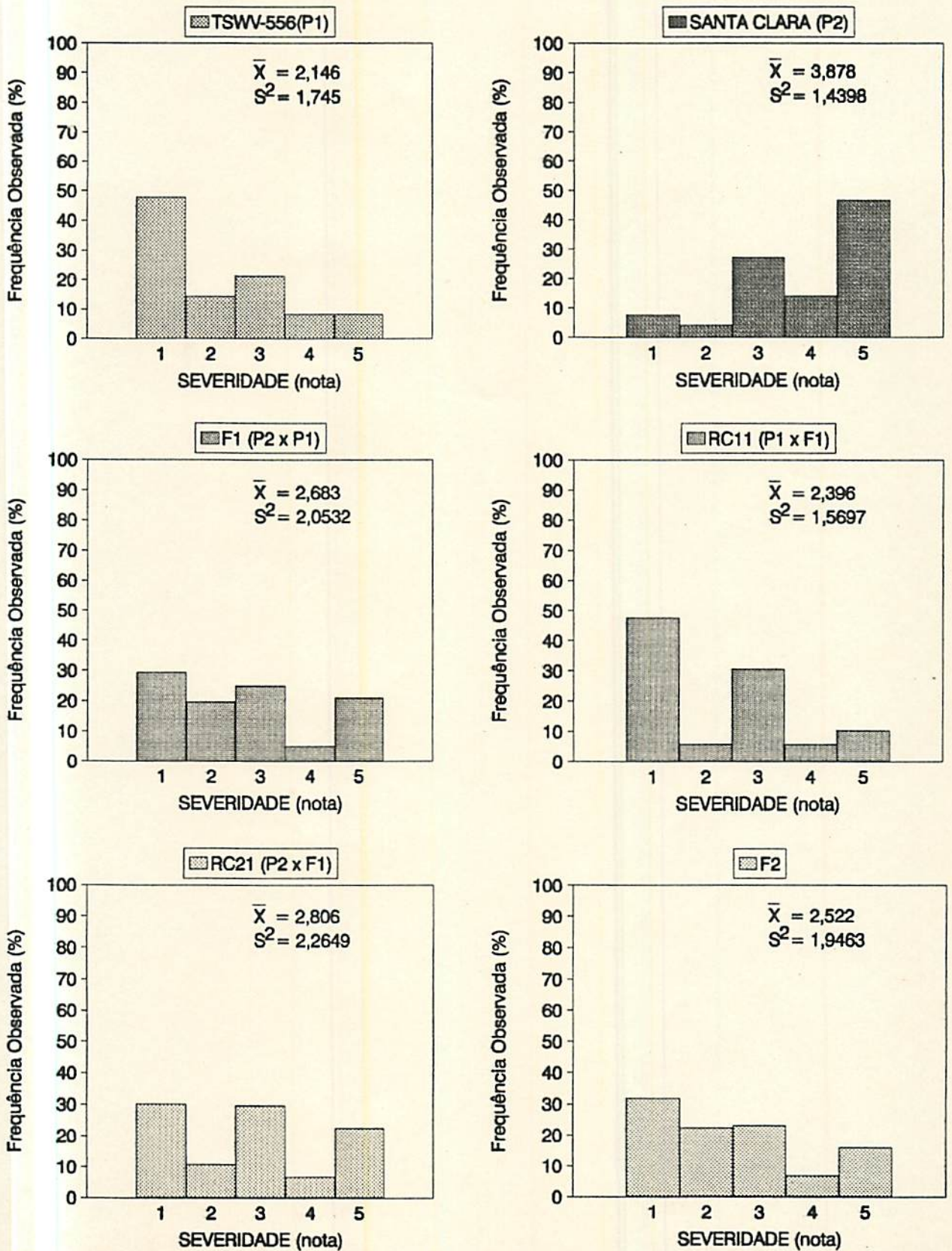


FIGURA 3. Frequências relativas da severidade de infecção por TSWV, médias e variâncias em 6 gerações de *L. esculentum* Mill, proveniente do cruzamento Santa Clara x TSWV-556. ESAL, Lavras - MG, 1993.

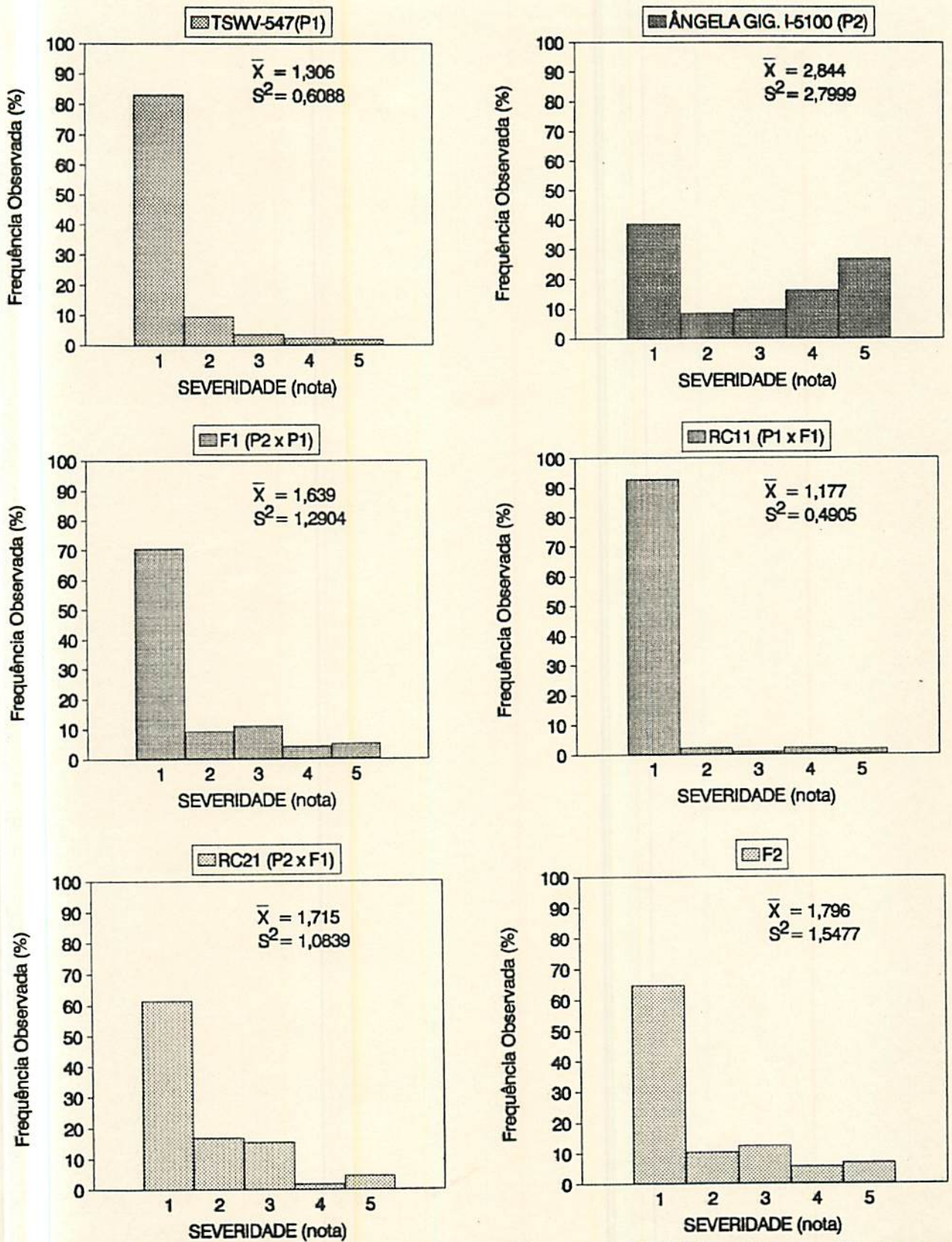


FIGURA 4. Frequências relativas da severidade de infecção por TSWV, médias e variâncias em 6 gerações de *L. esculentum* Mill, proveniente do cruzamento Ângela Gigante-I-5100 x TSWV-547. ESAL, Lavras - MG, 1993.

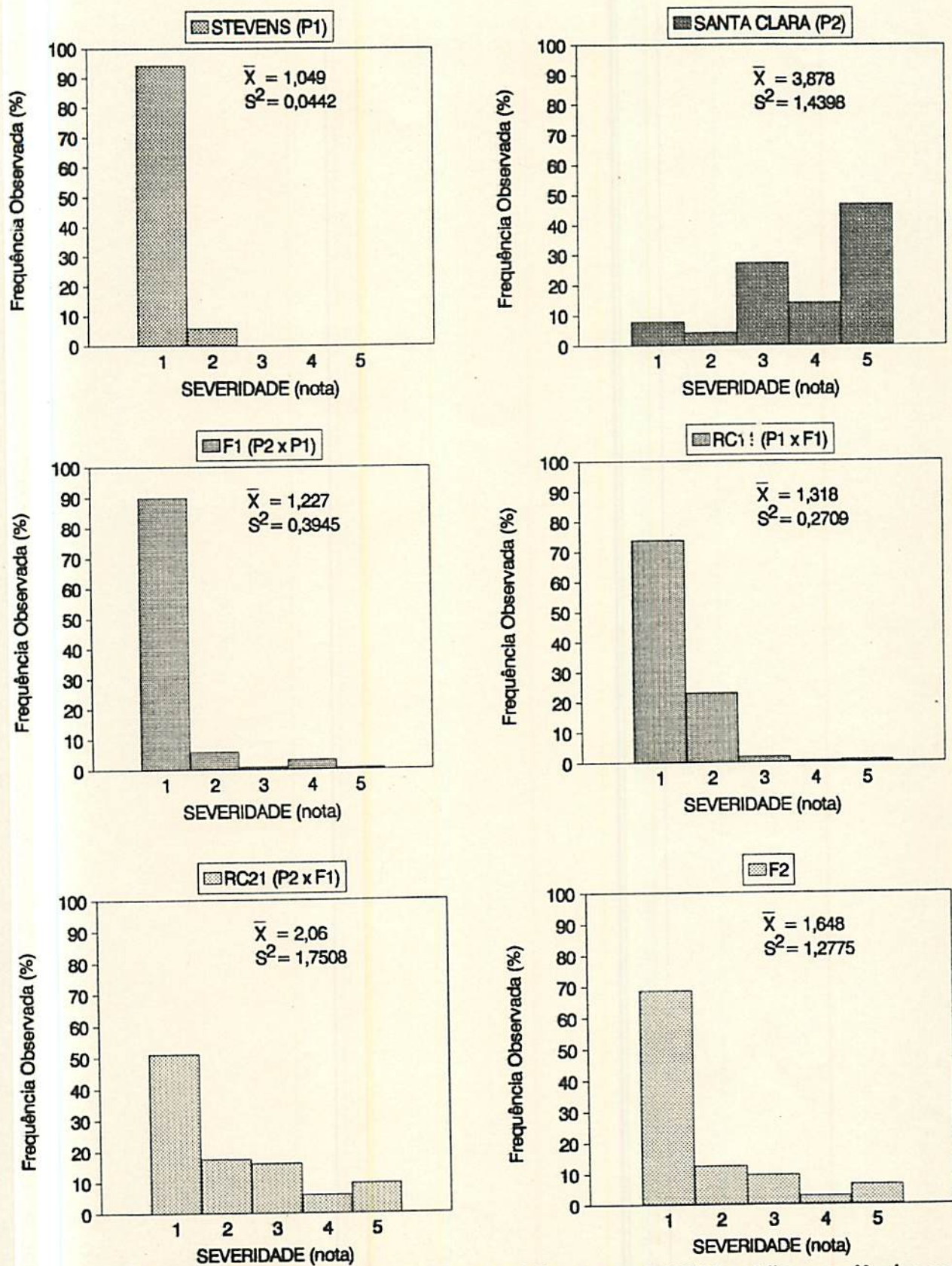


FIGURA 5. Frequências relativas da severidade de infecção por TSWV, médias e variâncias em 6 gerações de *L. esculentum* Mill, proveniente do cruzamento Santa Clara x Stevens. ESAL, Lavras - MG, 1993.

patógeno após seleção. Nagai (1989) relata que na obtenção da cultivar foram realizados ciclos sucessivos de seleção no campo nas condições de São Paulo, onde a virose provoca epifitotias severas. Apesar desta amplitude de variação no parentai Ângela Gigante I-5100 ($\hat{s}^2 = 2,7999$), o confronto das gerações parentais, F_1 e F_2 demonstram, à semelhança do cruzamento anterior, uma tendência para dominância parcial da expressão da resistência em relação à susceptibilidade. Deste modo, fica caracterizada a ação da fonte de resistência original (Rey de Los Tempanos) nos dois materiais genéticos estudados.

Para o cruzamento Santa Clara x Stevens, os resultados obtidos indicam: a presença de dominância no controle do caráter. Como se constata, a linhagem Stevens apresentou grande resistência, sendo as notas sempre inferiores a 3. A geração F_1 apresentou desempenho semelhante a esse pai embora com alguns indivíduos apresentando na avaliação notas superiores. Os resultados apresentados por Stevens, Scott e Gergerich (1991) reforçam essas observações. Esses autores argumentam contudo que esse gene apresenta penetrância incompleta, daí a provável ocorrência de indivíduos da geração F_1 com nota elevada de dano (Tabela 9).

6.3.3 Componentes de médias

6.3.3.1. Cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547

Os modelos testados estão apresentados na Tabela 10. Observou-se neste cruzamento que todos os modelos de cinco componentes testados deram valores de qui-quadrado significativos. Infere-se que o possível modelo para explicar os resultados seja mais complexo que o modelo apresentado para o cruzamento Santa Clara x TSWV-556 (Tabela 10). Estes resultados

servem para reforçar o relato de Maluf, Toma-Braghini e corte (1991), sobre a ocorrência de genes modificadores no "background" Ângela Gigante I-5100, após introdução do(s) gene(s) de resistência de Rey de Los Tempranos quando comparado a Santa Clara.

TABELA 9 - Frequências observadas de 3 cruzamentos de *L. esculentum* Mill, quanto a severidade de infecção por TSWV. ESAL, Lavras-MG, 1993.

Gerações ¹	Frequências observadas (notas)					Nº plantas avaliadas como resistentes	Nº plantas avaliadas como susceptíveis
	1	2	3	4	5		
TSWV-556 (P ₁)	104	31	46	18	18	135	82
Santa Clara (P ₂)	17	9	60	31	103	26	194
F ₁ (P ₂ x P ₁)	66	44	56	11	47	110	114
RC ₁₁ (P ₁ x F ₁)	106	13	68	13	23	119	104
RC ₂₁ (P ₂ x F ₁)	67	24	66	15	50	91	131
F ₂	80	56	58	17	40	136	115
TSWV-547 (P ₁)	184	21	8	5	4	205	17
Âng. Gig. I-5100	83	18	21	35	58	101	114
F ₁ (P ₂ x P ₁)	153	20	24	9	11	173	44
RC ₁₁ (P ₁ x F ₁)	207	5	2	5	4	212	11
RC ₂₁ (P ₂ x F ₁)	135	37	34	4	10	172	48
F ₂	161	26	31	14	17	187	62
Stevens (P ₁)	211	13	0	0	0	224	0
Santa Clara (P ₂)	17	9	60	31	103	26	194
F ₁ (P ₂ x P ₁)	201	13	2	7	1	214	10
RC ₁₁ (P ₁ x F ₁)	163	51	4	1	2	214	7
RC ₂₁ (P ₂ x F ₁)	111	38	35	13	21	149	69
F ₂	171	31	24	7	16	202	47

¹ - Gerações parentais, F₁, retrocruzamentos com 56 plantas e F₂ com 64 plantas

² - Notas - 1 e 2

³ - Notas - 3, 4 e 5.

TABELA 10 - Componentes de médias observados para os cruzamentos Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547, Santa Clara x TSWV-556 e Santa Clara x Stevens. ESAL, Lavras-MG, 1993.

Componentes do modelo	Cruzamentos					
	Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547			Santa Clara x TSWV-556		Santa Clara x Stevens
	Estimativa			Estimativa		Estimativa
m	1,491902 ± 0,96457	2,075 ± 0,2464	3,31305 ± 0,7859	3,0105 ± 0,043		1,9981 ± 0,1198
a	0,706377 ± 0,3772	0,769 ± 0,2464	0,68521 ± 0,1111	0,8645 ± 0,043		1,4085 ± 0,0373
d	0,002146 ± 1,30573	-1,7751 ± 0,9860	-4,3942 ± 1,7736	-1,4234 ± 0,2118		-0,7778 ± 0,1408
i	0,487051 ± 1,0751	-	-1,29269 ± 0,7830	-		0,4590 ± 0,1292
j	-0,09073 ± 1,21416	-0,35086 ± 0,8108	-	-0,9297 ± 0,2074		-1,2301 ± 0,1577
l	-	1,339101 ± 0,9714	2,7201 ± 1,0546	1,0959 ± 0,2230		-
χ^2	37,10*	15,42*	4,91*	0,52ns		0,87ns

onde:

m: média de todas as linhagens possíveis;

a: Σ dos desvios dos homozigotos;

d: Σ dos desvios dos heterozigotos;

i: interação do tipo homozigoto x homozigoto (aditivo:aditivo);

j: interação do tipo homozigoto x heterozigoto (aditivo:dominante);

l: interação do tipo heterozigoto x heterozigoto (dominante:dominante).

6.3.3.2 Cruzamento Santa Clara x TSWV-556

Para este cruzamento e suas gerações segregantes, os resultados dos componentes de média obtidos bem como os erros associados estão apresentados na Tabela 10.

Pelo modelo proposto observa-se que a epistasia do tipo dominante x dominante (l) atuam no sentido de aumentarem a susceptibilidade, enquanto os efeitos de dominância (d) e a epistasia homozigoto x heterozigoto (j) atuam no sentido de aumentarem a resistência. Este tipo de modelo incluindo efeitos epistáticos no controle da resistência a TSWV em tomateiro, a partir

de Rey de Los Tempranos, foi relatado por Upreti e Hartman (1984). No referido estudo, os cruzamentos: PI 203230 x PI 79532 (Rey de Los Tempranos x Pearl Harbor) e PI 203229 (= Manzana) x Brazil, apresentaram na geração F_2 uma relação de 16:27:9:9:3. Neste trabalho, onde se combinaram duas fontes de resistência em cada cruzamento, os autores concluíram que existem pelo menos 3 locos no controle do caráter, dois dominantes e um recessivo com ação epistática sobre os dois anteriores. No tipo de controle genético proposto para a resistência, os autores não utilizaram a análise de componentes de médias. Os resultados basearam-se apenas no estudo da segregação na geração F_2 . No presente trabalho, analisando a distribuição de frequência da geração F_2 do cruzamento Santa Clara x TSWV-556, vislumbra-se uma relação 9:7 (resistentes: susceptíveis), $X^2 = 0,34$ ns ($p = 0,56$), indicando uma possível epistasia recessiva dupla (Ramalho, Santos e Pinto, 1989). Neste caso, as plantas com notas 1 e 2 foram consideradas resistentes.

Para o grau médio de dominância (gmd) estimado pelos componentes de médias encontrou-se a relação $d/a = 1,64$. Poder-se-ia, a primeira vista, visualizar um efeito de sobredominância no controle genético da resistência. Mas, na análise de componentes de médias os efeitos individuais aditivos (a) podem-se cancelar, quando apresentarem sinais no sentido contrário, neste caso, o valor de a (somatório dos efeitos aditivos individuais dos genes) fica subestimado (Mather e Jinks, 1984). Portanto, o excesso de d sobre a pode ocorrer simplesmente porque a contribuição dos locos em homozigose se cancelaram em proporção maior do que a dos em heterozigose.

6.3.3.3 Cruzamento Santa Clara x Stevens

Neste cruzamento, os efeitos de dominância de heterozigotos (d) bem como a epistasia homozigoto x heterozigoto, contribuem para diminuir a susceptibilidade ou maior resistência ao vira-cabeça do tomateiro (Tabela 10). Stevens, Scott e Gergerich (1991) relataram que a resistência na cultivar Stevens, a partir de gerações obtidas do cruzamento Sul Africano Stevens x Rodade é controlada por um gene dominante, com penetrância de 98,7%. Os resultados com base em componentes de médias demonstram estes efeitos de dominância no sentido de resistência. Watterson, Wyatt e Custer (1989) relataram que uma cultivar derivada de *Lycopersicon peruvianum* apresentou resistência conferida por um gene dominante, com um ou mais genes modificadores. Entretanto, este germoplasma não se encontra disponível para testes. No estudo de herança relatado por Stevens, Scott e Gergerich (1991), os autores basearam-se em testes ELISA com leituras para absorbâncias em espectrofotômetro a 490 nm (A_{490}), considerando plantas com $A \leq 0,23$ como não infectadas (nível Treshold). Este tipo de procedimento pode não ser adequado para expressar a resistência ou susceptibilidade ao vírus e sim a detecção ou não do mesmo nos tecidos do hospedeiro. Daí, uma possível discrepância entre os resultados desses autores e os aqui obtidos.

O grau médio de dominância (d/a), calculado pelos componentes de médias para o cruzamento Santa Clara x Stevens, nas gerações estudadas, foi estimado em 0,55, indicando uma dominância incompleta no controle da resistência.

6.3.3.4 Componentes de variância genética e estimativas das herdabilidades e número de genes

As estimativas para os componentes da variância genética e estimativas das herdabilidades, estão apresentadas na Tabela 11.

TABELA 11 - Estimativas das variâncias aditivas ($\hat{\sigma}_A^2$), dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), ambiental ($\hat{\sigma}_E^2$), herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2), grau médio de dominância (gmd) e número provável de genes (n). ESAL, Lavras-MG, 1993.¹

Cruzamento	$\hat{\sigma}_A^2$ ¹	$\hat{\sigma}_D^2$ ²	$\hat{\sigma}_E^2$ ³	$\hat{\sigma}_E^2$ ⁴	h_a^2 ⁵	h_r^2 ⁶	gmd ⁷	n ⁸
Santa Clara x TSWV-556	0,058 ± 0,39	0,1604 ± 0,33	1,7279	1,8228	11,22 ± 9,89	2,9 ± 22,04	1,57 - 2,35	1,8 - 3,3
Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547	1,5211 ± 0,3009	0 ⁹	1,3005	1,4973	53,9 ± 9,8	53,9 ± 14,9	-	0,92 - 1,4
Santa Clara x Stevens	0,5333 ± 0,2862	0,4514 ± 0,211	0,2928	0,5682	77,1 ± 7,6	41,7 ± 19,4	0,81 - 1,3	1,4 - 1,95

^{1,2,5 e 6} Estimativas com base na variância ambiental obtida em 3

^{7 e 8} Estimativas obtidas com base em 3 e 4. Sendo 7 obtido com base em componentes de variância

⁹ Estimativa obtida no valor de -1,2739

Pelos resultados apresentados na Tabela 11, demonstra-se que a expressão da resistência proveniente de Rey de los Tempranos depende do "background" genético envolvido. Os acessos TSWV-547 e TSWV-556, apresentam comportamento diferenciado quanto as diversas estimativas. Nota-se que a herdabilidade no sentido amplo para o cruzamento Santa Clara x TSWV-556 foi muito baixa (11,22%), apresentando um erro associado 88%. Já para Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 a herdabilidade apresentada ao nível de plantas individuais foi de 53,9%, com um erro associado de 18%. Neste caso, infere-se na possibilidade de seleção

individual de plantas resistentes para este cruzamento. Maluf, Braghini e Corte (1991), ressaltaram a possível influência do genótipo utilizado em cruzamentos, na manifestação da resistência a Tospovirus. Os autores salientam a possível ação de genes modificadores em Ângela Gigante I-5100 aumentando a resistência ao vírus. Percebe-se, também, que o número provável de genes envolvidos na expressão do caráter variou de 2 a 3, para o cruzamento Santa Clara x TSWV-556 e apenas um gene para o cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547. Upreti e Hartman (1984) observaram que no cruzamento de Rey de Los Tempranos (PI 203320) com uma linhagem oriunda de *L. pimpinellifolium* (PI 79532) - (Pearl Harbor), a resistência a TSWV é conferida por 3 genes, sendo 2 dominantes e um terceiro recessivo com ação epistática sobre os anteriores.

Para o cruzamento Santa Clara x Stevens, a herdabilidade no sentido amplo e restrito apresentaram estimativas de 77,1% e 41,7%, com erros associados de 9,88% e 46,52%, respectivamente. Vello e Vencovsky (1974) reportam que as estimativas de segundo grau podem apresentar elevados erros associados devendo sua utilização prática ser abordada com restrições. Mas, como a h_a^2 para este cruzamento foi de 77,1% e com um erro associado baixo, permite-se inferir o sucesso para a seleção de indivíduos resistentes em populações segregantes, sem a necessidade do teste de progênes. As estimativas do grau médio de dominância, variando de 0,81 a 1,3, confirmam resultados obtidos por Stevens et al. (1991), onde a resistência ao vírus, na cultivar Stevens é conferida por um gene dominante. Neste caso, o uso dos componentes da variância genética reforçam as observações obtidas com base na análise de distribuição de freqüências do presente trabalho. A estimativa do número de genes envolvidos na expressão da resistência embora tenha variado de 1,4 a 1,9, pode reforçar também, o relato de Watterson, Wyatt e Custer (1989), que no germoplasma obtido de *L. peruvianum*, fonte da qual originou também a cultivar Stevens, a resistência é monogênica com ação de dominância. Segundo os

autores, um ou mais genes modificadores podem expressar alterações nesta resistência. Infere-se deste modo o efeito modificador do germoplasma utilizado no cruzamento com o material selvagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, A.C. Virus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV): Organização do genoma, transmissão, citopatologia, classificação e identificação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.2, p.252-253, ago. 1993a.
- ÁVILA, A.C.; de HAAN, P.; SMEETE, M.L.L.; RESENDE, R. de O.; KORMELINK, R.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACK, R.W.; PETERS, D. Distinct levels of relationship between tospovirus isolates. **Archives of Virology**, New York, v.128, p.211-227, 1993b.
- BURTON, G.W. Quantitative inheritance of Pearl Millet (*Pennisetum glaucum*). **Agronomy Journal**, Madison, v.43, p.409-416, 1951.
- CAVALLI, L. An analysis of linkage in quantitative inheritance. In: REEVE, C.R.; WADINGTON, C.H. (eds.). **Quantitative Inheritance**, London: HMSO, 1952. p.135-44.
- COSTA, A.S. Vira-cabeça, importante moléstia do tomateiro. **A Fazenda**, Campinas, v.42, p.58, 1947.
- COSTA, A.S.; CARVALHO, A.M.B.; COSTA, C.L.; NAGAI, H. Moléstia de vírus do tomateiro. **Boletim do Campo**, Campinas, v.183, p.8-26, 1964.
- COSTA, A.S.; FORSTER. A transmissão mecânica de vira-cabeça por fricção com suco. **Revista Agricultura**, Piracicaba, v.13, p.249-262, 1938.
- CUPERTINO, F.P.; de ÁVILA, A.C.; ARAÚJO, M.T.; KITAJIMA, E.W. Caracterização de isolados de vira-cabeça para emprego em programa de melhoramento do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.2, p.525, jul. 1981.
- DUVAL, C.M.; CUPERTINO, F.P.; LUIZ, A.B.P.; GIORDANO, L.B. Metodologia de inoculação de Tospovirus visando avaliação de germoplasma de tomate. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.4, p.516-521, 1993.

- FINLAY, K.W. Inheritance of resistance to spotted wilt virus in tomato. I - Identification of strains of the virus by the resistance or susceptibility of tomato species. **Australian Journal Scientific Research**, Victoria, v.5, p.303-314, 1952.
- FINLAY, K.W. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato. II - Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. **Australian Journal Biology Science**, Victoria, v.6, p.153-163, 1953.
- FRANCKI, R.I.B.; FAUQUET, C.M.; KNUDSON, D.L.; BROWN, F. Classification and nomenclature of viruses: Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology**, New York, v.2, p.1-450, 1991. (Supplement).
- HOKAMA, K.; MONDAIL, S.N. Effect of temperature on symptom expression of tomato spotted wilt virus in cucumber and *Nicotiana glutinosa*. **Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushi**, v.34, p.21-4, 1988. In: REVIEW OF PLANT PATHOLOGY, Richmond, v.69, n.6, p.362, 1990. (Abst. 2917).
- HUTTON, E.M.; PEAK, A.R. Spotted wilt development in resistance and susceptible *Lycopersicon* species. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.4, p.160-170, 1953.
- IE, T.S. Tomato spotted wilt virus. In: **Descriptions of plant viruses**. Kew: Commonwealth Agricultural Bureaux Association of Applied Biologists, 1970. n.39, 4p.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R.; FIGUEIRA, A.R. Reação de linhagens avançadas de tomateiro a isolados de *Tospovirus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.62-68, 1994.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R.; FIGUEIRA, A.R.; BARBOSA, C.J. Identificação e seleção de linhagens de *Lycopersicon esculentum* Mill, resistentes a um isolado forte e necrótico do vírus de vira-cabeça do tomateiro (TSWV), por inoculação mecânica. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.215, ago. 1992. (Resumo).
- LIMA, J.A.A. Principais problemas de plantas ocasionados por vírus no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n.2, p.263-264, jul. 1986.
- MALUF, W.R.; TOMA-BRAGHINI, M.; CORTE, R.D. Progress in breeding tomatoes for resistance to tomato spotted wilt. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.14, p.509-525, 1991.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. **Biometrical genetics; the study of continuous variation**. 3.ed. London, Chapman and Hall, 1982. 396p.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. **Introdução à genética biométrica**. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242p.

- NAGAI, H. Avanços obtidos com o melhoramento genético do tomate no Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE TOMATE, I, Viçosa, 1989. *Anais...* Viçosa: UFV, 1989. p.88-107.
- PATERSON, R.G.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Resistance in two *Lycopersicon* species to an Arkansas isolated of tomato spotted wilt virus. *Euphytica*, Wageningen, v.43, p.173-178, 1989.
- RAMALHO, M.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.A.B.P. **Genética na Agropecuária**. Globo, São Paulo, 1989. 359p.
- RAMALHO, M.P.; SANTOS, J.B.; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271p.
- RESENDE, R. de O.; HAAN, P.; VAN DE VOSSEN, E.; ÁVILA, A.C.; GOLDBACH, R.; PETERS, D. Defective interfering (DI) LRNA segments of tomato spotted wilt virus (TSWV) retain both virus genome terminus and have extensive internal deletion. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.73, p.2504-2516, 1992.
- RESENDE, R. de O.; HAAN, P.; VAN DE VOSSEN, E.; ÁVILA, A.C.; KITAJIMA, E.W.; KORMELINK, R.; GOLDBACH, R.; PETERS, D. Generation of envelope and defective interfering RNA mutants of tomato spotted wilt virus by mechanical passage. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.172, p.2375-2383, 1991.
- ROWE, K.E.; ALEXANDER, W.L. Computations for estimating the genetic parameters in joint-scaling tests. *Crop Science*, Madison, v.20, p.109-110, 1980.
- STEVENS, M.R.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, Wageningen, v.59, p.9-17, 1991.
- TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T. Doenças do tomateiro. In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de Fitopatologia; doenças das plantas cultivadas**. 2.ed. São Paulo: Ceres, 1980. v.2, p.551-552.
- UPRETI, G.; HARTMAN, R.W. Inheritance of resistance to spotted wilt virus in tomato. *Journal IASS (Institute of Agricultural and Animal Science)*, Nepal, v.4, p.19-25, 1984.
- VAN ZIJL, J.J.B.; BOSH, S.E.; COETZEE, C.P.J. Breeding tomatoes for processing in South Africa. *Acta Horticulturae*, La Plata, v.194, p.69-75, 1986.
- VELLO, N.A.; VENCOSKY, R. Variâncias associadas às estimativas da variância genética e coeficiente de herdabilidade. In: **Relatório Científico da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, 1974. p.238-48.

WARNER, J.N. A method for estimating heritability. **Agronomy Journal**, Madison, v.44, p.427-430, 1952.

WATTERSON, J.; WYATT, J.C.; CUSTER, D. Inheritance of tomato spotted wilt resistance in tomato. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF HORTICULTURAL SCIENCE VEGETABLE VIRUS WORKING GROUP, 6th Conference, 1989. Abstracts... Asilomar: USA, 1989. p.24. (Recent Advances in Vegetables Virus Research).

YUKI, W.A.; COSTA, A.S. Epidemiologia do vírus do vira-cabeça em Campinas - SP, mantém-se estável em 50 anos. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.14, n.1/2, p.56, 1988.

7 ESTIMATIVA DA HERDABILIDADE DA RESISTÊNCIA À TOSPOVIRUS UTILIZANDO POPULAÇÕES SEGREGANTES COM DIFERENTES PROPORÇÕES ALÉLICAS

RESUMO

Neste estudo foram utilizadas 60 progênies F_2 dos retrocruzamentos para cada parental (RC_{11} e RC_{12}) e 60 progênies F_3 para cada um dos cruzamentos Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂) e Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂). Para os dois experimentos foram utilizados 10 blocos aumentados contendo 18 tratamentos não comuns e seis tratamentos comuns [Stevens, TSWV-547, TSWV-556, Ângela Gigante I-5100, Santa Clara e F_1 (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547)], em cada bloco. As linhagens TSWV-547 e TSWV-556 apresentam base genética semelhante a Ângela Gigante I-5100 e a Santa Clara e foram obtidas a partir de Rey de Los Tempanos. As parcelas experimentais constituíram de 30 plantas obtidas em bandejas de isopor com 128 células (dimensões 3,5 cm x 3,5 cm x 6 cm). Para controle experimental deixaram-se oito plantas da cultivar Santa Clara inoculadas em cada bandeja. Realizaram-se duas inoculações mecânicas espaçadas de 5 dias em plantas com duas folhas definitivas. O inóculo foi obtido através de um isolado da espécie TSWV multiplicado em plantas de fumo TNN com 6-8 folhas e em seguida maceradas em tampão fosfato gelado 0,1M, pH = 7,0, acrescido de sulfito de sódio 0,01 M, na proporção de 4 g de folhas com sintomas

sistêmicos/20 ml de tampão. A avaliação e severidade de sintomas ocorreu aos 25 dias após a segunda inoculação, com base na escala de 1 a 5 (onde 1 - plantas aparentemente saudáveis e 5 = plantas mortas). A análise dos dados em blocos aumentados, para média de tratamentos comuns e não comuns (progênies), revelou herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2) com valores de 96,6% e 32,65% para o cruzamento Santa Clara x TSWV-556 e 93,29% e 0% para o cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547, respectivamente. Observou-se maior magnitude da variância de dominância em relação a aditiva nos dois cruzamentos estudados.

SUMMARY

In this study 60 F_2 progenies of the backcrosses to each parental line (RC_{11} and RC_{21}) and 60 F_3 progênies were tested for each of the crosses Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂) and Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂). In the two trials were used 10 augmented blocks with 18 non-replicate treatments and 6 common treatments [Stevens, TSWV-547, TSWV-556, Ângela Gigante I-5100, Santa Clara) and F_1 (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547)]. The breeding lines TSWV-547 and TSWV-556 have a common source of resistance (Rey de Los Tempranos) and are near isogenic lines to Ângela Gigante I-5100 and Santa Clara. The plots were arranged with 30 plants in foam trays with 128 cells (3.5 cm x 3.5 cm x 6 cm). Eight plants of the Santa Clara cultivar were inoculated as a susceptible control in each trays. Two mechanical inoculation in 2-leaf stage plantlet were effected with a 5-day interval. The inoculum was obtained through the multiplication of a TSWV isolate in TNN tobacco plants with 6-8 leaves. The leaves

were ground in cold 0.01M phosphate buffer 0.01M, pH = 7.0, with 0.01M sodium sulphite (4 g of leaves with systemic symptoms/20 ml of buffer). The greenhouse temperature variation was checked daily. The evaluation was realized 25 days after the second inoculation based on the severity ratings (where: 1 = apparently healthy plants and 5 = dead plants). The analysis of the data lead to broad and narrow sense heritability estimates of 96.6% and 32.65% for the Santa Clara x TSWV-556 cross, and 93.29% and 0% for the Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 cross, respectively. A larger magnitude of the variance of dominance variation relatively to the additive variance was observed in the crosses studied.

7.1 INTRODUÇÃO

Os tospovirus apresentam como membro tipo a espécie Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) (Ávila, 1993). O gênero Tospovirus foi incluído na família Bunyaviridae (Francki et al., 1991). No Brasil, o complexo patológico é referido como o vira-cabeça do tomateiro, sendo uma das doenças de maior importância para o tomateiro no Brasil (Lima, 1986). Ávila et al. (1993) relataram também as espécies Tomato Chlorotic Spot Virus (TCSV) e Groundnut Ring Spot Virus (GRSV), como causadoras de doenças do complexo vira-cabeça.

Fontes de resistência e progressos no melhoramento do tomateiro a tospovirus têm sido mencionadas na literatura (Nagai, Lorenção e Siqueira 1991; Maluf, Toma-Braghini e Corte, 1991; Paterson, Scott e Gergerich, 1991 e Stevens, Scott e Gergerich, 1991). No entanto, estudos para a genética da resistência para o vírus de vira-cabeça do tomateiro ainda são escassos. O primeiro relato do controle genético da resistência em Tospovirus foi apresentado por Finlay (1953). O autor mencionou que a resistência em Rey de Los Tempranos a sete de dez isolados de

Tospovirus utilizados, como sendo controlada por 4 genes: Sw_1^b , sw_2 , sw_3 e sw_4 , ou seja um loco com alelo dominante e 3 locos com alelos recessivos. Stevens, Scott e Gergerich (1991) observaram um gene dominante na cultivar Stevens como responsável pela resistência a Tospovirus. Juliatti e Maluf (1993) relataram que a resistência a Tospovirus em Rey de Los Tempranos é devida a 1 a 3 genes com dominância parcial. Relato preliminar de Maluf, Tomabraghini e Corte (1991) sugerem que a resistência em Rey de Los Tempranos poderia ser conferida por alelo(s) recessivo(s).

Juliatti e Maluf (1993), após 3 inoculações mecânicas determinaram herdabilidades no sentido amplo para os cruzamentos Santa Clara x TSWV-556; Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e Santa Clara x Stevens com valores de 11.22, 53.9 e 77.1%, respectivamente, demonstrando assim a possibilidade de sucesso na seleção de plantas individuais resistentes em populações segregantes pelo menos para os dois últimos cruzamentos.

Os objetivos deste trabalho são o de estimar as herdabilidades no sentido amplo e restrito da resistência a Tospovirus (TSWV) em progênies oriundas das gerações F_2 dos retrocruzamentos e F_3 para os parentais Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂) e Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 (♂).

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Cruzamento Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂)

7.2.1.1 Obtenção das populações e metodologia de inoculação

Foram utilizadas progênes F₂ dos retrocruzamentos Santa Clara (♀) x F₁ [Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂)] (♂) e TSWV-556 (♀) x F₁ [Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂)] (♂) e as progênes F₃ do cruzamento Santa Clara x TSWV-556. As progênes foram obtidas de plantas individuais autofecundadas em campo, das quais extraíram-se as sementes, sendo estas armazenadas em câmara fria a 12-15°C. As linhagens resistentes TSWV-547 e TSWV-556 são de base genética semelhantes a Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara, respectivamente (Maluf, Tomabraghini e Corte, 1991 e Juliatti, Maluf e Figueira, 1994).

O delineamento experimental adotado foi o de blocos aumentados (Federer, 1956), com seis tratamentos comuns (Stevens, TSWV-547, TSWV-556, Ângela Gigante I-5100, Santa Clara e F₁ (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547)). Utilizaram-se 10 blocos contendo ainda 18 tratamentos não comuns em cada bloco. As parcelas constituíram-se de 30 plantas obtidas em bandejas de isopor do tipo "speedling" com 128 células (dimensões 3,5 cm x 3,5 cm x 6 cm), as quais continham substrato orgânico Plantcell, mais casca de arroz carbonizada, na proporção 1:1. Adubou-se o substrato com 800 g de 4-14-8 por saco de mistura. Como controle experimental, da eficiência da inoculação, deixaram-se oito plantas da cultivar Santa Clara em cada bandeja. Realizaram-se duas inoculações espaçadas de 5 dias em plantas com duas folhas definitivas. O inóculo foi obtido de um isolado de *Tospovirus* da espécie TSWV (Juliatti, Maluf e Figueira,

1994), multiplicado em plantas de fumo cujas folhas apresentavam sintomas de anéis e mosaico sistêmico. Após a trituração das folhas em liquidificador utilizando tampão fosfato gelado 0,01M, pH = 7,0, acrescido de sulfito de sódio 0,01M, na proporção 1:5 (4 g folha/20 ml tampão), seguiu-se a coagem em gaze asséptico. O inóculo foi transportado para casa-de-vegetação em caixa de isopor contendo gelo. Em seguida procedeu-se a inoculação mecânica utilizando como abrasivo Carborundum 600 mesh. A aplicação do inóculo foi realizada com um pulverizador Brunden-Jacto (1 l) nas folhas com abrasivo. Em seguida aplicou-se os dedos e a palma da mão sobre as folhas para facilitar a entrada do inóculo. Os tratos fitossanitários foram realizados durante a condução do experimento com aplicações semanais de benomil (1 g p.c./l), iprodione (1,5 g/l), agrimicina (4 g p.c./l) ou kasugamicina (3 ml/l) e deltametrina (3 ml/10 l), para o controle de *Alternaria solani*, *Septoria lycopersici*, mancha bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) e *Diabrotica speciosa*, respectivamente. Também foram realizadas aplicações semanais de uréia 0,5%.

O monitoramento diário das temperaturas mínimas e máximas foi realizado durante todo o experimento.

Avaliou-se aos 25 dias, após a segunda inoculação, a severidade de sintomas com base na seguinte escala de sintomas (Juliatti, Maluf e Figueira, 1994): 1 = plantas aparentemente saudáveis; 2 = plantas com sintomas leves, ligeiro amarelecimento, arroxamento dos folíolos e desenvolvimento normal; 3 = plantas com arroxamento mais severo dos folíolos e presença de alguns anéis e pontos necróticos nos folíolos superiores e/ou tombamento do ponteiro para baixo (epinastia); 4 = plantas com arroxamento e/ou amarelecimento severo com redução acentuada no crescimento e necrose severa dos folíolos; 5 = necrose severa em toda planta ou planta morta. Os dados obtidos foram submetidos a uma análise de variância (Federer, 1956). A variância fenotípica

média σ_F^2 foi obtida a partir das médias ajustadas para todas as progênes referentes as três populações (retrocruzamentos e F_3). Em função desta e a partir do QM resíduo intrablocos foi obtida a variância genética dos tratamentos regulares ou não comuns ($\hat{\sigma}_G^2$) (Tabela 12).

7.2.1.2 Estimativa das variâncias e herdabilidade no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2)

Seguindo o esquema proposto por Mather e Jinks (1982 e 1984) e Ramalho, Santos e Zimmermann (1993) obteve-se as expressões apresentadas na Tabela 12 para estimativa das variâncias ambientais entre, além da variância aditiva e de dominância.

Também foram utilizadas expressões para determinação da herdabilidade no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2).

7.2.1.3 Distribuição de frequência

Efetou-se para cada população e para os tratamentos comuns a distribuição para severidade de sintomas (média ajustada) em cada progênie (tratamentos comuns).

7.2.2 Cruzamento Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂)

Procedeu-se da mesma maneira como o item anterior.

TABELA 12 - Expressões utilizadas para obtenção das equações referentes aos cruzamentos Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂) e Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂) para determinação da variância fenotípica média ($\hat{\sigma}_F^2$), variância genética ($\hat{\sigma}_G^2$), variância aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$), variância de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), variância ambiental entre gerações ($\hat{\sigma}_{Eb}^2$), herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2). ESAL, Lavras - MG, 1994.

População	Estimativas	Simbologia da Expressão utilizada
Progênes F ₃ e F ₂ de cada retrocruzamento	Variância fenotípica média	$\hat{\sigma}_F^2$
Retrocruzamentos (F ₂ RC ₁₁ + F ₂ RC ₂₁)	$\hat{\sigma}_A^2, \hat{\sigma}_D^2, \hat{\sigma}_{Eb}^2$	$\hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{2}\hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_{Eb}^2$
Progênes F ₃	$\hat{\sigma}_A^2, \hat{\sigma}_D^2, \hat{\sigma}_{Eb}^2$	$\hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4}\hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_{Eb}^2$
-	$\hat{\sigma}_A^2$	$2\hat{\sigma}_{F_3}^2 - (\hat{\sigma}_{RC12}^2 + \hat{\sigma}_{RC22}^2)$
-	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_F^2 - \hat{\sigma}_{Eb}^2$
-	$\hat{\sigma}_{Eb}^2$	$\hat{\sigma}^2$ resíduo intrablocos/10
-	$\hat{\sigma}_D^2$	$\hat{\sigma}_G^2 - \hat{\sigma}_A^2$
-	h_a^2	$h_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_F^2} = \frac{\hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_F^2}$
-	h_r^2	$h_r^2 = \frac{\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_F^2}$

1 - Mather e Jinks (1982 e 1984) e Ramalho, Santos e Zimmermann (1993).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 13 e 14 apresentam as análises de variância para os dois experimentos realizados, sendo verificado efeito de tratamentos ajustados. Os coeficientes de variação demonstraram valores de 15,81% para o experimento das progênes oriundas do cruzamento Santa Clara x TSWV-556. Enquanto no cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 registrou-se o valor de 20,29%.

As estimativas dos componentes da variância fenotípica média são apresentados na Tabela 15. Determinou-se então uma herdabilidade no sentido amplo (h_a^2) de 96,6% e no sentido restrito (h_r^2) de 32,65%, para o cruzamento Santa Clara x TSWV-556. Confrontando com as estimativas obtidas para o mesmo cruzamento ao nível de plantas individuais, cujos valores foram de 11,22 e 2,9%, respectivamente, justifica-se, deste modo, em parte, o sucesso da obtenção das linhagens resistentes a Tospovirus (TSWV-547 e TSWV-556), por Maluf, Toma-Braghini e Corte, 1991, onde foram utilizados testes sucessivos de progênes sob inóculo natural de Tospovirus em condições de campo na região de Campinas-SP. No cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547, cuja análise em plantas individuais apresentou herdabilidade no sentido amplo com valor de 53,9% e um erro associado de 18% (Juliatti e Maluf, 1993), com a utilização do teste de progênes, determinou-se uma herdabilidade no sentido amplo de 93,29%. Portanto, maior confiabilidade poderá ser obtida na seleção para Tospovirus em populações segregantes, na qual se realiza o teste de progênes, principalmente em mecanismos de resistência parcial como é a fonte de resistência original Rey de Los Tempranos (Kumar e Ullman, 1993), os quais são muito influenciados pelo ambiente (Fisher e Ruffy, 1993). Para as condições experimentais deste trabalho

as temperaturas máximas apresentaram uma variação de $39,38 \pm 2,51^{\circ}\text{C}$, enquanto as temperaturas mínimas variaram de $19,53 \pm 2,05^{\circ}\text{C}$.

TABELA 13 - Análise de variância para progênies F_2 RC₁₁, F_2 RC₂₁ e F_3 do cruzamento Santa Clara x TSWV-556 e os tratamentos comuns (TSWV-547, Stevens, Ângela Gigante I-5100, F_1 (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547), Santa Clara e TSWV-556). ESAL, Lavras, MG, 1994.

Fonte de variação	GL	QM	F
Blocos ajustados	9	0,2016	1,28ns
Tratamentos ajustados	185	0,6231	3,96** ¹
Trat. comuns (TC ²)	5	6,3988	40,64**
TNC ³ (TC vs. TNC)	80	0,4627	2,94**
Resíduo intrablocos	45	0,1575	
Total	239		

¹ ** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

² TC = Tratamentos comuns (com repetições)

³ TNC = Tratamentos não comuns (sem repetições) - Tratamentos regulares

Erros padrões	Valor observado
Para 2 tratamentos comuns	0,1776
Para 2 tratamentos não comuns (mesmo bloco)	0,56112
Para 2 tratamentos não comuns (blocos diferentes)	0,6061
Para um tratamento comum e outro não comum	0,4495
CV (%)	15,81
Média geral	2,51

TABELA 14 - Análise de variância para progênies RC₁₂, RC₂₂ e F₃ do cruzamento Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e os tratamentos comuns (TSWV-547, Stevens, Ângela Gigante I-5100, F₁ (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547), Santa Clara e TSWV-556). ESAL, Lavras, MG, 1994.

Fonte de variação	GL	QM	F
Blocos ajustados	9	0,26852	1,09ns
Tratamentos ajustados	185	0,5033	2,04** ¹
Trat. comuns (TC ²)	5	6,3464	25,79**
TNC ³ (TC vs. TNC)	80	0,3409	1,38ns
Resíduo intrablocos	45	0,2461	
Total	239		

¹ ** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

² TC = Tratamentos comuns (com repetições)

³ TNC = Tratamentos não comuns (sem repetições) - Tratamentos regulares

Erros padrões	Valor observado
Para 2 tratamentos comuns	0,2218
Para 2 tratamentos não comuns (mesmo bloco)	0,7016
Para 2 tratamentos não comuns (blocos diferentes)	0,7578
Para um tratamento comum e outro não comum	0,5620
CV (%)	20,29
Média geral	2,44

TABELA 15 - Estimativas das variâncias fenotípica média ($\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$), variância genética ($\hat{\sigma}_G^2$), da soma das variâncias entre retrocruzamentos ($\hat{\sigma}_{RC}^2$), variância aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$), variância de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), variância ambiental entre ($\hat{\sigma}_{E_b}^2$), herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) e restrito (h_r^2), para dois cruzamentos em *Lycopersicon esculentum* Mill. ESAL, Lavras, MG, 1994.

Procedimento utilizado	Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂)							
	$\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_{RC}^2$	$\hat{\sigma}_A^2$	$\hat{\sigma}_D^2$	$\hat{\sigma}_{E_b}^2$	h_a^2	h_r^2
Relação entre variâncias e ANAVA . Uso de resíduo intrablocos	0,46	0,4442	0,7424	0,1502	0,2940	0,10575	96,6	32,65
Procedimento utilizado	Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂)							
	$\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_{RC}^2$	$\hat{\sigma}_A^2$	$\hat{\sigma}_D^2$	$\hat{\sigma}_{E_b}^2$	h_a^2	h_r^2
Relação entre variâncias e ANAVA . Uso de resíduo intrablocos	0,3667	0,2789	0,6273	0,0	0,3421	0,02461	93,29	0,0
Estimativa negativa (-0,0203)								

Em relação à variância de dominância (Tabela 15) determinou-se que os seus efeitos são de maior magnitude em relação à variância aditiva, quando se visa a seleção para resistência a TSWV, a partir do acesso original Rey de Los Tempranos. Resultados semelhantes foram encontrados por Kumar e Irullappan (1991) na Índia, utilizando populações oriundas de cruzamentos com espécies selvagens e por Juliatti e Maluf (1993) para o cruzamento Santa Clara x TSWV-556, baseando na análise ao nível de plantas individuais. Observando-se a distribuição de frequência (Figuras 6 e 7) nas populações oriundas dos dois cruzamentos realizados confirmam-se estas tendências. Distribuições de frequências assimétricas para a geração F_2 oriunda dos

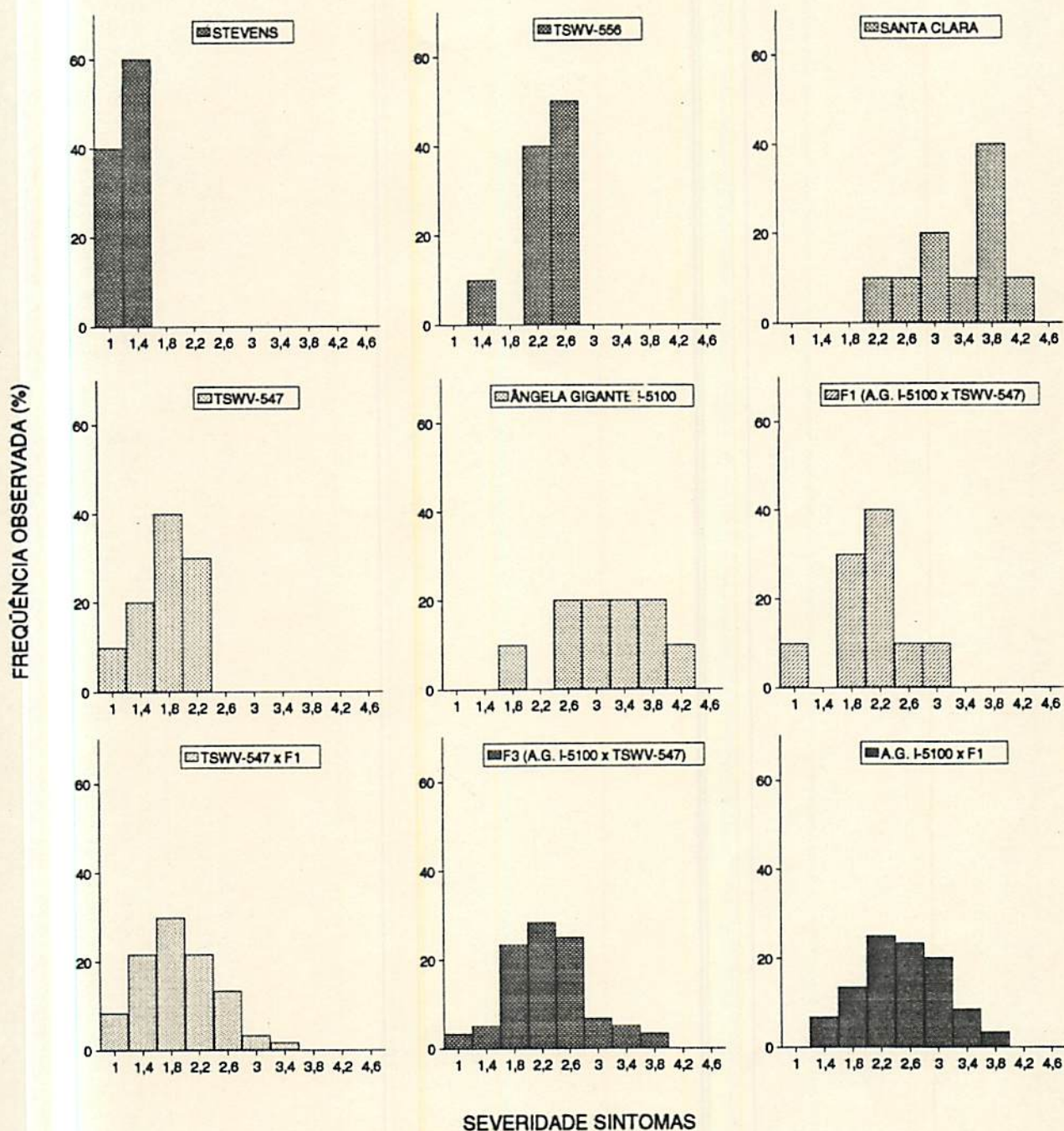


FIGURA 6. Distribuição de frequências para linhagens (Stevens, TSWV-547, TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara), F₁ (Ângela Gigante I-5100 × TSWV-547), progênies F₂ dos retrocruzamentos e F₃ do cruzamento Ângela Gigante I-5100 × TSWV-547. ESAL, Lavras - MG, 1994.

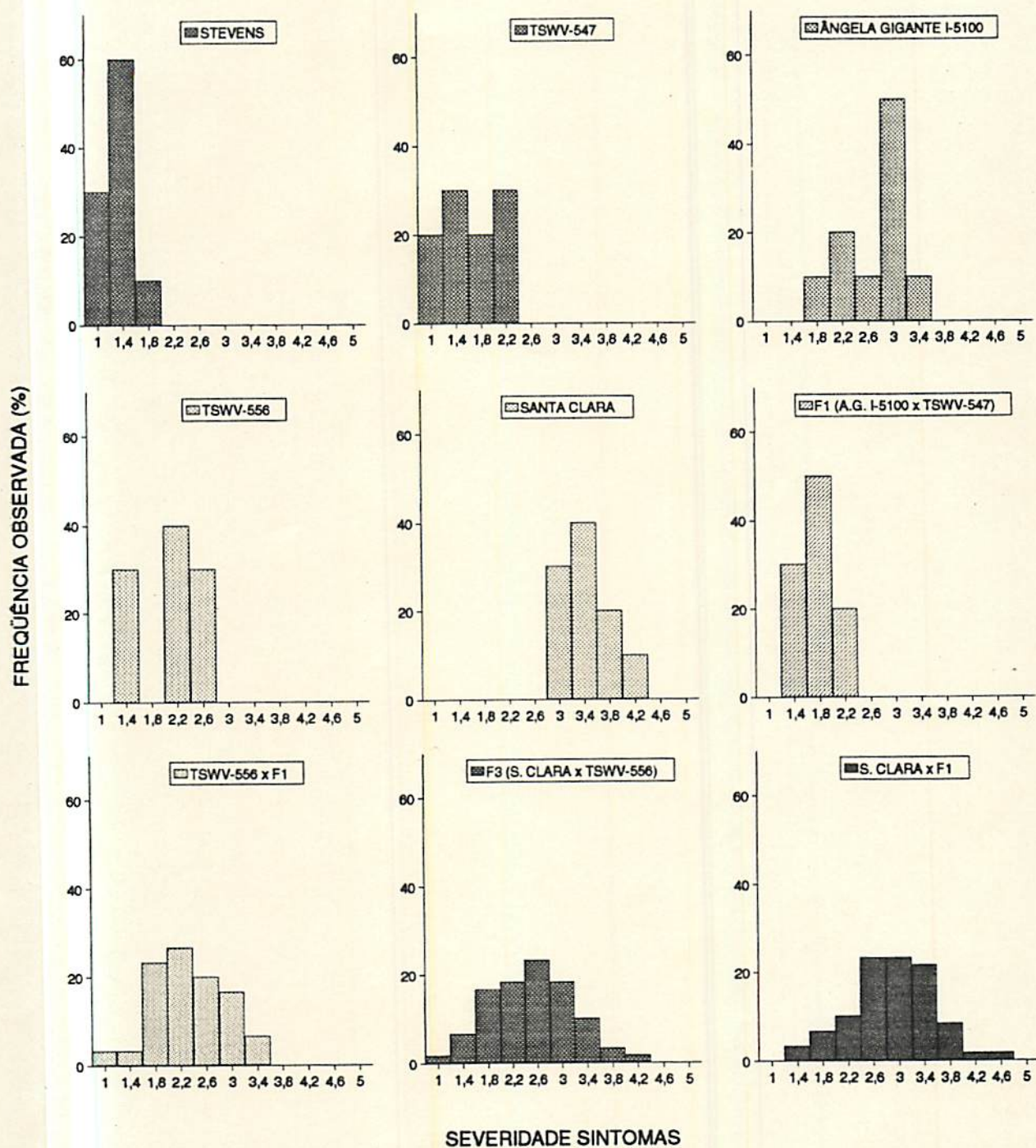


FIGURA 7. Distribuição de freqüências para linhagens (Stevens, TSWV-547, TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 e Santa Clara), F₁ (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547), progênies F₂ dos retrocruzamentos e F₃ do cruzamento Santa Clara x TSWV-556. ESAL, Lavras - MG, 1994.

cruzamentos Santa Clara (♀) x TSWV-556 (♂) e Ângela Gigante I-5100 (♀) x TSWV-547 (♂), também foram observadas por Juliatti e Maluf (1993). Indicando deste modo a presença dos efeitos de dominância para resistência a TSWV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, A.C.; de HAAN, P.; SMEET, M.L.L.; RESENDE, R. de O; KORMELINK, R.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Distinct levels of relationship between Tospovirus isolates. *Archives of Virology*, New York, v.128, p.211-227, 1993.
- FEDERER, W.T. Augmented (or hoonuiaku) designs. *Hawaiian Planter's Record*, Honolulu, v.55, p.191-208, 1956.
- FINLAY, K.W. Inheritance of spotted wilt resistance in tomato. II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. *Australian Journal Biology Science*, Victoria, v.6, p.153-163, 1953.
- FISCHER, D.B.; RUFTY, R.C. Inheritance of partial resistance to tobacco etch virus and tobacco vein motting virus in Burley tobacco cultivar Sota 6505. *Plant Disease*, St. Paul, v.77, N.7, P.662-666, Jul. 1993.
- FRANCKI, R.I.B.; FAUQUET, C.M.; KNUDSON, D.L.; BROWN, F. Classification and nomenclature of viruses: Fifty report of the International Committee on Taxonomy of viruses. *Archives of Virology*, New York, v.2, p.1-450, 1991. (Supplement).
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R. Herança da resistência para um isolado agressivo do vírus de vira-cabeça do tomateiro (VVCT) em *Lycopersicon esculentum* Mill. In: CONGRESSO DA PÓS-GRADUAÇÃO NA ESAL, 6, Lavras, 1993. *Anais...* Lavras: ESAL, 1993. p.83-84.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R.; FIGUEIRA, A.R. Reação de linhagens avançadas de tomateiro a isolados de Tospovirus. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, n.1, p.62-68, mar. 1994.
- KUMAR, N.; IRULAPPAN, I. Breeding tomatoes resistant to spotted wilt virus: genetics of disease resistance. *South Indian Horticulture*, Coimbatore, v.39, n.6, p.346-349, 1991.
- KUMAR, N.K.; ULLMAN, D.E. Evaluation of *Lycopersicon* germplasm for tomato spotted wilt tospovirus resistance by mechanical and thrips transmission. *Plant Disease*, St. Paul, v.77, n.9, p.938-941, Sept. 1993.

- LIMA, J.A.A. Principais problemas de plantas ocasionados por vírus no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11. n.2, p.263-264, jul. 1986.
- MALUF, W.R.; TOMA-BRAGHINI, M.; CORTE, R.D. Progress in breeding tomatoes for resistance to tomato spotted wilt. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.14, p.509-525, 1991.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. **Biometrical genetics: the study of continuous variation**. 3.ed. London: Chapman and Hall, 1982. 396p.
- MATHER, K.; JINKS, J.L. **Introdução à genética biométrica**. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242p.
- NAGAI, H.; LOURENÇÃO, A.L.; SIQUEIRA, W.J. Advances in tomato breeding for spotted wilt virus and leafminer resistance in Brazil. In: **INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS: INTEGRATED MANAGEMENT FOR CROP PROTECTION**, 12, Rio de Janeiro, 1991. **Abstracts...** Rio de Janeiro, 1991. s.p.
- PATERSON, R.G.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Resistance in two *Lycopersicon* species to an Arkansas isolate of tomato spotted wilt virus. **Euphytica**, Wageningen, v.43, p.173-178, 1989.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271p.
- STEVENS, M.R.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. **Euphytica**, Wageningen, v.59, p.9-17, 1991.

8 SELEÇÃO DE PROGÊNIES RESISTENTES A UM ISOLADO DE TOSPOVIRUS EM *Lycopersicon esculentum* Mill.

RESUMO

Uma população de tomateiro F_2 [Santa Clara x F_1 (Santa Clara x Stevens)] foi selecionada ao nível de plantas individuais para formato de frutos Santa Clara. As sementes das plantas selecionadas foram colhidas em Bulk e em seguida inoculadas por um isolado da espécie TSWV. Uma segunda população F_1 [Nemadoro x F_1 (Nemadoro x Stevens)] recebeu inoculação semelhante. O inóculo foi multiplicado em plantas de fumo TNN, em seguida folhas com sintomas sistêmicos foram maceradas na proporção de 4 g de inóculo/20 ml de tampão fosfato 0,01M, pH = 7,0, acrescida de sulfito de sódio 0,01M e aplicado mecanicamente em plantas no estágio de 2 folhas definitivas. Quatro bandejas de isopor com 410 plantas da primeira população e 2 com 210 plantas da segunda mais 8 plantas dos respectivos parentais foram inoculadas 4 vezes em intervalos semanais. Plantas individuais foram avaliadas para sintomas 15 dias após a quarta inoculação. Foi observado uma relação 1:1 (resistentes:susceptíveis) para a segunda população, conforme esperado se um gene dominante controlasse a resistência. Na avaliação das progênies F_3 e F_2 para cada um dos retrocruzamentos permitiu-se a identificação das progênies segregantes e não segregantes para o gene Sw-5.

SUMMARY

Two populations of tomato were tested to a Tospovirus isolate. Plants from the F₂ population Santa Clara x F₁ (Santa Clara x Stevens) was selected on an individual plant based on their fruit similarity to Santa Clara, and seed harvested in bulk from these selected plants. From a second population Nemadoro x F₁ (Nemadoro x Stevens), the F₁ RC₁₁ plants unselected for fruit were chosen according to shape and were also inoculated. An isolate of TSWV species multiplied in TNN tobacco plants were used for the mechanical inoculations. TNN leaves with systemic symptoms were macerated in frozen pestle mortar in the proportion of 4 g/20 ml of 0,01M phosphate buffer, pH = 7.0 with 0.01M of sodium sulphite added, and mechanically inoculated in plants at the two leaf stage. Four trays with 410 plants from the first population and two others with 210 from the second were used, respectively. Eight plants from the respective parents were weekly inoculated. Fifteen days before the 4th inoculation the individual plants were evaluated. A relation of 1:1 (resistant:susceptible) was demonstrated for the 2nd population. In the F₂ and F₃ of the backcross progenies, it was possible to identify the segregating and non segregating progenies for the Sw₅ gene.

8.1 INTRODUÇÃO

Os tospovirus, dentro da família Bunyaviridae, são um complexo viral de grande importância epidemiológica, transmitidos por cerca de oito espécies de tripses (Ávila, 1992; Cho et al., 1989). A espécie TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus) é tida como membro tipo dentro do gênero Tospovirus (Francki et al., 1991). Ávila et al. (1993a, 1993b) relataram a ocorrência de

outras duas espécies de tospovirus (Tomato Chlorotic Spot Virus - TCSV e Groundnut Ring Spot Virus - GRSV). Nos meses quentes do ano, este complexo viral tem se tornado o principal problema da cultura do tomateiro, pois infestações do vetor virulífero são constantes. O inseto vetor desta fitovirose pertence a família Thripidae (ordem: Thysanoptera) (Best, 1968). Dado a eficiência da resistência genética no controle destas doenças, urge desenvolver linhagens e/ou variedades de tomateiro resistentes com boas características comerciais.

Fontes de resistência a Tospovirus têm sido relatadas em *Lycopersicon* (Kikuta e Frazier, 1946; Finlay, 1952, 1953; Eskes e Nagai, 1981; Maluf, Toma-Braghini e Corte, 1991 e Stevens, Scott e Gergerich, 1991). A cultivar Stevens, originária da África do Sul apresenta um gene dominante de resistência a Tospovirus, com penetrância de 98,7% (Stevens, Scott e Gergerich, 1991). A partir do cruzamento da cultivar Santa Clara com este material foi determinada uma herdabilidade de 77,1%, ao nível de plantas individuais, indicando a possibilidade de seleção de plantas resistentes com base na seleção de plantas individuais em populações segregantes (Juliatti e Maluf, 1993a). Segundo Cupertino et al. (1993), a espécie *Lycopersicon peruvianum* utilizada para obtenção da cultivar Stevens apresenta resistência múltipla a três espécies de Tospovirus (Tomato Spotted Wilt Virus, Tomato Chlorotic Spot Virus e Groundnut Ring Spot Virus). Dusi et al. (1993) apresentaram a linhagem TX-10, obtida na geração F₅ do cruzamento entre Rodade x Stevens como resistente as três espécies de Tospovirus citadas anteriormente.

O objetivo deste trabalho é de identificar plantas resistentes a partir da geração F₂ do primeiro retrocruzamento de Santa Clara x F₁ (Santa Clara x Stevens) e F₁ [Nemadoro x F₁ (Nemadoro x Stevens)] e determinar seus possíveis genótipos.

8.2 MATERIAL E MÉTODOS

8.2.1 Avaliação de plantas individuais

Do cruzamento Santa Clara x F₁ (Santa Clara x Stevens) foram transplantadas cerca de 400 plantas em condições de campo, onde praticou-se a seleção individual para formato de fruto Santa Clara. As sementes RC₁₂ das plantas selecionadas em campo foram colhidas em Bulk e em seguida selecionadas sob a infecção de um isolado de Tospovirus, pertencente a espécie TSWV (Juliatti e Maluf, 1993b; Juliatti, Maluf e Figueira, 1994), juntamente com plantas oriundas do cruzamento [Nemadoro x F₁ (Nemadoro x Stevens)]. O inóculo foi obtido em plantas de fumo TNN (*Nicotiana tabacum* cv. Turkish NN) com sintomas sistêmicos. Utilizou-se uma concentração viral de 1:5 (4 g de inóculo/20 ml de tampão fosfato 0,01M, pH = 7,0, acrescida de sulfito de sódio 0,01M) (Duval et al., 1993a e 1993b; Juliatti, Maluf e Figueira, 1994). O inóculo coado em gaze asséptico foi aplicado mecanicamente em plantas no estágio de 2 folhas definitivas. Foram utilizadas bandejas de isopor do tipo "speedling", contendo 128 células nas dimensões (3,5 cm x 3,5 cm x 6 cm), contendo substrato orgânico Plantcell e casca de arroz carbonizada (1:1). Para o cruzamento com o parental Santa Clara foram avaliadas 410 plantas e para o cruzamento com o parental Nemadoro, 210 plantas, respectivamente. Oito plantas de cada parental, inoculadas com o vírus em cada bandeja consistiram no controle experimental.

Plantas individuais foram avaliadas 15 dias após a quarta inoculação semanal, utilizando a seguinte escala de notas descrita por Juliatti, Maluf e Figueira (1994): 1 = plantas aparentemente saudáveis; 2 = plantas com sintomas leves, ligeiro amarelecimento, arroxamento dos folíolos e desenvolvimento normal; 3 = plantas com arroxamento mais severo dos folíolos com

presença de alguns anéis e pontos necróticos nos folíolos superiores e/ou tombamento do ponteiro para baixo (epinastia); 4 = plantas com arroxamento e/ou amarelecimento severo com redução acentuada no crescimento e necrose severa dos folíolos e 5 = necrose severa em toda planta ou planta morta. Após a separação das notas individuais para cada população as plantas foram separadas em resistentes (notas 1 e 2) e susceptíveis (notas 3, 4 e 5), aplicando-se em seguida o teste de qui-quadrado (Ramalho, Santos e Pinto, 1989).

8.2.2 Teste de progênes

De posse das plantas individuais selecionadas em cada população (item 8.2.1) foram obtidas em campo as progênes das mesmas, após a autofecundação e colheita individual. A semeadura em bandejas foi realizada conforme item 8.2.1 onde foram obtidas 30-40 plantas/progênie que foram inoculadas com os mesmos procedimentos previamente citados. Em cada bandeja contendo 3 progênes, foram deixadas 8 plantas da cultivar Santa Clara intercalares a cada progênie, como controle susceptível. Realizaram em seguida 4 inoculações com 3 dias de intervalo semelhante ao item anterior. As avaliações foram realizadas com base nos critérios de severidade descritos anteriormente, aos 20 dias após a quarta inoculação. Foram avaliadas 40 progênes F_3 RC₁₁ [Santa Clara x F_1 (Santa Clara x Stevens)] e 30 progênes F_2 RC₁₁ [Nemadoro x F_1 (Nemadoro x Stevens)] que receberam os códigos BPX 320-B e BPX 315-A, respectivamente.

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.3.1 Avaliação de plantas individuais

Os resultados estão apresentados na Tabela 16.

Pelos resultados apresentados observou-se uma relação 1:1 (resistentes: susceptíveis) no cruzamento Nemadoro x F₁, (Nemadoro x Stevens) conforme o esperado para o gene de resistência dominante oriundo da cultivar Stevens (Stevens, Scott e Gergerich, 1991). As distorções observadas na segregação para a geração F₂ [Santa Clara x F₁ (Santa Clara x Stevens)], pode ser atribuída, à penetrância incompleta do gene Sw-5 (Stevens, Scott e Gergerich, 1991), temperaturas desfavoráveis à multiplicação viral na hospedeira, após a inoculação (Duval et al., 1993b; Juliatti, Maluf e Figueira, 1994) e alterações na concentração do vírus presente no inóculo (Duval et al., 1993b), durante a inoculação. A frequência esperada de 5/8 de plantas susceptíveis e 3/8 resistentes não foi observada na população do “background” Santa Clara, o que pode ser atribuído a desvios de amostragem após seleção para formato de fruto (colheita em “bulk” pode não ter amostrado igualmente todas as plantas assim colhidas) e/ou penetrância incompleta do alelo Sw₅ (Stevens, Scott e Gergerich, 1991) ou ainda falhas no processo de inoculação mecânica.

8.3.2 Teste de progênies

Os resultados referentes as duas populações estudadas estão apresentadas nas Tabelas 17 e 18.

TABELA 16 - Proporção de plantas individuais com sintomas (susceptíveis) e resistentes nos retrocruzamentos F₂ [Santa Clara x F₁ (Santa Clara x Stevens)] e F₁ [Nemadoro x F₁ (Nemadoro x Stevens)]. ESAL, Lavras, 1994.

Populações	Frequência observada ¹		Frequência esperada	
	R ² : S ³		3/8 R : 5/8 S	1 R : 1 S
F ₂ [S. Clara x F ₁ (S. Clara x Stevens)]	208	202	30,62*	-
F ₁ [Nemadoro x F ₁ (Nemadoro x Stevens)]	112	98	-	0,93 ⁴

1 = Após transplante em campo.

2 = Resistentes e 3 = Susceptíveis

4 = Teste de qui-quadrado não significativo ao nível de P = 0,5 - 0,3

Na Tabela 17 observa-se pelo menos 16 progênies supostamente homozigotas para o gene de resistência a Tosspovirus (Sw₅), oriundo da cultivar Stevens. As demais 24 progênies foram consideradas segregantes para o alelo de resistência em questão. Todas as progênies estudadas apresentaram formato de fruto do tipo Santa Cruz, ao contrário do parental Stevens que é do tipo multilocular. Isso demonstra que a alta herdabilidade da resistência possibilitou a rápida obtenção de linhagens resistentes do tipo Santa Cruz com potencial comercial. Observou-se também uma penetrância média de 94,08% para o alelo de resistência nas 16 progênies supostamente homozigotas. Neste caso, desconsiderou-se o escape médio. Stevens, Scott e Gergerich (1991) encontraram uma penetrância de 98,7% para o referido alelo.

A proporção de 24 progênies segregantes para 16 resistentes homozigotas (Tabela 17), está de acordo com o esperado pela herança monogênica, atribuída ao locus Sw₅. Realizou-se o teste de qui-quadrado para a proporção de progênies homozigotas em relação ao total de progênies. O valor obtido de 0,80 (p = 0,37) confirmou a relação esperada de 1:2 (progênies

TABELA 17 - Comportamento de progênies referentes a geração F₃ do cruzamento Santa Clara x F₁ (Santa Clara x Stevens), frente a um isolado de Tospovirus (TSWV). ESAL, Lavras-MG, 1994.

Progênie	Severidade média	Variância	Nº plantas		Frequência esperada		Provável ³ genótipo
			Resist. ¹	Suscep. ²	Valor X ²	Probabilidade X ²	
					3:1		
BPX 320 B pl ≠ 01	1,97	1,76	19	11	2,18 ns	p = 0,14	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 07	1,71	0,95	20	11	1,82 ns	p = 0,18	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 08	1,69	0,74	34	05	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 13	1,82	1,94	27	11	0,32 ns	p = 0,57	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 14	1,06	0,13	30	01	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 16	1,35	0,62	14	03	0,49 ns	p = 0,48	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 19	1,44	0,96	26	06	0,67 ns	p = 0,41	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 21	1,63	0,89	24	12	1,33 ns	p = 0,25	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 22	1,28	0,79	35	04	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 23	1,27	0,70	33	04	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 24	1,41	1,25	25	04	1,94 ns	p = 0,16	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 25	1,67	3,02	31	08	0,42 ns	p = 0,52	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 28	1,00	0	30	0	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 29	1,38	0,74	24	05	0,93 ns	p = 0,34	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 32	2,48	1,26	11	22	*	-	ND ⁴
BPX 320 B pl ≠ 36	1,67	1,06	23	07	0,04 ns	p = 0,84	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 38	1,00	0	30	0	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 39	1,47	1,28	32	6	1,72 ns	p = 0,19	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 46	1,70	1,53	24	9	0,09 ns	p = 0,76	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 47	1,25	0,33	30	2	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 50	1,40	1,01	26	4	2,18 ns	p = 0,14	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 51	1,53	1,03	25	7	0,17 ns	p = 0,68	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 52	1,29	0,88	28	3	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 54	1,56	1,06	27	9	0 ns	p = 1,0	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 55	1,20	0,38	26	3	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 56	1,00	0	33	0	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 57	1,31	1,10	32	3	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 58	2,28	2,53	18	14	*	-	ND ⁴
BPX 320 B pl ≠ 61	1,16	0,30	35	3	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 62	1,94	1,03	17	15	*	-	ND
BPX 320 B pl ≠ 64	1,38	0,56	27	5	1,5 ns	p = 0,22	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 70	1,19	0,61	30	2	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 77	1,48	1,04	23	6	0,29 ns	p = 0,59	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 78	1,91	2,02	22	10	0,67 ns	p = 0,41	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 80	1,50	1,29	26	6	0,67 ns	p = 0,41	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 82	1,00	0	30	0	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 84	1,19	0,61	30	2	*	-	Sw ₅ Sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 85	1,47	0,98	12	3	0,2	p = 0,66	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 87	1,47	0,74	23	7	0,04	p = 0,84	Sw ₅ sw ₅
BPX 320 B pl ≠ 92	1,06	0,13	29	1	*	-	Sw ₅ Sw ₅
Santa Clara ⁴	3,02	1,92	04	28			sw ₅ sw ₅
Stevens ⁵	1,28	0,47	28	4			Sw ₅ Sw ₅

1 = Notas 1 e 2; 2 = notas 3, 4 e 5

3 = Segundo Stevens, Scott e Gergerich (1991)

4 = Reação não determinada

5 = Controle suscetível

6 = Controle resistente

TABELA 18 - Comportamento de progênies referentes a geração F₂ do cruzamento Nemadoro x F₁ (Nemadoro x Stevens). ESAL, Lavras, 1994.

Progênie	Severidade média	Variância	Nº plantas		Valor X ² (Freq. esperada)	Probabilidade	Provável ³ genótipo
			Resist. ¹	Suscep. ²			
					3:1		
BPX 315 A pl ≠ 02	1,67	1,33	28	11	0,21 ns	p = 0,65	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 03	1,44	0,96	26	06	0,67 ns	p = 0,41	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 04	1,91	1,12	18	14	*	-	ND ⁴
BPX 315 A pl ≠ 05	1,84	2,30	28	10	0,03 ns	p = 0,86	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 06	1,67	1,13	22	08	0,04 ns	p = 0,84	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 07	1,00	0	30	0	*	-	ND
BPX 315 A pl ≠ 09	2,47	1,16	11	21	*	-	ND
BPX 315 A pl ≠ 10	1,45	0,99	25	06	0,53 ns	p = 0,47	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 11	1,63	1,27	22	08	0,04 ns	p = 0,84	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 12	1,76	1,70	24	10	0,35 ns	p = 0,56	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 14	2,61	1,64	10	21	*	-	ND
BPX 315 A pl ≠ 15	1,55	1,64	33	07	1,2 ns	p = 0,27	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 16	1,77	2,58	25	06	0,53 ns	p = 0,47	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 17	2,10	1,76	17	14	*	-	ND
BPX 315 A pl ≠ 19	1,68	1,57	28	10	0,03 ns	p = 0,86	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 23	2,02	1,63	23	13	2,37 ns	p = 0,12	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 24	1,58	1,92	26	05	1,30 ns	p = 0,25	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 26	1,25	0,46	27	04	2,41 ns	p = 0,12	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 27	1,53	1,64	25	05	1,10 ns	p = 0,29	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 28	1,84	2,26	23	09	0,17 ns	p = 0,68	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 31	1,39	1,18	27	04	2,42 ns	p = 0,12	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 33	1,51	1,73	36	06	2,57 ns	p = 0,11	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 34	2,07	1,04	24	18	*	-	ND
BPX 315 A pl ≠ 35	1,65	1,51	30	10	0,00 ns	p = 1,0	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 36	1,84	2,30	28	10	0,03 ns	p = 0,86	Sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 37	1,21	0,67	27	02	*	-	ND
BPX 315 A pl ≠ 38	2,81	0,87	05	27	*	-	sw ₅ sw ₅
BPX 315 A pl ≠ 41	2,61	3,00	16	17	*	-	ND
BPX 315 A pl ≠ 44	1,78	1,38	27	14	1,83	p = 0,18	Sw ₅ sw ₅
Nemadoro ⁵	3,35	2,00	07	33			sw ₅ sw ₅
Stevens ⁶	1,39	0,67	34	04			Sw ₅ Sw ₅

1 = Notas 1 e 2; 2 = notas 3, 4 e 5

3 = Segundo Stevens, Scott e Gergerich (1991)

4 = Reação não determinada (ND)

5 = Controle susceptível

6 = Controle resistente

homozigotas:progênes segregantes), entre as famílias F_3 do primeiro retrocruzamento, após a seleção por inoculação mecânica da espécie TSWV na população anterior (F_2RC_1). Demonstrando assim a eficiência desta, após a avaliação em plantas individuais.

Para as progênes F_2 oriundas do retrocruzamento de Nemadoro x F_1 (Nemadoro x Stevens) (Tabela 18) onde todas as progênes deveriam ser segregantes (na hipótese de a inoculação mecânica ter sido totalmente eficiente), 20 das 29 progênes foram consideradas heterozigotas para o gene de resistência Sw_5 . A progênie BPX-315 A pl \neq 38 foi considerada susceptível, e justifica-se tal ocorrência pelo escape de plantas individuais após inoculação mecânica na geração anterior (F_1RC_1). A ocorrência de progênie como BPX-315A pl \neq 07, onde todos os indivíduos foram avaliados como resistentes, ou de outras com reação não determinada (ND), pode ser atribuído a falhas durante a inoculação mecânica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, A.C. **Diversity of Tospovirus**. Wageningen: Netherlands, Wageningen Agricultural University, 1992. 135p. (Tese - Doutorado em Virologia de Plantas).
- ÁVILA, A.C.; De HAAN, P.; KITAJIMA, E.W.; KORMELINCK, K.R.; RESENDE, R.O.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Classification of tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. **Journal of General Virology**, Cambridge, v.74, p.153-159, 1993a.
- ÁVILA, A.C.; De HAAN, P.; SMEETE, M.L.L.; RESENDE, R.O.; KORMELINCK, R.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Distinct levels of relationship between Tospovirus isolates. **Archives of Virology**, New York, v.128, p.211-227, 1993b.
- BEST, R.J. Tomato spotted wilt virus. In: SMITH, K.M.; LAUFFER, M.A. (eds.). **Advances in virus research**, New York: Academic Press, 1968. v.13, p.65-146.

- CHO, J.J.; MAU, R.F.L.; GERMAN, R.W.; HARTMAN, R.W.; GONÇALVES, D.; PROVVIDENTI, R. A multidisciplinary approach to management of Tomato Spotted Wilt Virus in Hawaii. *Plant Disease*, Washington, v.73, n.5, p.375-83, 1989.
- CUPERTINO, F.P.; ÁVILA, A.C.; SILVA, A.M.R.; DUVAL, C.M.; CALDAS, L.S. Resistência múltipla de *Lycopersicon peruvianum* a três espécies de Tospovirus. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.18, n.3, p.290, ago. 1993. (Suplemento).
- DUSI, NAGATA, T.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B. Wide spectrum resistance sources to Tospovirus in tomato. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.18, p.279, Ago. 1993. (Suplemento).
- DUVAL, C.M.; CUPERTINO, F.P.; LUIZ, A.B.P.; GIORDANO, L. de B. Avaliação de germoplasma de tomate para resistência a um isolado de Tospovirus. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.18, n.4, p.548-550, dez. 1993a.
- DUVAL, C.M.; CUPERTINO, F.P.; LUIZ, A.B.P.; GIORDANO, L. de B. Metodologia de inoculação de Tospovirus visando avaliação de germoplasma de tomate. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.18, n.4, p.516-521, dez. 1993b.
- ESKES, A.B.; NAGAI, H. Nova fonte de resistência ao vírus de vira-cabeça do tomateiro, derivada de *Lycopersicon pimpinellifolium* (Just.) Mill. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 21, Campinas, 1981. *Resumos...* Campinas, SOB, 1981. p.164.
- FINLAY, K.W. Inheritance of resistance to spotted wilt virus in tomato. I. Identification of strains of the virus by the resistance or susceptibility of tomato species. *Australian Journal Scientific Research*, Victoria, v.5, p.303-314, 1952.
- FINLAY, K.W. Inheritance of resistance to spotted wilt virus in tomato. II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. *Australian Journal Scientific Research*, Victoria, v.6, p.153-163, 1953.
- FRANCKI, R.I.B.; FAUQUET, C.M.; KNUDSON, D.L.; BROWN, F. Classification and nomenclature of viruses: Fifty report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Archives of Virology*, New York, v.2, p.1-450, 1991. (Supplement).
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R. Herança da resistência para um isolado agressivo do vírus de vira-cabeça do tomateiro (VVCT) em *Lycopersicon esculentum* Mill. In: CONGRESSO DA PÓS-GRADUAÇÃO NA ESAL, 6, Lavras, 1993. *Anais...* Lavras: ESAL, 1993a. p.83-84.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R. Seleção de progênies resistentes ao vírus de vira-cabeça do tomateiro (VVCT) em *L. esculentum* Mill. In: CONGRESSO DA PÓS-GRADUAÇÃO NA ESAL, 6, Lavras, 1993b. *Anais...* Lavras: ESAL, 1993. p.121-122.

- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R.; FIGUEIRA, A.R. Reação de linhagens avançadas de tomateiro a isolados de Tospovirus. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.19, n.1, p.62-68, mar. 1994.
- KIKUTA, K.; FRAZIER, W.A. Breeding tomatoes for resistance to spotted wilt in Hawaii. *Proceeding American Society for Horticultural Science*, New York, v.47, p.271-276, 1946.
- MALUF, W.R.; TOMA-BRAGHINI, M.; CORTE, R.D. Progress in breeding tomatoes for resistance to tomato spotted wilt. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.14, p.509-525, 1991.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.A.B.P. *Genética na Agropecuária*. São Paulo: Globo, 1989. 359p.
- STEVENS, M.R.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.L. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, Wageningen, v.59, p.9-17, 1991.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O complexo viral denominado vírus de vira-cabeça do tomateiro (VVCT), atualmente enquadrado na família Bunyaviridae e ao gênero Tospovirus (Francki et al., 1991) vem se tornando limitante a cultura do tomateiro no Brasil em anos recentes. Nos meses de dezembro a abril, a doença tem se tornado limitante às culturas do tomateiro no Centro Sul (Yuki e Costa, 1988). Este grupo de vírus foi classificado nas espécies Tomato Chlorotic Spot Virus (TCSV), Grandnut Ring Spot Virus (GRSV), Impatiens Necrotic Spot Virus (INSV) e no membro tipo Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) (Ávila et al., 1992, 1993a e 1993b).

Neste trabalho, demonstrou-se que não existe interação diferencial das linhagens resistentes TSWV-556 e TSWV-547 (com resistência oriunda da introdução Rey de Los Tempranos) a um grupo de isolados do vírus pertencente às espécies Tomato Spotted Wilt Virus e Tomato Chlorotic Spot Virus (Juliatti, Maluf e Figueira, 1994), indicando que a resistência proveniente de Rey de Los Tempranos parece ser não específica para espécies de Tospovirus. Devido à importância do inóculo a ser utilizado nos testes de resistência, testou-se métodos de preservação dos isolados do complexo vira-cabeça do tomateiro, através de enxertia por garfagem em tomateiro *L. esculentum* Mill. "Kada"; inoculação mecânica em fumo *Nicotiana tabacum* cv. Turkish NN (TNN) e o tomateiro "Kada"; liofilização seguida de armazenamento em congelador (-20°C) e a preservação em nitrogênio líquido. Para os isolados das duas espécies de Tospovirus,

foi observado que o único método de preservação capaz de manter a infectividade de todos os isolados após 12 meses, foi o nitrogênio líquido (Juliatti e Maluf, 1993).

O controle genético da resistência a Tospovirus foi estudado utilizando os procedimentos de componentes de média e de variâncias. Para os cruzamentos Santa Clara x TSWV-556, Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 e Santa Clara x Stevens determinou-se herdabilidades no sentido amplo de $11,22 \pm 9,89$, $53,9 \pm 9,8$ e $77,1 \pm 7,6\%$, respectivamente. Demonstrou-se assim a possibilidade de seleção para resistência ao vírus de vira-cabeça do tomateiro ao nível de plantas individuais, pelo menos nos dois últimos cruzamentos. Estimou-se também que a resistência proveniente de Rey de Los Tempranos (de onde se originou as linhagens TSWV-547 e TSWV-556) é controlada por 1 a 3 genes com dominância incompleta. Também encontraram-se evidências para um gene dominante na cultivar Stevens, o qual foi introgridido a partir de *Lycopersicon peruvianum* (Stevens, Scott e Gergerich, 1991). Estudou-se a herdabilidade da resistência à espécie TSWV, calculada ao nível de progênes, a partir dos cruzamentos iniciais, Santa Clara x TSWV-556 e Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547. Determinou-se por este estudo maior significância da variância de dominância em relação a aditiva, e herdabilidades no sentido amplo (h_a^2) com valores de 96,6% e 93,29%. Infere-se que maiores sucessos na obtenção de germoplasma resistente a Tospovirus poderão ser obtidos quando se utiliza o teste de progênes em populações segregantes, obtidas a partir de cruzamento inicial com Rey de Los Tempranos, que apresenta resistência conferida por poucos genes (oligogênica).

Caracterizaram-se progênes resistentes, após inoculação mecânica em plantas individuais, para os cruzamentos F_2 [Santa Clara x F_1 (Santa Clara x Stevens)] e F_1 [Nemadoro x F_1 (Nemadoro x Stevens)]. Após a inoculação de um isolado de Tospovirus da espécie TSWV nas

progênies F_3 e F_2 de cada cruzamento comprovou-se a presença do gene de resistência do parental Stevens em progênies com formato de fruto semelhante a cultivar Santa Clara e nas progênies oriundas do parental Nemadoro.

Conjectura-se após estes estudos que o melhoramento genético do tomateiro para Tospovirus possa ser realizado com maior sucesso nos diversos programas conduzidos no Brasil, e que o melhorista e o virologista devem estar atentos para os seguintes problemas: 1) Seleção criteriosa de isolados mais agressivos do vírus usado na triagem de germoplasmas diversos; 2) atenção especial a descaracterização de isolados do vírus e a geração de mutantes defectivos, por deleção do L-RNA, após inoculações mecânicas consecutivas, evitando assim conclusões errôneas quanto a resistência ou não do germoplasma testado; 3) utilizar métodos eficientes de preservação de isolados do vírus como o nitrogênio líquido, pois métodos que utilizam a preservação "in vivo" como a enxertia pode levar a perda de isolados pela morte da hospedeira ou não translocação do vírus do enxerto para o porta-enxerto; 4) pode-se ganhar tempo e recursos financeiros em programas de melhoramento quando se utiliza fontes de resistência estáveis à diversidade genética presente em Tospovirus; 5) em famílias resistentes e susceptíveis ao vírus, oriundas de populações segregantes, sugere-se usar a seleção por bulk dentro de famílias e repetir as inoculações por várias gerações; 6) buscar combinações genotípicas que possam reunir os genes de Rey de Los Tempranos associados ao gene da cultivar Stevens para resistência à Tospovirus, buscando materiais genéticos mais estáveis frente as variações possíveis no genoma do vírus. Neste caso, a biologia molecular e o uso de marcadores moleculares poderão ser muito úteis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; KITAJIMA, E.W.; KORMELINCK, R.; RESENDE, R. de O.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Characterization of a distinct isolate of tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Impatiens* sp. in the Netherlands. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v.134, p.133-151, 1992.
- ÁVILA, A.C.; DE HAAN, P.; KITAJIMA, E.W.; KORMELINCK, R.; RESENDE, R.O.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Classification of tospoviruses based on phylogeny of nucleoprotein gene sequences. *Journal of General Virology*, Cambridge, v.74, p.153-159, 1993a.
- AVILA, A.C.; DE HAAN, P.; SMEET, M.L.L.; RESENDE, R. de O.; KORMELINCK, R.; KITAJIMA, E.W.; GOLDBACH, R.W.; PETERS, D. Distinct levels of relationship between tospovirus isolates. *Archives of Virology*, New York, v.128, p.211-227, 1993b.
- FRANCKI, R.I.B.; FAUQUET, C.M.; KNUDSON, D.L.; BROWN, F. Classification and nomenclature of viruses: Fifty report of the International Committee on Taxonomy of viruses. *Archives of Virology*, New York, v.2, p.1-450, 1991. (Supplement).
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R. Comparação entre métodos de preservação de Tospovirus. In: CONGRESSO DA PÓS-GRADUAÇÃO NA ESAL, 6, Lavras, 1993. *Anais...* Lavras: ESAL, 1993. p.205-206.
- JULIATTI, F.C.; MALUF, W.R.; FIGUEIRA, A.R. Reação de linhagens avançadas de tomateiro a isolados de Tospovirus. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.15, n.1, p.62-68, mar. 1994.
- STEVENS, M.R.; SCOTT, S.J.; GERGERICH, R.C. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, Wageningen, v.59, p.9-17, 1991.
- YUKI, V.A.; COSTA, A.S. Epidemiologia do vírus do vira-cabeça em Campinas-SP, mantém-se estável em 50 anos. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v.14, n.1/2, p.56, jan./jun. 1988.

APÊNDICE

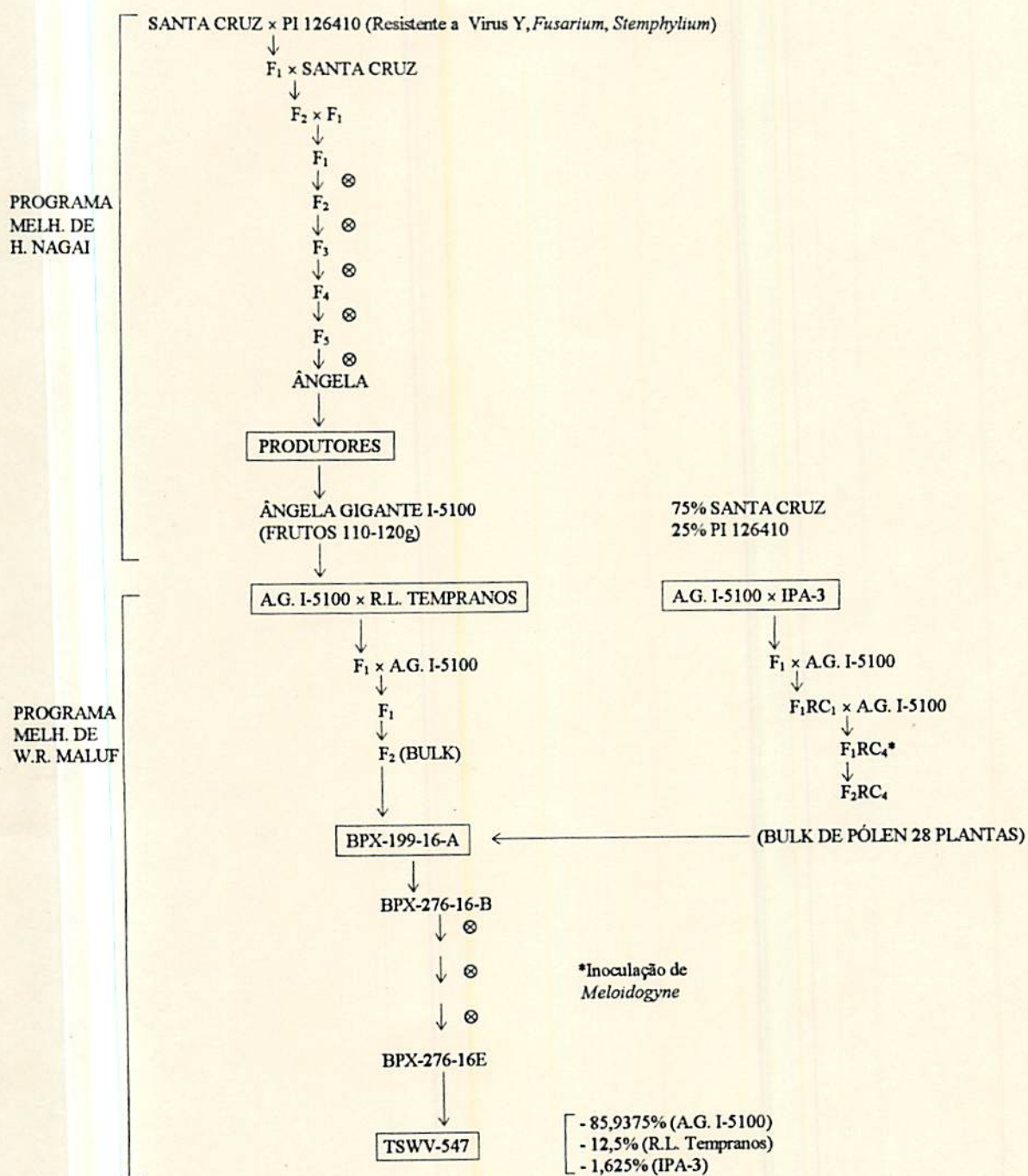
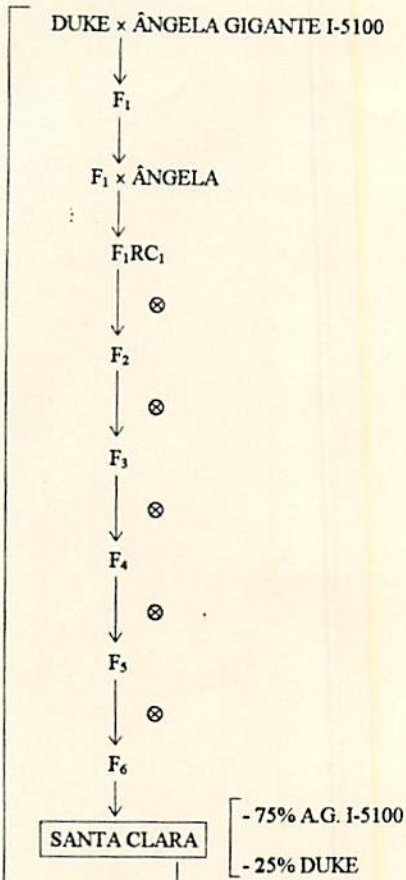


FIGURA 1A - Obtenção de TSWV-547 resistente a tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1994.

PROGRAMA
MELH. DE
H. NAGAI



PROGRAMA
MELH. DE
W.R. MALUF

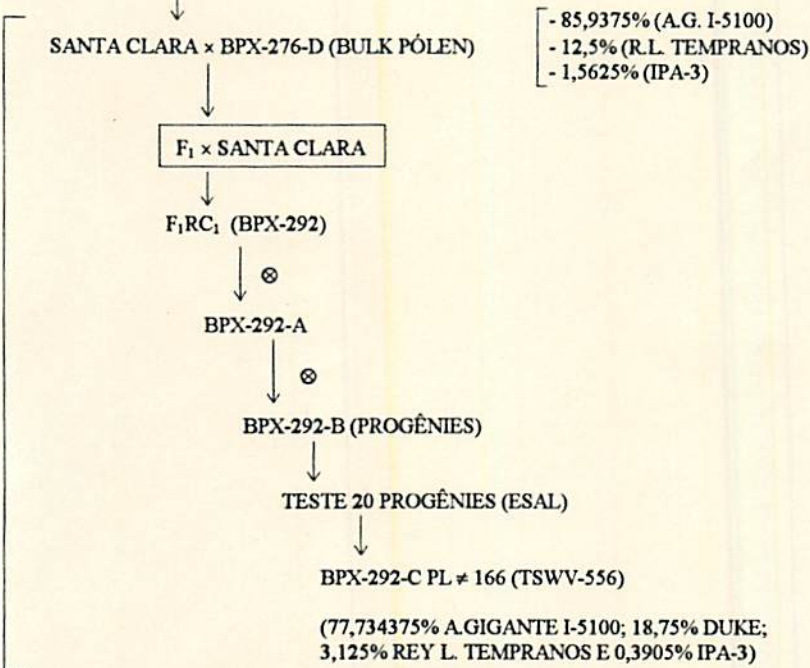


FIGURA 2A - Obtenção de TSWV-556 resistente a tospovirus. ESAL, Lavras-MG, 1994.

TABELA 1A - Provável proporção gênica em cinco linhagens de tomateiro. ESAL, Lavras-MG, 1994.

LINHAGENS	ACESSOS UTILIZADOS EM CRUZAMENTOS (%)			
	DUKE	IPA-3	REY DE LOS TEMPRANOS	A.GIGANTE I-5100
ÂNGELA GIGANTE I-5100	-	-	-	100
SANTA CLARA	25	-	-	75
TSWV-547	-	1,5625	12,5	85,9375
TSWV-556	18,75	0,3906	3,125	77,734375

TABELA 2A - Médias ajustadas relativas ao grau de infecção por TSWV para progênies da geração F₂ dos retrocruzamentos, progênies F₃ referentes ao cruzamento (P₁) Santa Clara x (P₂) TSWV-556. ESAL, Lavras-MG, 1994.

Progênies (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPX-335	pl # 01	2,2	2,49	2,30
BPX-335	pl # 03	3,1	2,97	1,65
BPX-335	pl # 05	2,1	1,97	1,65
BPX-335	pl # 06	2,5	2,37	1,86
BPX-335	pl # 08	3,1	2,97	1,14
BPX-335	pl # 09	2,2	2,07	1,56
BPX-335	pl # 10	1,6	1,47	1,34
BPX-335	pl # 11	3,8	3,67	2,60
BPX-335	pl # 12	3,2	3,49	2,46
BPX-335	pl # 15	3,7	3,62	2,58
BPX-335	pl # 16	2,6	2,85	1,70
BPX-335	pl # 17	3,1	3,35	2,37
BPX-335	pl # 19	2,9	3,15	0,78
BPX-335	pl # 20	2,8	3,05	2,29
BPX-335	pl # 24	3,0	3,25	2,21
BPX-335	pl # 28	2,9	2,85	2,40
BPX-335	pl # 29	2,9	2,85	2,71
BPX-335	pl # 31	2,8	2,75	2,49
BPX-335	pl # 32	4,1	4,14	2,09
BPX-335	pl # 43	2,7	2,74	2,80
BPX-335	pl # 47	4,0	4,04	1,72
BPX-335	pl # 48	4,1	4,14	1,69
BPX-335	pl # 49	2,9	2,94	1,62
BPX-335	pl # 51	3,1	3,22	2,74
BPX-335	pl # 52	1,9	2,01	1,86
BPX-335	pl # 56	3,1	3,22	2,64
BPX-335	pl # 57	3,5	3,79	1,08
BPX-335	pl # 58	4,6	4,89	0,45
BPX-335	pl # 60	3,0	3,29	2,90
BPX-335	pl # 62	3,4	3,69	2,35
BPX-335	pl # 63	3,0	2,92	2,21
BPX-335	pl # 67	3,5	3,42	2,64
BPX-335	pl # 69	2,7	2,37	3,43
BPX-335	pl # 71	3,3	2,97	3,48
BPX-335	pl # 73	3,2	2,87	3,29
BPX-335	pl # 75	3,7	3,37	2,99

TABELA 2A - Continuação

Progenies (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPX-335	pl # 76	3,4	3,07	2,25
BPX-335	pl # 77	2,7	2,37	3,22
BPX-335	pl # 79	2,6	2,55	2,39
BPX-335	pl # 80	3,7	3,65	2,78
BPX-335	pl # 81	4,3	4,25	0,97
BPX-335	pl # 84	2,8	2,75	2,77
BPX-335	pl # 87	3,8	3,75	2,52
BPX-335	pl # 88	3,6	3,55	2,81
BPX-335	pl # 91	3,4	3,35	2,80
BPX-335	pl # 92	2,6	2,85	1,77
BPX-335	pl # 93	3,7	3,64	2,73
BPX-335	pl # 94	3,3	3,24	2,93
BPX-335	pl # 98	2,6	2,54	3,69
BPX-335	pl # 99	3,0	2,94	3,41
BPX-335	pl # 100	3,4	3,34	2,80
BPX-335	pl # 105	2,7	2,74	2,37
BPX-335	pl # 108	2,1	2,14	2,30
BPX-335	pl # 111	3,4	3,52	2,65
BPX-335	pl # 112	2,1	2,22	2,54
BPX-335	pl # 115	2,8	2,75	3,16
BPX-335	pl # 117	3,4	3,34	2,18
BPX-335	pl # 118	1,4	1,69	0,97
BPX-335	pl # 119	3,1	3,02	2,99
BPX-335	pl # 120	3,8	3,72	2,05
BPPX-334A	pl # 01	2,6	2,47	1,27
BPPX-334A	pl # 13	2,7	2,57	1,60
BPPX-334A	pl # 14	1,8	1,67	1,06
BPPX-334A	pl # 19	2,0	1,87	1,10
BPPX-334A	pl # 29	2,2	2,07	1,60
BPPX-334A	pl # 30	2,4	2,65	2,61
BPPX-334A	pl # 31	1,7	1,95	1,04
BPPX-334A	pl # 32	3,9	4,15	0,82
BPPX-334A	pl # 33	2,1	2,35	1,79
BPPX-334A	pl # 34	3,0	3,25	2,25
BPPX-334A	pl # 36	2,0	1,95	1,22
BPPX-334A	pl # 37	1,6	1,55	1,34
BPPX-334A	pl # 38	2,2	2,15	1,38
BPPX-334A	pl # 41	2,2	2,15	1,48
BPPX-334A	pl # 44	2,6	2,55	3,24
BPPX-334A	pl # 47	2,4	2,35	3,38
BPPX-334A	pl # 50	3,4	3,35	2,59
BPPX-334A	pl # 51	3,6	3,55	2,92
BPPX-334A	pl # 52	4,0	3,95	2,27
BPPX-334A	pl # 53	3,2	3,15	2,29

TABELA 2A - Continuação

Progenies (tratamentos não comuns)	Média original	Média ajustada	Variância
BPPX-334A pl # 55	2,7	2,74	2,69
BPPX-334A pl # 60	2,4	2,44	2,03
BPPX-334A pl # 61	4,1	4,14	1,06
BPPX-334A pl # 64	2,6	2,64	1,93
BPPX-334A pl # 65	1,3	1,34	0,56
BPPX-334A pl # 67	2,4	2,52	2,45
BPPX-334A pl # 68	2,7	2,82	2,46
BPPX-334A pl # 69	3,3	3,42	2,53
BPPX-334A pl # 75	2,9	3,02	1,91
BPPX-334A pl # 77	3,5	3,62	2,33
BPPX-334A pl # 78	3,4	3,69	1,96
BPPX-334A pl # 79	1,8	2,09	0,92
BPPX-334A pl # 80	3,0	3,29	2,40
BPPX-334A pl # 81	1,7	1,99	1,02
BPPX-334A pl # 82	3,0	3,29	2,50
BPPX-334A pl # 84	1,8	2,09	1,25
BPPX-334A pl # 85	2,3	2,59	2,30
BPPX-334A pl # 87	2,2	2,12	1,64
BPPX-334A pl # 89	2,8	2,72	2,43
BPPX-334A pl # 90	2,9	2,82	2,96
BPPX-334A pl # 91	3,2	3,12	2,70
BPPX-334A pl # 92	3,4	3,32	2,55
BPPX-334A pl # 93	3,1	3,02	3,53
BPPX-334A pl # 95	2,4	2,07	2,86
BPPX-334A pl # 97	3,2	2,87	3,25
BPPX-334A pl # 100	2,9	2,57	3,18
BPPX-334A pl # 102	3,6	3,27	3,00
BPPX-334A pl # 104	2,6	2,27	3,24
BPPX-334A pl # 106	2,1	1,77	1,93
BPPX-334A pl # 107	3,2	3,15	3,05
BPPX-334A pl # 109	2,9	2,85	2,73
BPPX-334A pl # 110	2,2	2,15	2,32
BPPX-334A pl # 112	3,8	3,74	1,59
BPPX-334A pl # 115	2,8	2,74	3,08
BPPX-334A pl # 116	2,8	2,74	3,24
BPPX-334A pl # 117	3,2	3,14	2,69
BPPX-334A pl # 118	2,5	2,44	3,15
BPPX-334A pl # 120	1,7	1,65	1,23
BPPX-334A pl # 121	2,6	2,54	2,84
BPPX-334A pl # 122	2,3	2,24	2,62
BPPX-333 pl # 06	2,5	2,37	1,15
BPPX-333 pl # 07	3,2	3,07	2,51
BPPX-333 pl # 08	2,7	2,57	2,15
BPPX-333 pl # 09	3,6	3,47	1,70
BPPX-333 pl # 11	2,5	2,37	1,84

TABELA 2A - Continuação

Progenies (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPPX-333	pl # 12	1,4	1,27	0,52
BPPX-333	pl # 13	1,9	2,15	2,05
BPPX-333	pl # 17	1,6	1,85	0,96
BPPX-333	pl # 18	1,5	1,75	1,08
BPPX-333	pl # 20	1,7	1,95	1,33
BPPX-333	pl # 24	2,2	2,45	2,62
BPPX-333	pl # 25	3,1	3,35	1,55
BPPX-333	pl # 26	2,3	2,25	2,26
BPPX-333	pl # 28	2,5	2,45	0,95
BPPX-333	pl # 29	1,8	1,75	1,41
BPPX-333	pl # 30	1,8	1,75	1,69
BPPX-333	pl # 31	2,2	2,24	2,46
BPPX-333	pl # 33	3,0	3,04	2,57
BPPX-333	pl # 35	2,7	2,74	2,71
BPPX-333	pl # 41	3,2	3,24	2,52
BPPX-333	pl # 43	3,0	3,04	3,20
BPPX-333	pl # 44	2,2	2,24	2,11
BPPX-333	pl # 45	3,0	3,12	3,27
BPPX-333	pl # 49	2,6	2,72	2,56
BPPX-333	pl # 52	3,1	3,22	2,81
BPPX-333	pl # 56	1,8	1,92	1,43
BPPX-333	pl # 59	2,6	2,72	2,18
BPPX-333	pl # 60	1,8	1,92	1,28
BPPX-333	pl # 63	2,2	2,32	1,78
BPPX-333	pl # 64	2,2	2,49	1,87
BPPX-333	pl # 65	1,9	2,19	2,09
BPPX-333	pl # 66	2,9	3,19	1,92
BPPX-333	pl # 67	2,3	2,59	2,48
BPPX-333	pl # 68	2,1	2,02	2,17
BPPX-333	pl # 69	2,5	2,42	3,46
BPPX-333	pl # 70	2,2	2,12	2,87
BPPX-333	pl # 73	2,2	2,12	2,33
BPPX-333	pl # 75	2,8	2,72	2,98
BPPX-333	pl # 76	2,3	2,22	3,03
BPPX-333	pl # 78	3,1	3,02	2,90
BPPX-333	pl # 79	2,6	2,27	3,41
BPPX-333	pl # 82	3,0	2,67	3,21
BPPX-333	pl # 83	1,3	0,97	0,75
BPPX-333	pl # 84	2,1	1,77	1,93
BPPX-333	pl # 87	1,8	1,47	2,25
BPPX-333	pl # 91	2,8	2,75	3,02
BPPX-333	pl # 93	3,0	2,95	1,82
BPPX-333	pl # 95	1,9	1,85	2,13
BPPX-333	pl # 96	3,5	3,45	3,07
BPPX-333	pl # 98	3,4	3,35	3,34

TABELA 2A - Continuação

Progênes (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPPX-333	pl # 101	3,2	3,15	3,54
BPPX-333	pl # 113	2,5	2,44	2,13
BPPX-333	pl # 115	2,7	2,64	2,86
BPPX-333	pl # 116	3,0	2,94	2,38
BPPX-333	pl # 118	2,5	2,44	3,15
BPPX-333	pl # 121	2,4	2,07	3,00
BPPX-333	pl # 122	2,7	2,65	2,71
BPPX-333	pl # 123	1,2	1,45	0,30
BPPX-333	pl # 128	2,5	2,62	2,40
BPPX-333	pl # 130	2,2	2,14	2,07
Tratos comuns		Média ⁴	Variância média ⁵	
TSWV-547		1,74	1,19	
Ângela Gigante I-5100		2,85	2,42	
F ₁ (Âng. Gig. I-5100 x TSWV-547)		1,92	1,57	
TSWV-556		2,30	2,18	
Santa Clara		3,63	2,01	
Stevens		1,48	0,70	

1 - Progênes BPX-335A - correspondem à F₂ RC₁ (Santa Clara x F₁ (Santa Clara x TSWV-556))

2 - Progênes BPX-334A - correspondem à F₃ (Santa Clara x TSWV-556)

3 - Progênes BPX-333A - correspondem à F₂RC₂ (TSWV-556 x F₁ (Santa Clara x TSWV-556))

4 - Média de 10 repetições

5 - Variância média ponderada obtida em 10 repetições.

TABELA 3A - Médias ajustadas e variâncias relativas ao grau de infecção por TSWV para progênies F₂ dos retrocruzamentos RC₁₁, RC₂₁ e F₃ referentes ao cruzamento de (P₁) Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547 (P₂). ESAL, Lavras-MG, 1994.

Progênies (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPX-331A	pl # 02	3,7	3,63	1,58
BPX-331A	pl # 05	2,9	2,83	2,89
BPX-331A	pl # 06	2,6	2,53	2,82
BPX-331A	pl # 07	2,5	2,43	2,52
BPX-331A	pl # 08	3,2	3,01	2,39
BPX-331A	pl # 09	1,4	1,21	1,36
BPX-331A	pl # 10	3,0	2,81	2,80
BPX-331A	pl # 11	4,1	3,91	2,05
BPX-331A	pl # 12	2,1	2,61	2,32
BPX-331A	pl # 13	2,2	1,99	2,07
BPX-331A	pl # 14	3,0	2,79	3,48
BPX-331A	pl # 17	1,9	2,23	2,00
BPX-331A	pl # 19	2,4	2,19	3,01
BPX-331A	pl # 21	2,4	2,19	2,11
BPX-331A	pl # 22	3,3	3,09	2,34
BPX-331A	pl # 23	3,3	3,09	2,16
BPX-331A	pl # 24	3,9	3,69	1,33
BPX-331A	pl # 25	2,09	2,30	2,89
BPX-331A	pl # 26	2,4	2,19	3,08
BPX-331A	pl # 27	3,0	2,79	3,66
BPX-331A	pl # 28	3,2	2,99	2,56
BPX-331A	pl # 46	2,7	2,48	2,01
BPX-331A	pl # 47	2,4	2,18	2,12
BPX-331A	pl # 48	3,1	2,88	2,88
BPX-331A	pl # 49	2,0	1,78	2,13
BPX-331A	pl # 50	2,7	2,74	2,40
BPX-331A	pl # 51	2,4	2,44	2,53
BPX-331A	pl # 54	2,40	2,44	2,60
BPX-331A	pl # 55	2,70	2,74	2,65
BPX-331A	pl # 56	2,50	2,54	3,10
BPX-331A	pl # 57	2,10	2,14	2,84
BPX-331A	pl # 59	2,70	2,73	2,42
BPX-331A	pl # 60	1,9	1,93	2,15
BPX-331A	pl # 63	2,8	2,83	3,42
BPX-331A	pl # 66	2,3	2,33	1,86
BPX-331A	pl # 68	3,4	3,43	3,12
BPX-331A	pl # 69	2,30	2,33	2,22
BPX-331A	pl # 70	2,7	2,73	2,68
BPX-331A	pl # 71	3,9	3,84	2,83

TABELA 3A - Continuação

Progenies (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPX-331A	pl # 72	2,8	2,74	2,62
BPX-331A	pl # 75	2,0	1,94	2,12
BPX-331A	pl # 77	2,8	2,74	3,18
BPX-331A	pl # 78	2,6	2,54	3,21
BPX-331A	pl # 79	2,6	2,56	3,77
BPX-331A	pl # 80	1,4	1,36	0,99
BPX-331A	pl # 82	1,8	1,76	1,78
BPX-331A	pl # 83	2,4	2,36	2,72
BPX-331A	pl # 86	3,0	2,96	3,00
BPX-331A	pl # 88	3,4	3,36	3,22
BPX-331A	pl # 89	1,9	2,23	2,06
BPX-331A	pl # 91	1,8	2,13	1,76
BPX-331A	pl # 93	1,7	2,03	1,64
BPX-331A	pl # 94	2,2	2,53	3,16
BPX-331A	pl # 95	1,6	1,99	1,24
BPX-331A	pl # 96	1,7	2,09	1,87
BPX-331A	pl # 98	1,3	1,69	1,02
BPX-331A	pl # 99	1,9	2,29	2,41
BPX-331A	pl # 101	2,0	2,39	1,89
BPX-331A	pl # 102	2,2	2,59	2,99
BPX-332A	pl # 03	2,2	2,13	2,05
BPX-332A	pl # 05	3,7	3,63	1,56
BPX-332A	pl # 07	3,4	3,33	2,53
BPX-332A	pl # 10	2,9	2,83	2,62
BPX-332A	pl # 11	3,7	3,63	2,72
BPX-332A	pl # 13	2,50	2,43	2,94
BPX-332A	pl # 14	2,60	2,41	2,38
BPX-332A	pl # 15	3,4	3,21	2,18
BPX-332A	pl # 16	1,6	1,41	1,68
BPX-332A	pl # 24	4,20	4,01	2,26
BPX-332A	pl # 25	1,9	1,71	2,32
BPX-332A	pl # 26	2,8	2,61	3,21
BPX-332A	pl # 27	2,8	2,59	3,11
BPX-332A	pl # 28	3,5	3,29	2,53
BPX-332A	pl # 29	3,5	3,29	3,06
BPX-332A	pl # 30	2,8	1,91	1,73
BPX-332A	pl # 31	3,3	3,08	3,14
BPX-332A	pl # 32	3,2	2,98	2,90
BPX-332A	pl # 34	2,9	2,68	2,45
BPX-332A	pl # 38	3,1	2,88	3,40
BPX-332A	pl # 39	3,9	3,68	2,82
BPX-332A	pl # 43	3,3	3,34	2,49
BPX-332A	pl # 46	3,0	3,04	3,34
BPX-332A	pl # 48	3,0	3,04	3,89
BPX-332A	pl # 52	2,0	2,04	2,53

TABELA 3A - Continuação

Progenies (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPX-332A	pl # 53	2,2	2,23	2,29
BPX-332A	pl # 55	2,6	2,63	3,00
BPX-332A	pl # 58	1,8	1,83	2,27
BPX-332A	pl # 60	2,2	2,23	3,20
BPX-332A	pl # 63	2,4	2,43	2,87
BPX-332A	pl # 64	1,70	1,73	1,56
BPX-332A	pl # 65	3,10	3,13	3,39
BPX-332A	pl # 66	3,0	2,94	3,42
BPX-332A	pl # 68	3,1	3,04	2,92
BPX-332A	pl # 69	2,9	2,84	3,22
BPX-332A	pl # 70	4,0	3,94	2,16
BPX-332A	pl # 71	2,2	2,14	2,89
BPX-332A	pl # 75	3,5	3,44	3,65
BPX-332A	pl # 81	2,4	2,36	2,46
BPX-332A	pl # 83	3,6	3,56	2,48
BPX-332A	pl # 84	3,0	2,96	3,31
BPX-332A	pl # 85	2,5	2,46	2,69
BPX-332A	pl # 89	3,3	3,26	2,42
BPX-332A	pl # 90	2,9	2,86	2,30
BPX-332A	pl # 92	2,9	2,86	3,57
BPX-332A	pl # 94	2,3	2,63	3,06
BPX-332A	pl # 95	1,9	2,23	2,38
BPX-332A	pl # 96	2,4	2,73	2,64
BPX-332A	pl # 97	1,8	2,13	1,63
BPX-332A	pl # 108	1,9	2,23	1,98
BPX-332A	pl # 110	2,9	3,23	3,26
BPX-332A	pl # 111	2,4	2,73	3,27
BPX-332A	pl # 112	1,2	1,59	0,56
BPX-332A	pl # 114	2,2	2,53	2,23
BPX-332A	pl # 117	1,9	2,29	1,61
BPX-332A	pl # 118	1,6	1,99	1,70
BPX-332A	pl # 120	1,9	2,29	1,74
BPX-332A	pl # 121	2,1	2,49	2,34
BPX-332A	pl # 122	1,80	2,19	1,49
BPX-332A	pl # 130	2,10	1,91	2,73
BPX-330A	pl # 02	2,5	2,43	2,19
BPX-330A	pl # 03	3,4	3,33	2,04
BPX-330A	pl # 04	3,1	3,03	1,25
BPX-330A	pl # 06	1,8	1,73	1,36
BPX-330A	pl # 08	3,7	3,63	1,09
BPX-330A	pl # 11	2,8	2,73	2,91
BPX-330A	pl # 12	2,4	2,33	3,18
BPX-330A	pl # 14	2,7	2,51	1,80
BPX-330A	pl # 15	1,5	1,31	1,33
BPX-330A	pl # 19	1,8	1,61	2,12

TABELA 3A - Continuação

Progênes (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPX-330A	pl # 21	1,8	1,61	1,96
BPX-330A	pl # 22	2,8	2,61	2,01
BPX-330A	pl # 24	2,1	1,91	2,32
BPX-330A	pl # 25	2,0	1,79	2,30
BPX-330A	pl # 26	2,5	2,29	2,38
BPX-330A	pl # 27	2,5	2,29	2,26
BPX-330A	pl # 28	2,5	2,29	3,29
BPX-330A	pl # 29	2,3	2,08	2,36
BPX-330A	pl # 30	3,10	2,88	1,88
BPX-330A	pl # 32	2,80	2,58	1,90
BPX-330A	pl # 33	1,20	0,98	0,55
BPX-330A	pl # 34	1,70	1,48	1,62
BPX-330A	pl # 36	2,00	1,78	2,52
BPX-330A	pl # 39	1,40	1,18	0,99
BPX-330A	pl # 40	2,8	2,84	1,98
BPX-330A	pl # 41	2,2	2,24	2,03
BPX-330A	pl # 42	2,3	2,34	2,71
BPX-330A	pl # 46	2,3	2,34	2,15
BPX-330A	pl # 47	2,4	2,44	2,44
BPX-330A	pl # 48	1,6	1,64	1,18
BPX-330A	pl # 49	1,7	1,74	1,62
BPX-330A	pl # 50	1,8	1,83	1,54
BPX-330A	pl # 52	1,9	1,93	2,30
BPX-330A	pl # 53	1,3	1,33	0,71
BPX-330A	pl # 54	2,4	2,43	2,74
BPX-330A	pl # 55	1,8	1,74	2,01
BPX-330A	pl # 57	2,0	1,94	2,61
BPX-330A	pl # 58	2,0	1,94	1,53
BPX-330A	pl # 59	1,6	1,54	0,96
BPX-330A	pl # 61	2,90	2,84	2,37
BPX-330A	pl # 64	2,0	1,94	2,34
BPX-330A	pl # 65	1,26	1,30	1,16
BPX-330A	pl # 67	2,8	2,76	2,42
BPX-330A	pl # 68	2,2	2,16	2,25
BPX-330A	pl # 69	1,8	1,76	2,12
BPX-330A	pl # 74	2,2	2,16	2,51
BPX-330A	pl # 75	1,6	1,93	1,94
BPX-330A	pl # 76	1,50	1,83	1,43
BPX-330A	pl # 78	1,50	1,83	1,16
BPX-330A	pl # 79	2,30	2,63	1,87
BPX-330A	pl # 80	1,80	2,13	1,61
BPX-330A	pl # 82	1,4	1,73	0,96
BPX-330A	pl # 85	1,7	2,09	1,29
BPX-330A	pl # 86	1,4	1,79	0,87
BPX-330A	pl # 89	1,6	1,99	1,24

TABELA 3A - Continuação

Progênes (tratamentos não comuns)		Média original	Média ajustada	Variância
BPX-330A	pl # 91	2,4	2,79	2,38
BPX-330A	pl # 9J	1,8	2,19	1,93
BPX-330A	pl # 94	1,7	2,09	1,77
BPX-330A	pl # 95	2,5	2,54	2,94
BPX-330A	pl # 96	1,9	1,84	2,56
Tratos comuns		Média ⁴	Variância média ⁵	
TSWV-547		1,95	1,58	
Ângela Gigante I-5100		3,23	2,79	
F ₁ (Âng. Gig. I-5100 x TSWV-547)		2,20	2,19	
TSWV-556		2,52	2,47	
Santa Clara		3,49	2,60	
Stevens		1,37	0,69	

1 - Progênes BPX-333A - correspondem à F₂RC₁ (Ângela Gigante I-5100) x (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547)

2 - Progênes BPX-332A - correspondem à F₃ (Ângela Gigante I-5100 x TSWV-547)

3 - Progênes BPX-330A - correspondem à F₂RC₂ (TSWV-547 x F₁ (Santa Clara x TSWV-556))

4 - Média de 10 repetições

5 - Variância média ponderada obtida em 10 repetições.