

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES DE
GENÓTIPOS DE TOMATEIRO COM ALTOS TEORES DE
ZINGIBERENO PARA RESISTÊNCIA A ARTRÓPODES-PRAGA**

TESE DE DOUTORADO

JOÃO RONALDO FREITAS DE OLIVEIRA

GUARAPUAVA-PR

2018

JOÃO RONALDO FREITAS DE OLIVEIRA

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES DE
GENÓTIPOS DE TOMATEIRO COM ALTOS TEORES DE
ZINGIBERENO PARA RESISTÊNCIA A ARTRÓPODES-PRAGA**

Tese apresentada à Universidade Estadual do
Centro-Oeste, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
área de concentração em Produção Vegetal,
para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende
Orientador

Prof^a. Dr^a. Sonia Maria Kurchaidt
Co-orientadora

GUARAPUAVA-PR

2018

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Santa Cruz

O48s Oliveira, João Ronaldo Freitas de
Seleção assistida por marcadores moleculares de genótipos de
tomateiro com altos teores de zingibereno para resistência a artrópodes-
praga / João Ronaldo Freitas de Oliveira. – – Guarapuava, 2018.
viii, 65 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa
de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção
Vegetal, 2018

Orientador: Juliano Tadeu Vilela de Resende
Coorientadora: Sonia Maria Kurchaidt
Banca examinadora: Juliano Tadeu Vilela de Resende, Sonia Maria
Kurchaidt, Paulo Roberto da Silva, Tiago Lucini, Leandro Simões Azeredo
Gonçalves

Bibliografia

1. Agronomia. 2. Produção vegetal. 3. Retrocruzamento. 4. Ácaro rajado.
5. *S. habrochaites var hirsutum*. 6. ISSR. 7. SSR. I. Título. II. Programa de
Pós-Graduação em Agronomia.

CDD 630

João Ronaldo Freitas de Oliveira

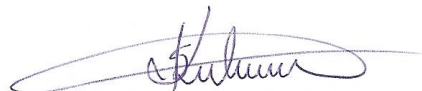
**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES DE GENÓTIPOS DE
TOMATEIRO COM ALTOS TEORES DE ZINGIBERENO PARA RESISTÊNCIA A
ARTRÓPODES-PRAGA**

Tese apresentada à Universidade Estadual do
Centro-Oeste, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
área de concentração em Produção Vegetal,
para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2018.



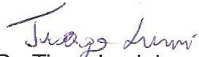
Prof. Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende
(UNICENTRO)



Profª. Drª. Sonia Maria Kurchaidt
(UNICENTRO)



Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva
(UNICENTRO)



Dr. Tiago Lucini
(EMBRAPA-TRIGO)



Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves
(UEL)

GUARAPUAVA-PR
2018

A minha esposa Cristiane e minha filha Beatriz

Aos meus pais Hirto e Soeli

As minhas irmãs Luciana e Márcia

A meu irmão Luiz Henrique (*in memoriam*)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me dá forças para enfrentar os desafios da vida.

À minha esposa Cristiane e a minha filha Beatriz por sempre estarem a meu lado.

Aos meus pais, irmãs, por todo apoio, força e incentivo.

À Universidade Estadual do Centro Oeste, pela formação profissional, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal.

Ao Prof. Juliano Tadeu Vilela de Resende, pela grande oportunidade oferecida, pela confiança, paciência, amizade, orientação e convívio durante estes anos.

À professora Cristiane Nardi, por disponibilizar o Laboratório de Entomologia Agrícola, para criação dos insetos e ácaros e pela orientação nos experimentos.

Ao Prof. Paulo Roberto da Silva, por disponibilizar o Laboratório de Genética e Biologia Molecular Vegetal e pela orientação na pesquisa.

À minha amiga e colega, bióloga Daiane Secco pelo auxílio na execução dos trabalhos, análises, interpretações dos dados e correções em todas as etapas da molecular.

Ao pós-doutorando, Alex Antônio da Silva pelas correções e ensinamentos na parte genética de nossa pesquisa.

Aos funcionários de campo, Elias, Ângelo, por atender nossos inúmeros pedidos.

A todos os colegas do Núcleo de Pesquisas em Hortaliças pelo apoio em nossos trabalhos, em especial ao Renato que me acompanhou em etapas importantes do projeto.

Ao meu amigo e colega, Cristhiano Kopanski Camargo, nosso grande líder do Nucleo de Pesquisas em Hortaliças.

Aos membros do Laboratório de Entomologia Agrícola da UNICENTRO pela orientação e auxílio nas pesquisas com os insetos e ácaros.

A CAPES, pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract.....	8
1. Introdução	9
Referências	13
2. Seleção indireta de progênies F ₂ RC ₂ de tomateiro para resistência a artrópodes-praga utilizando teores de zingibereno e marcadores moleculares	17
Resumo	17
Abstract.....	18
2.1 Introdução.....	19
2.2 Material e métodos	20
2.2.1 Obtenção dos genótipos de tomateiro e cultivo das plantas	20
2.2.2 Quantificação de zingibereno	22
2.2.3 Análises Estatísticas dos dados de quantificação do zingibereno	22
2.2.4 Material biológico para análise molecular	22
2.2.5 Extração do DNA	23
2.2.6 Amplificação do DNA.....	23
2.2.7 Análises Estatísticas dos dados moleculares	29
2.3 Resultados e discussão	29
2.3.1 Seleção baseada na quantificação de zingibereno	29
2.3.2 Marcadores ISSR e SSR.....	32
2.3.4 Conclusão	37
2.4 Referências	38
3. Comportamento de seleção hospedeira para <i>Tetranychus urticae</i> , <i>Bemisia tabaci</i> , <i>Tuta absoluta</i> e <i>Diabrotica speciosa</i> em genótipos de tomateiro da geração F ₂ RC ₂ (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. “Redenção” x <i>Solanum. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>)	42
Resumo	42
Abstract.....	43
3.1 Introdução.....	44
3.2 Material e métodos	45
3.2.1 Local dos experimentos	45
3.2.2 Obtenção e criação dos artrópodes	45

3.2.3 Obtenção dos genótipos e cultivo das plantas	47
3.2.4 Ensaios comportamentais	48
3.2.5 Análise dos dados	52
3.3 Resultados.....	52
3.4 Discussão	60
3.5 Referências	63

RESUMO

OLIVEIRA, João R.F de. **Seleção assistida por marcadores moleculares de genótipos de tomateiro com altos teores de zingibereno para resistência a artrópodes-praga.**

Guarapuava: UNICENTRO, 2018. (Tese – Doutorado em Agronomia)

O desenvolvimento de cultivares resistentes a pragas tem se ampliado e é indicada como uma estratégia importante no manejo das mesmas. Um dos grandes desafios da tomaticultura brasileira é o controle de pragas, uma vez que a planta é suscetível ao ataque de artrópodes-praga, como exemplo, *Bemisia tabaci*, *Tuta absoluta*, *Diabrotica speciosa* e *Tetranychus urticae*. No presente trabalho objetivou-se selecionar plantas na geração F₂RC₂ resultantes do cruzamento de *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826’ com a cultivar comercial *Solanum lycopersicum* cv. “Redenção”, baseado no teor de zingibereno um sesquiterpeno presente em folíolos da planta silvestre *S. habrochaites* var. *hirsutum* que confere resistência a artrópodes-praga. Selecionou-se em F₂RC₂ com base no teor de zingibereno os genótipos, RVTZ 2011-79-503-pl#143, RVTZ 2011-79-503-pl#103, RVTZ 2011-79-503-pl#79, RVTZ 2011-79-335-pl#296, RVTZ 2011-79-335-pl#344, RVTZ 2011-79-335-pl#381, RVTZ 2011-79-335-pl#400, como sendo os mais próximos estatisticamente quanto ao teor de zingibereno de *S. habrochaites* var. *hirsutum*. Também na presente pesquisa fez-se uso dos marcadores moleculares ISSR e SSR, a fim de caracterizar genótipos de tomateiro com a maior porção do genoma recorrente. Este trabalho conta com capítulo específico de bioensaios para resistência a pragas, onde foi avaliada a seleção hospedeira de artrópodes destes quatro grupos: Lepidoptera (*Tuta absoluta*), Hemiptera (*Bemisia tabaci*), Coleoptera (*Diabrotica speciosa*) e *Tetranychus urticae*, buscando caracterizar os graus de resistência de genótipos com teores distintos de zingibereno. A seleção assistida por marcadores moleculares permitiu caracterizar genótipos de tomateiro com altos teores de zingibereno com maior proporção de recuperação do genoma recorrente de *S. lycopersicum* cv ‘Redenção’. Os resultados obtidos com os bioensaios para pragas, sugerem que os genótipos selecionados para o alto teor de zingibereno RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164, RVTZ 2011-79-185-250, são fontes potenciais de genes resistentes contra, *T. urticae*, *T. absoluta*, *B. tabaci* e *D. speciosa*, para programas de melhoramento genético do tomateiro.

Palavras-Chave: retrocruzamento, ácaro rajado, *S. habrochaites* var. *hirsutum*, ISSR, SSR.

Abstract

OLIVEIRA, João R.F de. **Assisted selection by molecular markers of tomato genotypes with high levels of zingiberene for resistance to pest arthropods.** Guarapuava: UNICENTRO, 2018. (Tese - Doutorado em Agronomia)

The development of pest-resistant cultivars has been expanded and it is indicated as an important strategy in their management. One of the great challenges of Brazilian tomatoculture is the control of pests, once the plant is susceptible to the attack of arthropod-pest, such as, *Bemisia tabaci*, *Tuta absoluta*, *Diabrotica speciosa* e *Tetranychus urticae*. In this article we aimed to select plants in the generation F₂RC₂ resulting from the crossing of *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* 'PI 127826' with the commercial cultivar *Solanum lycopersicum* cv. "Redenção", based on the content of zingiberene that is a sesquiterpene present in leaflets of the wild plant *S. habrochaites* var. *hirsutum* that confers resistance to pest arthropods. There were selected in F₂RC₂ based on the zingiberene content of the genotypes, RVTZ 2011-79-503-pl#143, RVTZ 2011-79-503-pl#103, RVTZ 2011-79-503-pl#79, RVTZ 2011-79-335-pl#296, RVTZ 2011-79-335-pl#344, RVTZ 2011-79-335-pl#381, RVTZ 2011-79-335-pl#400, as being the closest statistically to the zingiberene content of *S. habrochaites* var. *hirsutum*. In the present research were also used the molecular markers ISSR and SSR in order to characterize tomato genotypes with the largest portion of the recurrent genome. This work has a specific chapter of bioassays for pest resistance, where the host selection of arthropods of these four groups was evaluated: Lepidoptera (*Tuta absoluta*), Hemiptera (*Bemisia tabaci*), Coleoptera (*Diabrotica speciosa*) and *Tetranychus urticae*, aiming to characterize the resistance levels of genotypes with different levels of zingiberene. The selection assisted by molecular markers allowed the characterization of tomato genotypes with high levels of zingiberene with a higher rate of recovery of the recurrent genome of *S. lycopersicum* cv 'Redenção'. The results obtained with the pest bioassays, suggest that the genotypes selected for the high zingiberene content RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164, RVTZ 2011-79-185-250, are potential sources of resistant genes against *T. urticae*, *T. absoluta*, *B. tabaci* and *D. speciosa*, for improving programs of the genetic of the tomato plants.

Key words: backcrossing, split mite, *S. habrochaites* var. *hirsutum*, ISSR, SSR.

1. Introdução

De todas as espécies conhecidas de *Solanum* (Seção Lycopersicon), somente *Solanum lycopersicum* é cultivada, enquanto que as demais são silvestres, *S. cheesmaniae*, *S. chilense*, *S. chmielewskii*, *S. habrochaites* var. *hirsutum*), *S. neorickii*, *S. penellii*, *S. peruvianum*, *S. pimpinellifolium* (NICK, BORÉM, 2016). Dentre estas plantas, *S. habrochaites* var. *hirsutum*, apresenta resistência a artrópodes-praga, exemplo *Tetranychus evansi*, demonstrando grande potencial para utilização em programas de melhoramento genético visando a obtenção de variedades comerciais resistentes (GONÇALVES et al., 2006). As espécies silvestres *S. habrochaites*, *S. pennellii* (GONÇALVES-NETO et al., 2010) e *S. peruvianum* (MARUYAMA et al., 2002; SUINAGA, et al., 2004) são as mais empregadas em pesquisas com resistência a artrópodes-praga. Nestes casos, as características físicas e químicas das plantas podem alterar o comportamento das pragas e também interferir na sua biologia, representando mecanismos de resistência do tipo antibiose e antixenose (MOREIRA et al., 2013, DIAS et al., 2016).

Em tomateiro, os principais fatores de resistência a mosca-branca são a presença de tricomas glandulares e não glandulares, além dos aleloquímicos exsudados pelos tricomas (FREITAS et al., 2002). Vários aleloquímicos presentes em *Solanum* spp. silvestres têm sido associados com resistência a artrópodos-praga, sendo que os mais estudados são o zingibereno (FREITAS et al., 2000, GONÇALVES et al., 2006; SILVA et al., 2009, LIMA et al., 2015, 2016), a 2-tridecanona (metil-cetona) e os acilglicóis (ésteres de ácido graxo) (PEREIRA et al., 2008; RESENDE, et al., 2009; MACIEL et al., 2010; GONÇALVES-NETO et al., 2010, LUCINI et al., 2015, BAIER et al., 2015, DIAS et al., 2013, 2016).

O zingibereno é um sesquiterpeno presente em folíolos de tomateiro, inicialmente caracterizado por Snyder et al., (1987) e Carter et al., (1989). Freitas et al. (2000) verificaram a produção deste aleloquímico em *S. habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826, caracterizando sua produção em tricomas glandulares do tipo VI e IV. Este autor, também descreveu o método de quantificação do zingibereno utilizando espectrofotometria, a qual tem facilitado a diferenciação de genótipos, permitindo a seleção daqueles com teores elevados do composto e resistentes a artrópodes-praga, como *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae).

Lima et al. (2016), selecionando genótipos de tomateiro para processamento com alto teor de zingibereno, concluíram que a seleção indireta de plantas com alto teor de zingibereno é eficiente para a obtenção de plantas de tomateiro para processamento, resistentes a artrópodes- praga, como ácaro-rajado (*T. urticae*) e mosca-branca (*B. tabaci*). Lucatti et al. (2013), observaram em linhagens de tomate com introgressão de genes de *S. habrochaites* uma redução da taxa de oviposição de *B. tabaci*, comprovando a resistência dos genótipos contra uma das principais pragas de tomateiro, especialmente relevante em cultivo protegido.

Na população F₂ do cruzamento entre *S. lycopersicum* e *Solanum habrochaites* acesso LA1777, Momotaz et al. (2010), identificaram resistência por antixenose a *B. tabaci*. Para *T. absoluta*, em estudos sobre a divergência genética de *S. lycopersicum* spp. em relação a resistência a insetos, Moreira et al. (2015), descreveram menores porcentagens de danos em folhas de *S. habrochaites*, quando comparado aos demais tratamentos, comprovando a resistência que a planta apresenta a tais insetos-praga.

O melhoramento genético do tomateiro visando resistência a pragas tem-se baseado em cruzamentos interespecíficos entre o tomateiro cultivado (*S. lycopersicum*) e espécies de tomateiro silvestre que possuem características morfológicas e químicas que as tornam menos preferidas ou danificadas por insetos (RESENDE et al., 2008; RESENDE et al., 2009, LIMA et al. (2016). Para tanto, uma das estratégias tem sido a busca por altos níveis foliares de aleloquímicos em espécies silvestres que, após o processo de cruzamentos, seleção e retrocruzamentos, tem se mostrado efetivos em conferir resistência às principais pragas do tomateiro (FREITAS et al, 2002; RESENDE et al, 2008; GONÇALVES et al, 2010).

As características desejáveis para um genótipo resultante de tais cruzamentos advêm de um genitor doador para uma linhagem receptora que não possui a característica, a qual será recuperada no genótipo recorrente. A partir disso, realiza-se seleção da geração com base no teor do aleloquímico zingibereno. Entretanto, a seleção baseada nesta característica na geração F₂RC₂ não permite identificar a proximidade do genótipo selecionado com o pai recorrente. Por sua vez, as técnicas de marcadores moleculares revelam o polimorfismo de sequência de DNA, sendo eficientes na seleção de genótipos com características desejáveis. Assim, a utilização de marcadores moleculares é uma ferramenta importante nesse processo, pois pode ser utilizada no retrocruzamento, facilitando e acelerando a identificação de plantas com maior proporção do genoma recorrente (BRAMMER, 2000). Além disso, esta técnica reduz o custo e o tempo necessários para a obtenção de variedades resistentes a artrópodes-praga, as quais são imprescindíveis para o manejo integrado de pragas em tomateiro

Atualmente, a seleção assistida por marcadores é vista como estratégia para fins de melhoramento genético.

Quando se considera a diversidade genética presente na natureza e nos bancos de germoplasma, existem grandes oportunidades para a pesquisa baseada na seleção assistida por marcadores. Um exemplo é explorar a espécie silvestre *Solanum pennellii* com características de resistência por antixenose à traça-do-tomateiro em cruzamento com ‘Santa Clara’ (MOREIRA et al, 2013, 2015).

A seleção assistida por marcadores moleculares pode acelerar de forma significativa o avanço genético pelo aumento na eficiência de seleção e redução no intervalo das gerações. Dados adicionais sobre a diversidade genética de potenciais genitores obtidos com base em marcadores moleculares, auxiliam na escolha dos genitores e no planejamento dos cruzamentos futuros (FALEIRO, 2007).

Os marcadores moleculares permitem obter um padrão de polimorfismo único na comparação de diferentes genótipos. Mediante identificação molecular de genótipos é possível realizar trabalhos de caracterização de variedades e reduzir o número de gerações de retrocruzamento necessárias para a recuperação do progenitor recorrente (HOFFMANN e BARROSO, 2006). Esta técnica é baseada na amplificação de fragmentos de DNA pelo princípio da reação em cadeia da polimerase PCR, (Polymerase Chain Reaction), na qual é realizada a síntese enzimática *in vitro* de um segmento de DNA na presença da enzima DNA polimerase e *primers*. Dentre esses, estão os marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) e SSR (Simple Sequence Repeat) (MILACH, 1998).

Marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) tem sua aplicação recomendada na discriminação e caracterização molecular de indivíduos, trata-se de regiões genômicas de 100 a 3.000 pb, amplificadas via PCR flanqueadas por sequências microssatélites, para as quais são desenhadas primers únicos de 16 a 20 pb (FALEIRO, 2007). O marcador molecular ISSR (*inter simple sequence repeat*), tem sido amplamente aplicado em estudos por se tratar de uma técnica simples, eficiente e por apresentar uma alta reprodutibilidade e gerar altos índices de polimorfismo (REDDY et al, 2002). O ISSR, apresenta-se como uma técnica com baixo custo, de fácil uso e alta reprodutibilidade (BORNET e BRANCHARD, 2004). Por se tratar de um marcador dominante, utiliza uma sequência simples repetida como oligonucleotídeo iniciador, para amplificação de regiões microssatélite, o que gera um alto nível de polimorfismo. Esse tipo de marcador permite a identificação de ampla variabilidade intra e interespecíficas e, com isso, fundamentam-se como uma ferramenta bastante útil em estudos

de diversidade, bem como em programas de melhoramento selecionando variedades (LORENZONI et al, 2014).

Os marcadores moleculares SSR (*simple sequence repeats*) são conhecidos por microssatélites. Estes tem sido preferidos quando comparados aos outros tipos de marcadores, pelo fato de utilizar a agilidade da técnica de PCR, serem codominantes e apresentarem uma distribuição uniforme ao longo de todo o genoma e com alta frequência (AKKAYA et al., 1992). Os SSR ou Sequências Simples Repetidas são partes constituintes de DNAs formado de sequências repedidas de um a cinco nucleotídeos. Essas sequências repetitivas são flanqueadas por sequências únicas. Para uso em biotecnologia como marcadores moleculares, primers complementares às sequências únicas que flanqueiam os microssatélites são utilizados em PCRs, neste caso, os primers constituem-se de 18 a 24 nucleotídeos, sendo necessário um número suficientemente grande para que este primer não encontre outra sequência complementar que não a do microssatélite (HOFFMANN e BARROSO, 2006).

Os microssatélites têm assumido um papel importante em estudos de um grande número de espécies de plantas, estes marcadores são considerados os marcadores mais polimórficos e apresentam-se como os que mais se aproximam do ideal para estudos genéticos (FERREIRA e GRATTAPAGLIA 1998),

No presente trabalho objetivou-se selecionar plantas com alto teor de zingibereno na geração F₂RC₂ resultantes do cruzamento de *S. habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826’ com a variedade comercial *S. lycopersicum* “Redenção”, e apartir de marcadores moleculares ISSR e SSR caracterizar nesta geração, genótipos com maior proporção de recuperação do genoma recorrente e resistentes ao ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), mosca branca (*Bemisia tabaci*), traça-do-tomateiro, (*Tuta absoluta*) e *Diabrotica speciosa* (GERMAR, 1824).

Referências

- AKKAYA, M.S., BHAGWAT, A.A.; CREGAN, P.B. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. **Genetics**, v.132, p.1131-1139, 1992.
- BORNET, B.; BRANCHARD, M. Use of ISSR fingerprints to detect microsatellites and genetic diversity in several related *Brassica* taxa and *Arabidopsis thaliana*. **Hereditas**, v.140, p. 245-248, 2004.
- BRAMMER, S.P. 2000. Marcadores moleculares: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: **Embrapa Trigo**, 13p.
- BAIER, J.E.; RESENDE, J.T.V.; FARIA, M. V.; SCHWARZ, K.; MEERT, L. Indirect selection of industrial tomato genotypes resistant to spider mite *Tetranychus urticae*. **Genetics and Molecular Research**, v. 14. p. 244-252. 2015.
- CARTER, C.D.; SACALIS, J.N.; GIANFAGNA, T.J. Zingiberene and resistance to colorado potato beetle in *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, n.1, p. 206-210, 1989.
- DIAS, D.M.; RESENDE, J.T.V.; FARIA, M.V.; CAMARGO, L.K.P.; LIMA, I.P. Selection of processing tomato genotypes with high acyl sugar content that are resistant to the tomato pinworm. **Genetics and Molecular Research**, v.12. p. 381-389, 2013.
- DIAS, D.M.; RESENDE, J.T.V.; MARODIN, J.C.; MATOS, R.; LUSTOSA, I.F.; RESENDE, N.C.V. Acyl sugars and whitefly (*Bemisia tabaci*) resistance in segregating populations of tomato genotypes. **Genetics and Molecular Research**, v.15, p.1-11, 2016.
- FALERIO, F.G. 2007. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina DF: **Embrapa Cerrados**, 120 p.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ª ed. (EMBRAPA-CENARGEN Documento 20). Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998, 220p.

FREITAS, J.A.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; GOMES, L.A.A.; BEARZOTTI, E. Inheritance of foliar zingiberene contents and their relationship to trichome densities and whitefly resistance in tomatoes. **Euphytica**, v.127, n. 2, p. 275-287, 2002.

FREITAS, J.A. MALUF, W.R. CARDOSO, M. das G. OLIVEIRA, A.C. B. de. Seleção de plantas de tomateiro visando à resistência à artrópodes-praga mediada por zingibereno. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 4, p. 919-923, 2000.

GONÇALVES, L.D. MALUF, W.R. CARDOSO, M. das G. RESENDE, J.T.V. de. CASTRO, E.M. de. SANTOS, N.M. NASCIMENTO, I.R. do. FARIA, M.V. Relação entre zingibereno, tricomas foliares e repelência de tomateiros a *Tetranychus evansi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n. 2, p. 267-273, 2006.

GONÇALVES-GERVASIO, R. de C. R.; CIOCIOLA, A. I.; SANTA-CECILIA, L. V.; MALUF, W. R. Aspectos biológicos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em dois genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-tridecanona nos folíolos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n.2, p. 247-251, 1999.

GONÇALVES-NETO, Á.C.; SILVA, V. de F.; MALUF, W.R.; MACIEL, G.M.; NÍZIO, D.A.C.; GOMES, L.A.A.; AZEVEDO, S.M. de. Resistência à traça-do-tomateiro em plantas com altos teores de açúcares nas folhas. **Horticultura Brasileira**, v.28, n. 2, p. 203-208, 2010.

HOFFMANN, L.V.; BARROSO, P.A.V. 2006. Marcadores moleculares como ferramentas para estudos de genética de plantas. (Embrapa algodão. Documentos, 147). Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2006, 35p.

LIMA, I. P.; RESENDE, J.T.V.; OLIVEIRA, J.R.F.; FARIA, M.V.; RESENDE, N.C.V.; LIMA FILHO, R.B. Indirect selection of industrial tomato genotypes rich in zingiberene and resistant to *Tuta bsoluta* Meyrick. **Genetics and Molecular Research**, v.14, p. 15081-15089, 2015.

LIMA, I.P; RESENDE, J.T.V; OLIVEIRA, J.R.F; FARIA, M.V; DIAS, D.M; RESENDE, N.C.V. Selection of tomato genotypes for processing with high zingiberene content, resistant to pests. **Horticultura Brasileira**, v.34, p. 387-391, 2016.

LORENZONI, RM; SOARES, TCB; SANTIAGO, V F; SILVA, JA; COELHO, RI. Utilização de marcadores ISSR na avaliação da divergência genética entre acessos de biribazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, 2014.

LUCATTI, A. F.; HEUSDEN, A W.; VOS, R C H.; VISSER, R.G.F.; VOSMAN, B. Differences in insect resistance between tomato species endemic to the Galapagos Islands. **BMC Evolutionary Biology**, v.13, 2013.

LUCINI, T.; FARIA, M.V.; ROHDE, C.; RESENDE, J.T.V; OLIVEIRA, J.R.F. Acylsugar and the role of trichomes in tomato genotypes resistance to *Tetranychus urticae*. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 9, n. 45 - 53, 2015.

MACIEL, G.M. MALUF, W.R. SILVA, V. de F. GONÇALVES-NETO, A.C. NOGUEIRA, D.W. GOMES, L.A.A. Heterose e capacidade combinatória de linhagens de tomateiro ricas em acilazúcares. **Ciência Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1161-1167, 2010.

MARUYAMA, W.I. TOSCANO, L.C. BOIÇA JÚNIOR, A.L. BARBOSA, J.C. Resistência de genótipos de tomateiro ao ácaro rajado. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 480-484, 2002.

MILACH, S. C. K. Marcadores moleculares em plantas. Editora: **UFRGS**, 1998.

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

MOREIRA, G.R; SILVA, D .J.H; CARNEIRO, P.C.S; PICANÇO, M.C; VASCONCELOS, A.A; PINTO, C.M.F. Herança de caracteres de resistência por antixenose de *Solanum pennellii* à traça-do-tomateiro em cruzamento com ‘Santa Clara’. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 574-581, 2013.

MOREIRA, G.R.; SILVA, D.J.H.; PICANÇO, M.C.; PETERNELLI, L.A.; CALIMAN, F.R.B. Divergência genética entre acessos de tomateiro infestados por diferentes populações da traça-do-tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 893-898, 2015.

NICK, C.; BORÉM, A. Melhoria de Hortaliças. 1ª ed. Viçosa; Universidade Federal de Viçosa, 2016, 464p.

PEREIRA, G.V.N. MALUF, W.R. GONÇALVES, L.D. NASCIMENTO, I.R. do. GOMES, L.A.A. LICURSI, V. Seleção para alto teor de açúcares em genótipos de tomateiro e sua relação com a resistência ao ácaro vermelho (*Tetranychus evansi*) e à traça (*Tuta absoluta*). **Ciência Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 996-1004, 2008.

REDDY, M.P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, Dordrecht, v. 128, p. 9-17, 2002.

RESENDE, J.T.V. de. MALUF, W.R. CARDOSO, M. G. GONÇALVES, L.D. FARIA, M.V. NASCIMENTO, I. R. do. Resistance of tomato genotypes to the silverleaf whitefly mediated by acylsugars. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 3, p. 345-348, 2009.

RESENDE, J. T. V.; MALUF, W. R.; CARDOSO, M. G.; FARIA, M. V. ; GONCALVES, L. D. ; NASCIMENTO, I. R.. Resistance of tomato genotypes with high level of acylsugars to *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 1, p. 31-35, 2008.

SILVA, V. de F. MALUF, W.R. CARDOSO, M. das G. GONÇALVES-NETO, A.C. MACIEL, G.M. NÍZIO, D.A.C. SILVA, V.A. Resistência mediada por aloquímicos de genótipos de tomateiro à mosca-branca e ao ácaro-rajado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 9, p. 1262-1269, 2009.

SUINAGA, F.A., PICANÇO, M.C., MOREIRA, M.D., SEMEÃO, A.A., MAGALHÃES, S.T.V. Resistência por antibiose de *Lycopersicon peruvianum* a traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 281-285, 2004.

SNYDER, J.C.; JOHNSON, D.A.; GOOD, D.E.; WESTON, P.A. Type VI trichome exudates from genotypes of *L. hirsutum* f. *glabratum*. **Report tomato genetics cooperative**, v. 37, p. 67-68, 1987.

2. Seleção indireta de progênies F₂RC₂ de tomateiro para resistência a artrópodes-praga utilizando teores de zingibereno e marcadores moleculares.

Resumo

Cultivares de tomateiros que apresentam níveis de resistência a artrópodes-praga tornam-se importantes ferramentas para manejo integrado de pragas (MIP), levando a redução de aplicações de agrotóxicos nas lavouras. Tais fontes de resistência podem ser encontradas em espécies silvestres de *Solanum*, como o *S. habrochaites* var. *hirsutum*, que apresenta altos teores de zingibereno (ZGB). No presente trabalho objetivou-se selecionar plantas na geração F₂RC₂ resultantes do cruzamento de *S. habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826’ com a cultivar comercial *Solanum lycopersicum* cv. “Redenção”, baseado no teor de zingibereno um sesquiterpeno presente em folíolos de *S. habrochaites* var. *hirsutum* que confere resistência a artrópodes-praga. Como resultado da seleção baseada no teor de zingibereno teve-se os genótipos F₂RC₂, RVTZ pl#143, RVTZ pl#103, RVTZ pl#79, RVTZ pl#103, RVTZ pl#296, RVTZ pl#344, RVTZ pl#381, RVTZ pl#400, como sendo os mais próximos estatisticamente quanto ao teor de zingibereno de *S. habrochaites* var. *hirsutum* planta silvestre portadora de alto teor do aleloquímico e resistente a artrópodes-praga. Também no presente trabalho fez-se uso de uma importante ferramenta da biotecnologia os marcadores moleculares ISSR e SSR, a fim de caracterizar genótipos de tomateiro resistentes a artrópodes-praga com a maior proporção de recuperação do genoma recorrente. Dos 10 *primers* ISSR testados, todos apresentaram produto de amplificação, e dos 68 *primers* SSR testados, 19 foram polimórficos. A análise conjunta dos dados dos marcadores ISSR e SSR evidenciou que dentre os genótipos da geração F₂RC₂ com alto teor de zingibereno, RVTZ pl#143 e RVTZ pl#250, são os com maior recuperação do genoma recorrente.

Palavras-Chave: genoma recorrente, *S. habrochaites* var. *hirsutum*, retrocruzamento

Abstract

2. Indirect selection of progenies F₂RC₂ from tomato for resistance to pest arthropods using levels of zingiberene and molecular markers.

Cultivars of tomatoes that present levels of resistance to arthropod-pests become important tools for integrated management of pests (MIP), leading to the reduction of applications of pesticides in crops. This source of resistance can be found in wild *Solanum* species, such as *S. habrochaites* var. *hirsutum*, which presents high levels of zingiberene (ZGB). The present search aimed to select plants in the F₂RC₂ generation, resulting from the crossing of *S. habrochaites* var. *hirsutum* 'PI 127826' with the commercial cultivar *Solanum lycopersicum* cv. "Redenção", based on the zingiberene content of a sesquiterpene present in leaflets of *S. habrochaites* var. *hirsutum* that confers resistance to pest arthropods. As a result of the selection based on the zingiberene content we had the genotypes F₂RC₂, RVTZ p1#143, RVTZ p1 # 103, RVTZ p1 # 79, RVTZ p1 # 103, RVTZ p1 # 296, RVTZ p1 # 344, RVTZ p1 # 381, RVTZ p1 # 400, as being the closest statistically to the zingiberene content of *S. habrochaites* var. *hirsutum* wild plant with high content of the allelochemical and resistant to arthropod-pest. Also in the present search, an important tool of biotechnology was used, the molecular markers ISSR and SSR, in order to characterize genotypes of tomato that are resistant to pest arthropods with the highest rate of recovery of the recurrent genome. Of the 10 ISSR primers tested, all presented amplification product, and of the 68 SSR primers tested, 19 were polymorphic. The joint analysis of the data of the ISSR and SSR markers showed that among genotypes of the F₂RC₂ generation, with high zingiberene content, RVTZ pl # 143 and RVTZ pl # 250, are the ones with the highest recovery of the recurrent genome.

Key words: recurrent genome, *S. habrochaites* var. *hirsutum*, backcrossing

2.1 Introdução

Na tomaticultura brasileira, um dos principais problemas é a alta suscetibilidade das plantas ao ataque de pragas, as quais estão presentes em todos os sistemas de produção. A ocorrência de tais pragas ocasiona a alta demanda por aplicações de inseticidas, os quais são a única estratégia de manejo em cultivos comerciais, atualmente. De acordo com Maciel et al. (2011), os principais prejuízos em tomateiro são causados por mosca-branca (*Bemisia tabaci* Genn.) (Hemiptera, Aleyrodidae) e traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta* Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), o que tem culminado em 36 aplicações de inseticidas durante o ciclo da cultura (SUINAGA et al., 2004). Adicionalmente, a ocorrência do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae* Koch) (Acari: Tetranychidae) tem sido mais frequente nos últimos anos, acarretando aplicações adicionais de acaricidas e perdas relevantes em diversas regiões produtoras (LEITE e FIALHO, 2013). Como consequência, além de onerar os cultivos, o uso intensivo de inseticidas tem gerado problemas de contaminação ambiental, intoxicação dos trabalhadores rurais e consumidores (GONÇALVES et al., 2006), além de acelerar a evolução de resistência em populações de artrópodes-praga nesta cultura (ESASHIKA, DAS et al., 20016). Assim, o desenvolvimento de cultivares com graus elevados de resistência aos artrópodes-praga pode ser uma alternativa viável para o manejo de artrópodes-praga, reduzindo os custos de produção, diminuindo a demanda por inseticidas e, consequentemente, impedindo ou retardando a evolução da resistência aos inseticidas ou acaricidas em populações de artrópodes-praga (GONÇALVES et al., 2006; NEIVA et al., 2013).

Considerando que as espécies silvestres de *Solanum* possuem fatores químicos e físicos de resistência a artrópodes-praga, nos últimos anos tem-se buscado incrementar graus de resistência em cultivares comerciais de *Solanum lycopersicum*, a partir de cruzamentos destes dois grupos de plantas (LIMA, et al., 2016). Dentre as espécies silvestres, *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826’ é uma das mais promissoras em programas de melhoramento genético para resistência a artrópodes-pragas. Esta espécie possui altas densidades de tricomas glandulares do tipo IV (MALUF et al., 2001; FREITAS et al., 2002) e VI (CARTER et al.1989; GIANFAGNA et al., 1992), que exudam o zingibereno, composto volátil com ação deletéria sobre artrópodes-praga. Segundo Freitas et al. (2000), o cruzamento interespecífico de *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826’, resulta em uma geração com maior grau de resistência a pragas.

A eficiência no melhoramento genético de plantas é aumentada com o emprego da seleção assistida por marcadores moleculares quando se compara aos métodos convencionais utilizados.

O método convencional do retrocruzamento tem como objetivo transferir uma característica de interesse de um genitor doador para uma linhagem elite, e a subsequente recuperação do genoma do genitor recorrente. Porém este método apresenta limitações, sendo necessário um longo tempo e custo para completar o processo (MESQUITA et al., 2005).

Derher et al. (2003), realizaram um estudo comparativo entre custo benefício da realização de retrocruzamento convencional e o assistido por marcadores moleculares e consideraram que a seleção de genótipos através da seleção assistida por marcadores apresenta um melhor custo benefício comparado aos métodos convencionais.

A seleção assistida por marcadores moleculares pode, potencialmente, acelerar o progresso genético pelo aumento na eficiência de seleção e redução no intervalo de gerações (RAMALHO; LAMBERT, 2004). Usando os marcadores moleculares é possível não só selecionar plantas que contêm os genes de interesse, mas também que carregam o mínimo do genoma do genitor doador (KUMAR, 1999; SANTOS, 2009).

No presente trabalho objetivou-se selecionar genótipos de tomateiro na geração F_2RC_2 , oriundos de cruzamentos entre *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826’ e a variedade comercial *Solanum lycopersicum* cv. “Redenção”, a partir de quantificação espectrofotométrica de zingibereno e da utilização de marcadores moleculares baseados no DNA.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Obtenção dos genótipos de tomateiro e cultivo das plantas

A população de plantas utilizada nos trabalhos aqui apresentados foi gerada a partir do retrocruzamento de plantas F_2RC_1 com *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’. Os genótipos F_2RC_1 são oriundas do cruzamento interespecífico entre *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826, e *S. lycopersicum* ‘Redenção’, sendo os seguintes genótipos, (RVTZ 2011-079-117, RVTZ 2011-079-185, RVTZ 2011-079-335 e RVTZ 2011-079-503), (ZANIN, 2015). A partir do retrocruzamento com *S. lycopersicum* ‘Redenção’ foi obtido a geração F_1RC_2 , que foi autofecundada proporcionando a geração F_2RC_2 , a qual é utilizada na presente pesquisa.

A seleção dos genótipos F₂RC₂ contou com uma população de 400 plantas, sendo 100 plantas geradas de cada genitor F₁RC₂, incluindo 50 plantas de cada parental. Esta seleção teve por base o teor de zingibereno, aleloquímico presente nos folíolos da planta. Para esta quantificação seguiu-se a metodologia proposta por (FREITAS et al., 2000).

Uma vez selecionados os genótipos, obteve-se clones de cada um e após enraizamento transplantou-se os mesmos para vasos de polietileno com capacidade de 10 dm³, contendo mistura de substrato comercial e solo (1:1), fertilizante químico N-P-K (04:14:08) e calcário conforme necessidade para cultura. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação e irrigados diariamente.

Os genótipos F₂RC₂, utilizados nas análises moleculares foram: (RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164, RVTZ 2011-79-503-235, RVTZ 2011-79-335-248, RVTZ 2011-79-185-250, RVTZ 2011-79-503-399), selecionados para alto teor de zingibereno e RVTZ 2011-79-117-273, RVTZ 2011-79-503-323, com baixo teor e os parentais *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’ e *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826 (Tabela 1). A tabela 1 apresenta a nomenclatura dos parentais, genealogia da geração F₂RC₂, e as respectivas abreviações utilizadas para cada genótipo ao longo do trabalho.

Tabela 1 - Nomenclatura dos parentais *Solanum lycopersicum*, *Solanum habrochaites* e genealogia dos genótipos F₂RC₂, seguido de suas respectivas abreviaturas.

Genótipos	Abreviaturas
<i>Solanum lycopersicum</i> cv. ‘Redenção’	<i>S. lycopersicum</i> cv. ‘Redenção’
<i>Solanum habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i> PI-127826	<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	RVTZ pl#143
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	RVTZ pl#164
RVTZ 2011-79-503-235(Alto teor)	RVTZ pl#235
RVTZ 2011-79-335-248(Alto teor)	RVTZ pl#248
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	RVTZ pl#250
RVTZ 2011-79-503-399(Alto teor)	RVTZ pl#399
RVTZ 2011-79-117-273(Baixo teor)	RVTZ pl#273
RVTZ 2011-79-503-323(Baixo teor)	RVTZ pl#323

2.2.2 Quantificação de zingibereno

Para quantificação de zingibereno foi utilizado 400 plantas F₂RC₂, sendo 100 plantas descendentes de cada um dos genótipos F₂RC₁ (RVTZ 2011-079-117, RVTZ 2011-079-185, RVTZ 2011-079-335 e RVTZ 2011-079-503), além de 50 plantas de cada uma das testemunhas contrastantes para teor de zingibereno (*S. habrochaites* var. *hirsutum* e *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’), totalizando 500 plantas.

A extração do zingibereno teve por base a metodologia adaptada de Freitas et al., (2000), que consiste na retirada 6,3 cm² da área foliar das plantas de tomateiro com 40 a 60 dias de idade, sendo os discos retirados de folhas da região apical e acondicionados ao um tubo de ensaio, posterior, adiciona-se 2,5 mL de hexano e, após agitação durante 40 segundos do solvente contendo os tecidos vegetais avalia-se os extratos em espectrofotômetro a 270 nm, sendo esta absorbância diretamente proporcional ao teor de zingibereno presente nas amostras. Esta metodologia é altamente correlacionada (85%) com o método da cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (FREITAS et al. 2000).

Os genótipos selecionados dentro da população segregante, posteriormente a quantificação foram submetidos a um valor de corte pré-estabelecido, onde, genótipos abaixo do valor de (0,200 abs) absorbância foram descartados, sendo usado neste trabalho os com valores superiores a (0,200 abs), uma planta com baixo teor do aleloquímico, *S. habrochaites* var. *hirsutum* e *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’.

2.2.3 Análises Estatísticas dos dados de quantificação do zingibereno

Os dados da seleção baseado na quantificação de zingibereno foram submetidos análise de normalidade (Bartlett, $p \leq 0,05$), análise de variância (ANOVA, $p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de analisados pelo teste de Scott-Knott $p < 0,05$, por meio do programa Statística 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

2.2.4 Material biológico para análise molecular

Utilizou-se nas análises moleculares os genótipos F₂RC₂, (RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164, RVTZ 2011-79-503-235, RVTZ 2011-79-335-248, RVTZ 2011-79-

185-250, RVTZ 2011-79-503-399), selecionados para alto teor de zingibereno e os parentais *Solanum lycopersicum* cv. 'Redenção' e *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826.

2.2.5 Extração do DNA

Folhas da região apical das plantas selecionadas juntamente com os parentais foram coletadas e armazenadas em nitrogênio líquido até o momento da extração do DNA. Para extração do DNA foi utilizado, o método descrito por Sharma et al. (2008). Foi realizada o esmagamento do tecido vegetal em nitrogênio líquido; 1 mL de tampão de extração (20mM EDTA, 100mM Tris-HCl pH 8,0, 2M NaCl, 2% CTAB, 2% PVP, 2% β -mercaptoethanol) foi adicionado ao tubo contendo 100 mg de tecido; os tubos foram levados ao banho maria a 65 °C por 30 min. O DNA foi separado da solução por precipitação com fenol:clorofórmio:alcoólisoamílico (25:24:1) e centrifugação. Posteriormente, o DNA foi precipitado com PEG (*Polyethylene Glycol*) e sucessivas lavagens com etanol foram realizadas para obter um material genético de alto grau de pureza. Após a extração, o DNA foi ressuspenso em TE (10mM Tris-HCl; pH 8,0; 1mM EDTA), tratado com RNase a 37 °C por 30 min, e armazenado a -20 °C até o uso. A quantificação do DNA e confirmação da sua integridade foi realizada em gel de agarose 0,8%, com base no padrão de bandas do marcador de massa molecular Lambda.

2.2.6 Amplificação do DNA

PCR – ISSR. Foram utilizados 10 *primers* ISSR (Tabela 2). As reações de amplificação do DNA de cada genótipo via PCR foram conduzidas em volume final de 12,5 μ L contendo: 20 ng de DNA, 0,2 μ M de *primer*, 200 μ M de cada dNTP, 1,5 mM de MgCl₂ e 1 U de Taq DNA Polimerase e 1X de tampão para PCR. Para a amplificação o termociclador foi programado para uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de 94°C por 45s, temperatura de anelamento dos primers por 45s e 72°C por 90s, e por fim foi feito um passo a 72°C por 5 minutos para extensão final dos fragmentos. Os produtos de amplificação foram resolvidos por eletroforese em gel de agarose 1,8% corado com brometo de etídio (0,5 μ g mL⁻¹). Como marcador de peso molecular foi utilizado DNA *Ladder* 100 pb. O resultado da eletroforese foi visualizado em luz UV e fotodocumentador com sistema digital.

Tabela 2 - Identificação dos *primers* utilizados, seguidos da sequência dos *primers*, temperatura de anelamento TA (°C).

<i>Primer</i>	Sequência* (5'-3')	TA (°C)
UBC-807	(AG)8T	52°
UBC-808	(AG)8C	50°
UBC-809	(AG)8G	55°
UBC-810	(GA)8T	52°
UBC-811	(GA)8C	52°
UBC-815	(CT)8G	52°
UBC-827	(AC)8G	53°
UBC-835	(AG)8YC	52°
UBC-836	(AG)8YA	53°
UBC-848	(CA)8AGG	55°

* Y = (C,T)

PCR – SSR. Foram testados 68 *primers* SSR, oriundos do banco de dados de solanáceas Sol Genomics Network (SGN). A seleção destes *primers* foi realizada com intuito da obtenção de uma cobertura igual e ampla de cada cromossomo, sendo que foram selecionados três *primers* SSR de cada braço cromossômico. Primeiramente os 68 *primers* foram testados somente com os parentais após, os que se apresentaram polimórficos foram amplificados nos parentais e nos 8 genótipos F₂RC₂ (Tabela 1). As reações de amplificação do DNA de cada genótipo via PCR foram conduzidas em volume final de 10 µL contendo: 2,0 ng de DNA, 0,8µM de cada *primer*, 0,2 mM de cada dNTP, 3 mM de MgCl₂ e 0,04 U de Taq DNA Polimerase e 1X de tampão para PCR. Para amplificação o termociclador foi programado com seis estágios, sendo eles: 1° estágio: desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos; 2° estágio: 3 ciclos de 94°C por 30s, 68°C por 30s e 72°C por 30s; 3° estágio: 6 ciclos de 94°C por 30s, 68°C por 30s (com a redução de 2°C a cada ciclo, iniciando no 3º ciclo) e 72°C por 30s; 4° estágio: 12 ciclos de 94°C por 30s, 62°C por 30s e 72°C por 30s; 5° estágio: 9 ciclos de 94°C por 30s, 62°C por 30s (com a redução de 2°C a cada ciclo, iniciando no 3º ciclo) e 72°C por 30s; 6° estágio: 72°C por 10 minutos para extensão final dos fragmentos.

Os produtos de amplificação foram resolvidos por eletroforese em gel de agarose 3% e visualizados por coloração com brometo de etídio (0,5 µg mL⁻¹). Como marcador de peso molecular foi utilizado DNA *Ladder* 100 pb. O resultado da eletroforese foi visualizado sobre luz UV e fotodocumentador com sistema digital.

Tabela 3 -. *Primers* SSR utilizados neste trabalho indicando cromossomo onde foi mapeado, sequência e a indicação se o *primer* é polimórfico.

Cromossomo	Primer	Forwad/Reverse	Sequência (5'-3')	Polimórfico
1	TES0985	TES0985F TES0985R	GTTGAGAATCGAGTCCGCTCT TCGGAAGATAACAACAATGGG	Sem produto de amplificação
1	TES1974	TES1974F TES1974R	GTGTTGTAACCCGACATTTGG CCCCAGAAATTTGAGTACACG	Alelo nulo
1	TES1444	TES1444F TES1444R	GATTTTTGTTTTGTCGCGTGC AAAGCTAACCGTGCAAAGGA	Sim
1	TES1259	TES1259F TES1259R	GTGGTCTTTCGCTCACTGATG CATTTACAGACTCCCCTCAA	Alelo nulo
1	TES1242	TES1242F TES1242R	CCACCGCAACAAACCTTATT GGGTGGTGAGAAGGATCTGA	Sim
1	TES1345	TES1345F TES1345R	GGGATTGATAACAAGGCTGC TGCAATTCACATACAGGGGA	Sim
2	TES1791	TES1791F TES1791R	GTGTAGAGCCAAATTGCCACA CTTGTTTGACCCCCACAAAC	Sim
2	TES1676	TES1676F TES1676R	GTTGTAAATCATCACGCAGCC AGATTGTTCCAGAGGCATCG	Não
2	TES1542	TES1542F TES1542R	TCATTCTCTCCACGTTTCCC GCAAATAGCTTCGGAAGTGG	Não
2	TES1976	TES1976F TES1976R	GCCCCTAAGCCTCATAAAGG AGGTGAATGAGCTGGTGGTTT	Sim
2	TES1711	TES1711F TES1711R	GTGGATCTTGTTTGCTGATTTG TATTTGACCCCAACGCTTTC	Não
2	TES1925	TES1925F TES1925R	GAGCTTTTAACATGGCGGATG AGGCAAAAGCTGGAAGTGAA	Sim
3	TES1207	TES1207F TES1207R	GTTTTACATTTCAAAAACCTCAAGC AATCTTGCTTTGCACAACCC	Alelo nulo
3	TES1712	TES1712F TES1712R	GTCACACACAGGTAAAGGGGTT TCCATGTGGGTCTGAAACTG	Alelo nulo
3	TES2046	TES2046F TES2046R	GCAACTTTCCACTGCGATCAA ACCGTTCAATCAAATCGGAA	Alelo nulo

Continua.....

Continuação tabela 3

3	TES1935	TES1935F TES1935R	GTTCAAAGGAGTCCTCATGGC CCACAGCTGAATCTCCAACA	Alelo nulo
3	TES0050	TES0050F TES0050R	TCCTGCATGAATATTGGGAA GATGTCATGAGGAGGAGGGA	Sem produto de amplificação
3	TES1203	TES1203F TES1203R	GAAGACTGCAGGCGATCCTTA CCTCACAAACAGGTTTCGGT	Alelo nulo
4	TES1741	TES1741F TES1741R	AAGAGGATAAAGAACAAAGGGGA GTTGTTTCCGATGGACCCTA	Alelo nulo
4	TES1141	TES1141F TES1141R	GTCCAATTACACAACCAGACCA ATGAATCCCATTTCACCCAA	Sem produto de amplificação
4	TES1955	TES1955F TES1955R	GCACAAACACTTTTGCACCA AGGAATCGGCGTAATTTCTGA	Sim
4	TES0853	TES0853F TES0853R	GTTTTGAGATATCTTCTCTAAAGCCG AAAAGAGGGAAATGAAGAAGGG	Sem produto de amplificação
4	TES1364	TES1364F TES1364R	GGCCTGACCATAAGGCTGTA TCCAAATCCACCTTCTCCAA	Não
4	TES1652	TES1652F TES1652R	AAAAAGTCAGCTTCAGTGGTAGTATAG GCAACCTCCTACTCTGCTGG	Sem produto de amplificação
5	TES1770	TES1770F TES1770R	AGTTACACCTACCCACCCCC GAAGCATGAACAAGAACGCA	Sem produto de amplificação
5	TES1325	TES1325F TES1325R	GTCACAATCGTTATCACCACCA TTGGCACCATTGAACTTATCC	Não
5	TES1224	TES1224F TES1224R	GTTGAAGGCCTTTTGTACCCA CGATGCAAGAGAAAGCAACA	Não
5	TES1750	TES1750F TES1750R	TCATCAACAAAGGCAGCTAAA GCGTGTTTCAGATGCATCAAT	Alelo nulo
5	TES1319	TES1319F TES1319R	GATCCAACATTGGCTGAGACC CTCCCATTTTCACCTTCAAGC	Não
6	TES1743	TES1743F TES1743R	GAGTGTCTCGATCTCGCACCT CCATGTGTCCAACCTTTTCC	Alelo nulo

Continua.....

Continuação tabela 3

6	TES1469	TES1469F TES1469R	GCTCTGCGTGGACTTTATCC AAATGGGAGTCCCGTCTTCT	Alelo nulo
6	TES1873	TES1873F TES1873R	GTGTTCAAATTTGGTTTGGGC AAAACCGCCAGGATATAGGC	Sim
6	TES1406	TES1406F TES1406R	GAATTCAAGATCCGGCAGATG AATAGATGAGGGGGCAAGGT	Não
6	TES0495	TES0495F TES0495R	GCGTGGAAAGATGACTCCTCA TGTTGAATTTTGAACCTGAAACC	Sim
6	TES1344	TES1344F TES1344R	GCGGAGTGTTTGATTAGGGA ACCTCAATCGACGAAGTTGG	Não
7	TES1521	TES1521F TES1521R	GTCAGAGCAGAAAAAGTGGCA CCTGGCTCTTGACTTTGAGG	Não
7	TES1464	TES1464F TES1464R	GATCATTCCAATCACCCGGTA CTCTGAAGGTTGCTGGCATT	Não
7	TES1567	TES1567F TES1567R	GTTCAACCAAACCAAAAATCCA CAGGAAGAACATCAGGGGAA	Alelo nulo
7	TES0178	TES0178F TES0178R	GGAGGGATCGTCATCGTCTA TTGGCTTTAATTGTCCAGCC	Sem produto de amplificação
7	TES1675	TES1675 TES1675	GTGAAAAACCAAAATGGCACA TCTTCGATGAGACCCTCGTT	Sim
8	TES0999	TES0999F TES0999R	AAGCAAAATTGAGGGGAAAAA GGATCGGATGAGAAATCCAA	Sem produto de amplificação
8	TES1427	TES1427F TES1427R	GTTGGTGGGAGAGAAACCCT TGCCATTACAAGCACAAGGA	Alelo nulo
8	TES1884	TES1884F TES1884R	GCCTTCCTTACTTCGCCACTG TTCCGTGAAATACTTTGCC	Sim
8	TES1352	TES1352F TES1352R	GGGTAAATGAGAATCCAGCAA AGCTGCTTTGATCAGGCTTC	Alelo nulo
8	TES2003	TES2003F TES2003R	GCAGAACCCACATTGCTTTT ACCCTCAACCCACAACAATC	Sim
9	TES1477	TES1477F TES1477R	GTGCTTTAGCTGGAGAGAGTGC TGAGATGGGATTTGGACCAT	Não

Continua.....

Continuação tabela 3

9	TES1985	TES1985F TES1985R	GCTACCATGGAAGCCACTGCT TTCCAAGCATTTTCCAATCC	Alelo nulo
9	TES1592	TES1592F TES1592R	GCCAATTTGGTGGCTACCCT CGGGATATCTGCCTCTACCA	Sim
9	TES1674	TES1674F TES1674R	CCTACCCAGTCCTCACTTATGG GGAACAAAACGAAGGACCAA	Alelo nulo
9	TES1690	TES1690F TES1690R	GCTGTGTGACTTTCTCTCCAAA TATAACGACGTACCCTCCGC	Alelo nulo
10	TES1454	TES1454F TES1454R	GAAGGGTTGTTCAACCACAGC CGAGGACTCGGAAGTTTCAC	Sim
10	TES1740	TES1740F TES1740R	GTTCTTTGTTGTTTGGGGCTT TTTCAATCAAAATACATAAACAAAACC	Sem produto de amplificação
10	TES1407	TES1407F TES1407R	GCCAATAAGGGTTTCTCTTCTC AACCAAGAAAGGATCCACCA	Sem produto de amplificação
10	TES1842	TES1842F TES1842R	GGTAAAGTGAAGAAATTGTTGTTGA AAGCGCAGACCTTGACATCT	Alelo nulo
10	TES1540	TES1540F TES1540R	GAGAATCACATCAGTTGGGGC ATCATTTCTTGGAACCCCC	Sim
11	TES1695	TES1695F TES1695R	GACCCAAAAGTTGCAGAATCG AGCAGGCCACAGTTTAGAGC	Não
11	TES1442	TES1442F TES1442R	GTTGGGTTGATTTGATGGCT AGCCCCAAATACACAAAGCAT	Sem produto de amplificação
11	TES1850	TES1850F TES1850R	CTTGCTCAAACTCTTTCGGG GGAGGAGATGCAAGAAAGGA	Alelo nulo
11	TES1449	TES1449F TES1449R	GCCGAAGAAGCAGAAACAAC AGCTTCCTGTTCTGGAACGAC	Sim
11	TES1667	TES1667F TES1667R	GACCCAAATGAGCCACCAATA TAACTTGTGGGTCAGTCCCC	Sim
11	TES1975	TES1975F TES1975R	CCTGGTGATTGTTTGGCTTT GCACTTTCACCTGCTCATCA	Não

Continua.....

Continuação tabela 3

12	TES1635	TES1635F	GTCTTATCGCAGCAAGGAGG	Não
		TES1635R	AGCAAAGTTGTGTAAGCAAGGG	
12	TES1515	TES1515F	GCCTAATCTTCTCTATGAGGCCAA	Sim
		TES1515R	CATTACGACGAACGAGACCA	
12	TES2042	TES2042F	GTTTTCTCTCTGTAAAACCCC	Não
		TES2042R	CGATTCCCCGTTTTAGACAA	
12	TES1980	TES1980F	GTGCTCCACTCACTTCATTTC	Alelo nulo
		TES1980R	CTGTTTGCTCCCATGGACTT	
12	TES1683	TES1683F	TCCCTTTTTATTTCTATTCATCA	Sem produto de amplificação
		TES1683R	GATGAACGCTTTAATCGGGA	
12	TES1724	TES1724	GTGCATTGTCAACTGGGGTT	Sim
		TES1724	CCAGTTGATGAAACGCACAC	

2.2.7 Análises Estatísticas dos dados moleculares

As imagens dos géis obtidos com os *Primers* ISSR e SSR, passaram por cuidadosa avaliação visual, onde os indivíduos foram genotipados de acordo com a presença (1) e ausência (0) de bandas, e a partir desses dados foi gerada uma matriz binária. Após foi unindo os resultados dos dois marcadores e realizada análise de dissimilaridade genética entre os indivíduos, por meio do programa NTSYS 2.2.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Seleção baseada na quantificação de zingibereno

O método espectrofotométrico de quantificação do zingibereno, pode discriminar os genótipos testados quanto ao teor do aleloquímico, conforme os valores médios de absorbância que lhes foram registrados, *S. habrochaites* var. *hirsutum* (0,946Abs) e *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’ (0,032Abs), mostrando o contraste existente entre os dois genótipos (Tabela 4).

Os resultados obtidos com a presente pesquisa demonstram que, dos 66 genótipos F₂RC₂ acima da linha de corte de (0,200 Abs), RVTZ 2011-79-503-79 (0,546 Abs), RVTZ 2011-79-503-143 (0,809 Abs), RVTZ 2011-79-335-296 (0,494 Abs), RVTZ 2011-79-335-344

(0,581 Abs), RVTZ 2011-79-117-353 (0,812 Abs), RVTZ 2011-79-117-381 (0,489 Abs), RVTZ 2011-79-117-400 (0,497 Abs), não diferem estatisticamente de *S. habrochaites* var. *hirsutum* (0,946Abs) (Tabela 4).

A eficiência deste método, foi comprovada por Freitas et al., (2000 a), apresentando resultados de (*Zingiber officinalis* ‘gengibre’ (0,885 Abs); *S. lycopersicum* ‘TOM-556’ (0,110 Abs); *S. habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI-127826’ (0,989Abs).

Sendo assim essa metodologia serve como pré-seleção de genótipos com altos teores de zingibereno para a resistência a pragas Freitas et al., (2000a, 2002). Isso também pode ser observado no trabalho de Lima et al., (2015, 2016), onde seleciona genótipos da população F₂ do cruzamento interespecífico *S. habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI-127826’ x *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’, com altos teores de zingibereno e posterior mente comprava a resistência dos mesmos a *T. absoluta* e Zanin (2015), selecionando genótipos F₂RC₁, sendo o mesmo cruzamento interespecífico.

Tabela 4. Média para absorbância de zingibereno (Abs 270 nm) em *S. licopersicum* cv Redenção, *S. habrochaites* var *hirsutum* e genótipos F₂RC₂.

Genótipos	Abs (270 nm)*
<i>S. licopersicum</i> var Redenção	0,032 c
<i>S. habrochaites</i> var <i>hirsutum</i>	0,946 a
RVTZ 2011-79-117-9	0,222 b
RVTZ 2011-79-117-41	0,287 b
RVTZ 2011-79-117-45	0,212 b
RVTZ 2011-79-335-52	0,213 b
RVTZ 2011-79-117-53	0,271 b
RVTZ 2011-79-503-79	0,546 a
RVTZ 2011-79-117-97	0,210 b
RVTZ 2011-79-503-103	0,507 a
RVTZ 2011-79-335-128	0,200 b
RVTZ 2011-79-335-132	0,231 b
RVTZ 2011-79-117-133	0,315 b
RVTZ 2011-79-335-136	0,284 b
RVTZ 2011-79-503-139	0,250 b
RVTZ 2011-79-185-142	0,394 b
RVTZ 2011-79-503-143	0,809 a
RVTZ 2011-79-503-151	0,240 b
RVTZ 2011-79-117-153	0,271 b
RVTZ 2011-79-503-155	0,261 b
RVTZ 2011-79-335-164	0,322 b
RVTZ 2011-79-335-168	0,206 b
RVTZ 2011-79-335-172	0,280 b
RVTZ 2011-79-117-173	0,336 b
RVTZ 2011-79-185-174	0,224 b
RVTZ 2011-79-335-184	0,255 b
RVTZ 2011-79-185-186	0,259 b
RVTZ 2011-79-335-192	0,247 b
RVTZ 2011-79-185-202	0,236 b
RVTZ 2011-79-335-208	0,231 b
RVTZ 2011-79-117-217	0,292 b
RVTZ 2011-79-335-220	0,256 b
RVTZ 2011-79-335-224	0,394 b
RVTZ 2011-79-335-232	0,204 b
RVTZ 2011-79-503-235	0,302 b
RVTZ 2011-79-335-244	0,260 b
RVTZ 2011-79-335-248	0,246 b
RVTZ 2011-79-185-250	0,330 b
RVTZ 2011-79-117-253	0,306 b
RVTZ 2011-79-335-260	0,330 b
RVTZ 2011-79-503-267	0,251 b
RVTZ 2011-79-185-274	0,270 b

Continua

Continuação tabela 4

RVTZ 2011-79-503-275	0,291 b
RVTZ 2011-79-335-276	0,236 b
RVTZ 2011-79-335-296	0,494 a
RVTZ 2011-79-185-310	0,313 b
RVTZ 2011-79-335-324	0,237 b
RVTZ 2011-79-117-325	0,244 b
RVTZ 2011-79-335-332	0,326 b
RVTZ 2011-79-503-335	0,211 b
RVTZ 2011-79-117-337	0,285 b
RVTZ 2011-79-335-344	0,581 a
RVTZ 2011-79-335-348	0,239 b
RVTZ 2011-79-335-352	0,245 b
RVTZ 2011-79-117-353	0,812 a
RVTZ 2011-79-335-368	0,272 b
RVTZ 2011-79-335-372	0,286 b
RVTZ 2011-79-117-377	0,351 b
RVTZ 2011-79-117-381	0,489 a
RVTZ 2011-79-503-383	0,372 b
RVTZ 2011-79-503-387	0,201 b
RVTZ 2011-79-503-391	0,226 b
RVTZ 2011-79-335-392	0,262 b
RVTZ 2011-79-185-398	0,368 b
RVTZ 2011-79-503-399	0,292 b
RVTZ 2011-79-117-400	0,497 a
RVTZ 2011-79-503-402	0,365 b
RVTZ 2011-79-335-403	0,268 b
V%	35
F	85*

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, $p < 0,05$.

Os resultados obtidos na presente pesquisa, sugerem que *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’, com reduzida quantidade de zingibereno (0,032Abs) bem como genótipos semelhantes a ele (Tabela 4), expressem, menor grau de resistência aos insetos e ácaros-praga quando comparado a *S. habrochaites* var. *hirsutum* (0,946Abs) e aos genótipos F₂RC₂ (Tabela 4).

2.3.2 Marcadores ISSR e SSR

Marcadores ISSR

Dos 10 *primers* ISSR testados, todos apresentaram produto de amplificação. Estes *primers* produziram no total 82 fragmentos, variando no tamanho de 250 a 1500pb. Desses

fragmentos 69 foram polimórficos e 13 monomórficos, sendo que os polimórficos foram utilizados para as análises.

O padrão de amplificação do DNA, obtido com genótipos da população segregante F₂RC₂, com a técnica ISSR utilizando o *primer* UBC-810, pode ser observado na (Figura 1).

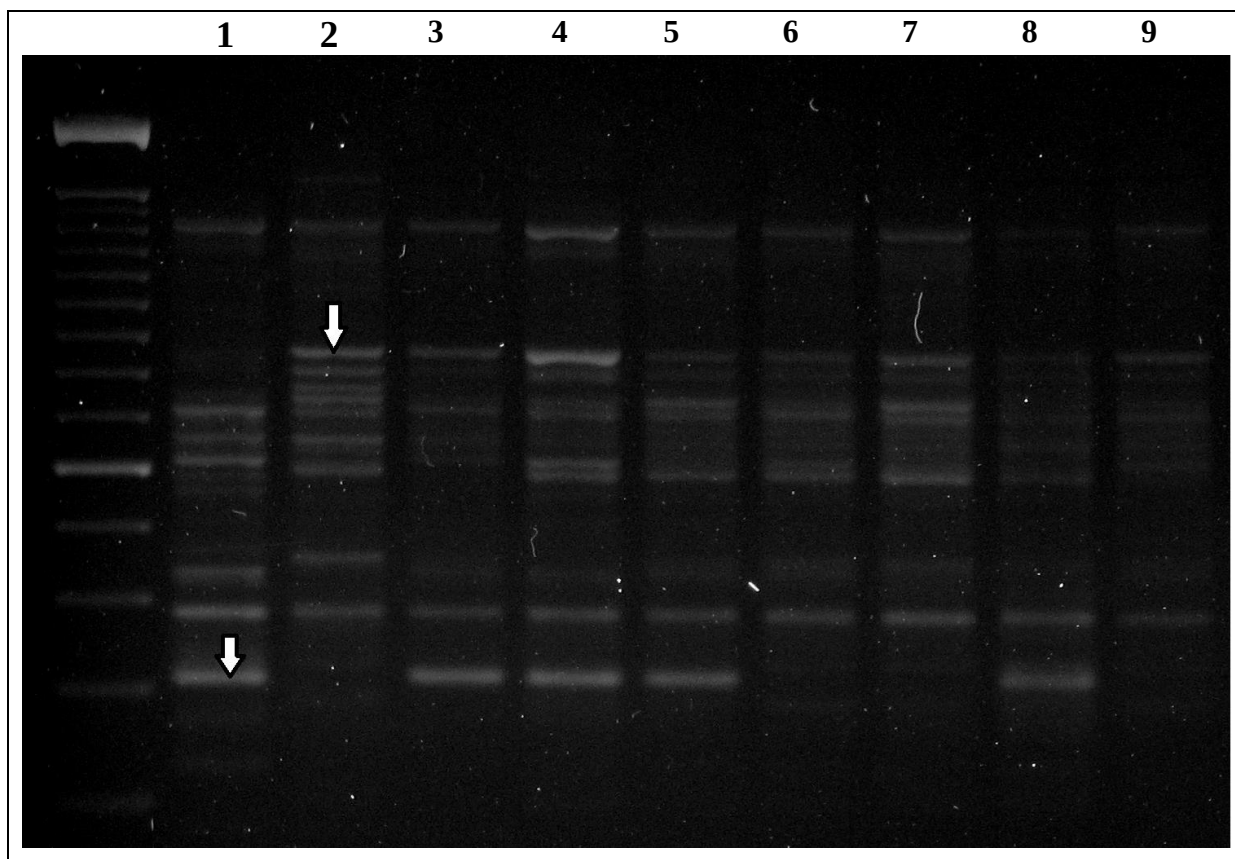


Figura 1 - Padrão de amplificação do *primer* ISSR 810 nos genótipos da população segregante F₂RC₂. (1) *S. lycopersicum* cv ‘Redenção’ e acesso silvestre *S. habrochaites* var *hirsutum* (2); 3 a 9 são da população F₂RC₂. As setas indicam bandas polimórficas.

Marcadores SSR

Para os marcadores SSR, dos 68 *primers* SSR testados com os parentais (espécie silvestre *S. habrochaites* var *hirsutum* e a variedade comercial *S. lycopersicum* ‘Redenção’), 39 foram polimórficos entre a espécie silvestre e a variedade comercial, 17 foram monomórficos e 12 não apresentaram produto de amplificação.

Desses 39 *primers* polimórficos, 20 apresentaram alelos nulos, onde havia a ausência na espécie silvestre *S. habrochaites* var *hirsutum* e a presença na variedade comercial *S. lycopersicum* ‘Redenção’ (Figura 2). Com os outros 19 *primers* polimórficos a espécie

silvestre e a variedade comercial apresentaram o alelo, mas estes em tamanhos diferentes (Figura 2).

Os alelos nulos podem estar ocorrendo pelo fato de a sequência ser específica do tomate cultivado, para o qual foi desenvolvido os *primers*. Outra possível causa é que os alelos nulos podem ocorrer por mutação na região de anelamento dos *primers* (ALDRICH et al., 1998).

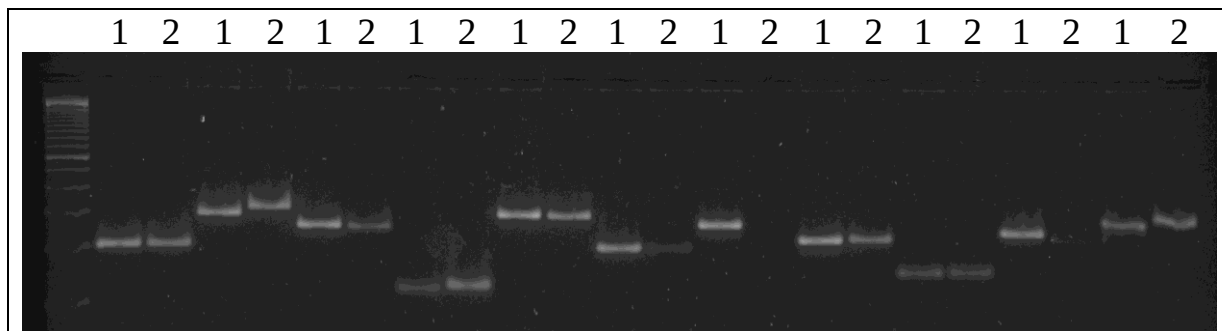


Figura 2 - Padrão de amplificação de onze pares de *primers* microssatélites em *S. lycopersicum* ‘Redenção’ (1) e acesso silvestre *S. habrochaites* var *hirsutum* (2).

A (Figura 3) mostra o padrão de amplificação do *Primer* SSR 1540 nos parentais e na população segregante F₂RC₂.

A banda polimórfica (1) em destaque, é originária do genitor doador (*S. lycopersicum* cv ‘Redenção’ variedade comercial), portanto a presença do conjunto desta banda caracteriza os genótipos mais próximos geneticamente desse genitor, enquanto que, genótipos apresentando a banda polimórfica (2), em destaque, mostram-se com maior proporção de genoma do genitor (*S. habrochaites* var *hirsutum*).

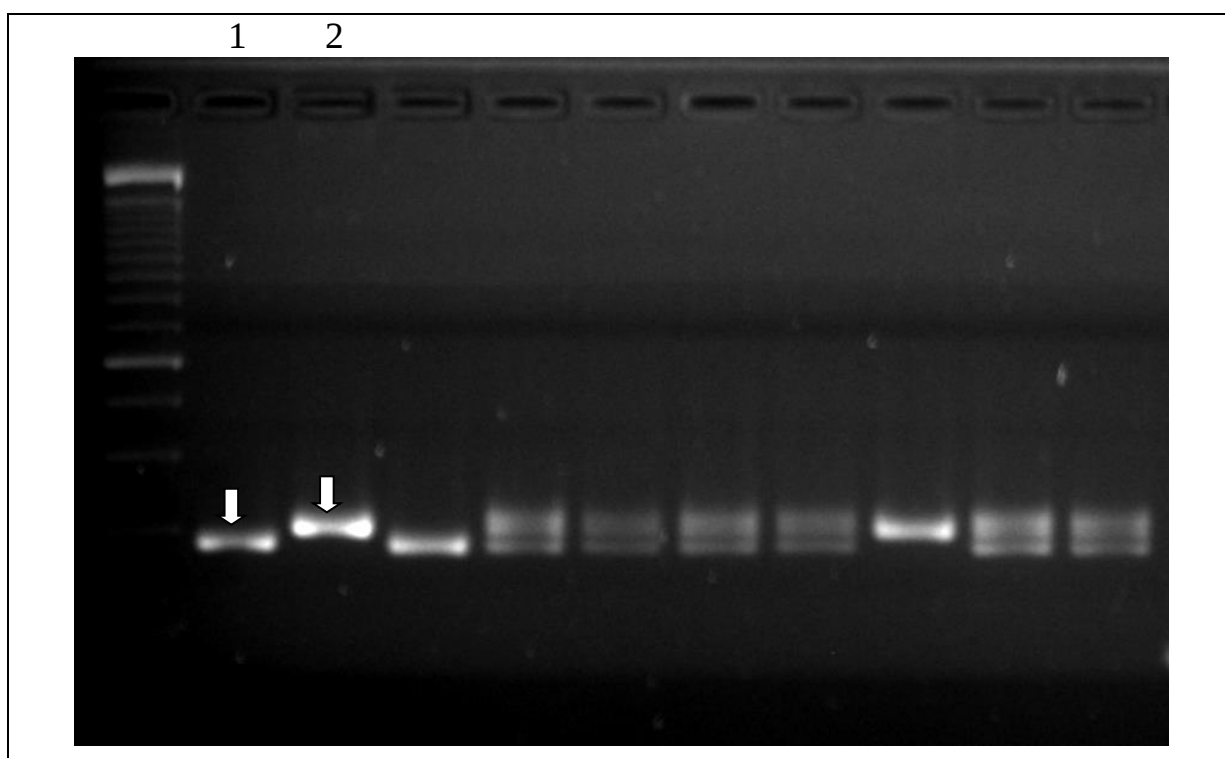


Figura 3 - Padrão de amplificação nos parentais e nos genótipos da população segregante F_2RC_2 , do *primer* SSR 1540. (1) variedade comercial *S. lycopersicum* ‘Redenção’ e acesso silvestre *S. habrochaites* var *hirsutum* (2). Setas indicam alelos de diferentes tamanhos nos genitores.

Tabela 5. Dissimilaridade genética estimada de dados obtidos com os marcadores ISSR e SSR entre os parentais *S. lycopersicum* cv ‘Redenção’, *S. habrochaites* var, *hirsutum* e genótipos F_2RC_2 .

	REDENÇÃO	HIRSUTUM
<i>S. habrochaites</i> var <i>hirsutum</i>	0,99	0,00
RVTZ250	0,71	0,45
RVTZ235	0,69	0,48
RVTZ248	0,72	0,44
RVTZ399	0,70	0,55
RVTZ143	0,64	0,53
RVTZ164	0,70	0,53

Os coeficientes de dissimilaridade entre os genótipos F_2RC_2 e seus parentais são apresentados na (Tabela 5). As estimativas dos coeficientes variaram de 0,49 a 0,99 em

relação ao pai recorrente *S. lycopersicum* cv 'Redenção'. A menor dissimilaridade encontrada dentre os genótipos pré-selecionados para alto teor na análise de zingibereno ocorreu em RVTZ pl#143. Por apresentar maior proporção de recuperação do genoma recorrente (*S. lycopersicum* cv 'Redenção'), este genótipo é indicado como genitor no programa de melhoramento, apresentado maior potencial para cruzamentos e obtenção de genótipos F₂RC₃.

Os *primers* testados ISSR e SSR, apresentaram um alto polimorfismo nos genótipos de tomateiro. O alto polimorfismo dos *primers* demonstra sua relevante contribuição para o agrupamento dos genótipos de acordo com sua dissimilaridade, gerando mais confiança nos resultados obtidos (FRANCO et al., 2001).

Figueiredo et al., (2016), salientam que marcadores moleculares ISSR são eficazes, contrastando pais para produção de híbridos em tomate e podendo observar a divergência entre os parentais. Também Aguilera et al., (2011), em estudo de variabilidade genética em tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.), demonstra que os marcadores ISSR foram eficazes na estimativa da diversidade genética de acessos de *Solanum* caracterizando os diferentes níveis de polimorfismo.

Pode-se citar como exemplo pesquisa feita por Antonio et al., (2012), utilizando marcadores RAPD e SSR, para a seleção de plantas do primeiro e segundo retrocruzamento de duas populações de feijoeiro, chegaram ao resultado que as plantas mais semelhantes ao recorrente foram às mesmas nos dois métodos de avaliação.

O método de retrocruzamento assistido por marcadores tem sido utilizado com sucesso na seleção de genótipos com resistência à virose do endurecimento do fruto, em melhoramento genético de maracujá (FALEIRO et al. (2007).

Como uma alternativa importante os marcadores moleculares agem no aumento da eficiência do processo de retrocruzamento uma vez que possibilita a identificação precisa e precoce de indivíduos que possuem maior recuperação do genoma do genitor recorrente (OPENSHAW et al., 1994).

Os marcadores moleculares e também os estudos morfológicos, contribuíram positivamente para os resultados do presente trabalho. A dissimilaridade genética estimada pelos marcadores moleculares ISSR e SSR demonstrou ser útil para identificar a proximidade com a variedade comercial, ou seja, a recuperação do genoma recorrente de cada genótipo estudado.

As seleções baseadas no teor de zingibereno e com marcadores moleculares, selecionaram genótipos de tomateiro F₂RC₂ com alto teor do aleloquímico e maior proporção

de recuperação do genoma recorrente *S. lycopersicum* cv “Redenção”. Os resultados obtidos nesta pesquisa, são de suma importância para o avanço deste programa de melhoramento. Sendo que para avançar a geração F₂RC₃, tem-se materiais genéticos com alto teor de zingibereno e próximos da cultivar comercial.

2.3.4 Conclusão

O método de seleção por quantificação do zingibereno, permitiu uma pré-seleção sugerindo que *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’, com reduzida quantidade de zingibereno (0,032Abs) bem como genótipos semelhantes a ele, expressem, menor grau de resistência aos insetos e ácaros-praga quando comparado a *S. habrochaites* var. *hirsutum* (0,946Abs) e aos genótipos F₂RC₂ portadores de altos teores do aleloquímico.

Os marcadores ISSR e SSR identificaram, RVTZ pl#143, sendo o genótipo de tomateiro F₂RC₂ com maior proporção de recuperação do genoma recorrente (*S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’).

A utilização da seleção assistida por marcadores moleculares permitiu caracterizar genótipos de tomateiro com altos teores de zingibereno com maior proporção de recuperação do genoma recorrente de *S. lycopersicum* cv ‘Redenção’.

2.4 Referências

- ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L.; CHAVARRIAGE, P.; KOCHERT, G. Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of the tropical tree *Symphonia globulifera*. **Molecular Ecology**, v.7, p. 933-944, 1998.
- ANTONIO, R.P.; SANTOS, J.B. dos; ALVES, F.C.; GONÇALVES, P.R.C.; LARA, L.A.C. Seleção assistida por marcadores de dna em retrocruzamento visando resistência ao mofo branco em feijoeiro. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 4, p. 61-67, 2012.
- CAMPOS, G.A. Inter-relações entre teor de zingibereno, tipos de tricomas foliares e resistência a ácaros *Tetranychus evansi* em tomateiro. 1999. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999. 65p.
- CARTER, C.D.; SACALIS, J.N.; GIANFAGNA, T.J. Zingiberene and resistance to Colorado potato beetle in *Lycopersicum hirsutum* f. *hirsutum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, p.206-210, 1989.
- ESASHIKA, DAS; MICHEREFF-FILHO, M; BASTOS, CS; INOUE-NAGATA, AK; DIAS, AM; RIBEIRO, MGPM. Suscetibilidade de adultos de *Bemisia tabaci* biótipo B a inseticidas. **Horticultura Brasileira**, v 34, n 2, p 189-195, 2016.
- FALERIO, F.G. 2007. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina DF: **Embrapa Cerrados**, 120 p.
- FERNANDES, M.E.S.; FERNANDES, F.L.; SILVA, N.O.; SILVA, D.J.H.; PINTO, F.G.; RAMOS, R.S. Selection of Tomato Hybrids With Zingiberene Concentration for Breeding Programs to Pest Resistance. **Journal of Agricultural Science**; v. 6, n.6. p. 148-154, 2014.
- FERRAZ, E., RESENDE, L.V.; LIMA, G.S.A.; SILVA, M.C.L.; FRANÇA, J.G.E.; SILVA, D.J. Redenção: nova variedade de tomate para a indústria resistente a geminivírus e tospovírus. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 578-580, 2003.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3ª ed. (EMBRAPA-CENARGEN Documento 20). Brasília: **Embrapa-Cenargen**, 1998. 220p.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares RAPD e RFLP em análise genética. Brasília: EMBRAPA/CENARGEM, 1995. 220 p.
- FIGUEIREDO, A.S.T.; RESENDE, J.T.V.; FARIA, M.V.; Da-SILVA, P.R.; FAGUNDES, B.S.; MORALES, R.G.F.; Prediction of industrial tomato hybrids from agronomic traits and ISSR molecular markers. **Genetic Molecular Research**, v.15, 2016.
- FRANCO, M.C.; CASSINI, S.T.A.; OLIVEIRA, V.R.; TSAI, S.M. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36: 381-385, p. 2001.

FREITAS, J. A. de; MALUF, W. R.; CARDOSO, M. das G.; BENITIES, F. R. G. Métodos para a quantificação do zingibereno em tomateiro, visando à seleção indireta de plantas resistentes a artrópodes-praga. **Acta scientiarum**, v. 22, n. 4, p. 943-949, 2000a.

FREITAS, J.A.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; GOMES, L.A.A.; BEARZOTTI, E. Inheritance of foliar zingiberene contents and their relationship to trichome densities and whitefly resistance in tomatoes. **Euphytica**, v.127, p.275-287, 2002.

FREITAS, J.A.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; OLIVEIRA, A.C.B. Seleção de plantas de tomateiro visando à resistência à artrópodes-praga mediada por zingibereno. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.22, p.919-923, 2000b.

GIANFAGNA, T.J.; CARTER, C.D.; SACALIS, J.N. Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of *Lycopersicum hirsutum* f. *hirsutum*. **Plant Physiology**, v.100, p.1403-1405, 1992.

GONÇALVES, L.D. MALUF, W.R. CARDOSO, M. das G. RESENDE, J.T.V. de. CASTRO, E.M. de. SANTOS, N.M. NASCIMENTO, I.R do. FARIA, M.V. Relação entre zingibereno, tricomas foliares e repelência de tomateiros a *Tetranychus evansi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.267-273, 2006.

HOFFMANN, L.V.; BARROSO, P.A.V. 2006. Marcadores Moleculares como Ferramentas para Estudos de Genética de Plantas. (Embrapa Algodão. Documentos, 147). Campina Grande: **Embrapa algodão**, 2006. 35p.

JOHNSON, R. Past, present, and future opportunities in breeding for disease resistance, with examples from wheat. **Euphytica**, v.63, p. 3–22, 1992.

LEITE, G. L. D.; FIALHO, A. Pragas do Tomateiro. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. 71 p. Disponível em: http://www.ica.ufmg.br/insetario/images/aulas/Pragas_de_tomate.pdf >. Acesso em: 27 jul. 2013.

LIMA, IP; RESENDE, JTV; OLIVEIRA, JRF; FARIA, MV; DIAS, DM; RESENDE, NCV. Selection of tomato genotypes for processing with high zingiberene content, resistant to pests. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 387-391, 2016.

LUCKWILL, L.C. **The genus *Lycopersicum*: an historical, biological, and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes**. Aberdeen: Aberdeen University Press, 1943. 44p.

MACIEL, G. M.; MALUF, W. R.; SILVA, V. F.; GONÇALVES NETO, A. C.; NOGUEIRA, D. W.; GOMES, L. A. A. Heterose e capacidade combinatória de linhagens de tomateiro ricas em açúcares. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 34, n. 5, p. 1161-1167, set./out. 2010.

MACIEL, G. M.; MALUF, W. R.; SILVA, V. F.; GONÇALVES NETO, A. C.; GOMES, L. A. A. Híbridos pré-comerciais resistentes a *Tuta absoluta* obtidos de linhagem de tomateiro rica em açúcares. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 151-156, abr./jun. 2011.

ALZATE-MARIN, A.L., CERVIGNI, G.D.L., MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, 30:333-342. 2005.

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

MECK, E.D., KENNEDY G.G., WALGENBACH, J.F. Effect of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on yield, quality, and economics of tomato production. **Crop Protection**, v.52, p. 84-90, 2013.

MECK, E.D., WALGENBACH, J.F., KENNEDY, G.G. Association of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) feeding and gold fleck damage on tomato fruit. **Crop Protection**, v. 42, p. 24-29, 2012.

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

MOREIRA GR; SILVA DJH; CARNEIRO PCS; PICANÇO MC; VASCONCELOS AA; PINTO CMF. Herança de caracteres de resistência por antixenose de *Solanum pennellii* à traça-do-tomateiro em cruzamento com ‘Santa Clara’. **Horticultura Brasileira** 31: 574-581, 2013.

MOREIRA, G.R.; SILVA, D.J.H.; PICANÇO, M.C.; PETERNELLI, L.A.; CALIMAN, F.R.B. Divergência genética entre acessos de tomateiro infestados por diferentes populações da traça-do-tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.4, p.893-898, 2005.

NEIVA, I. P.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; MALUF, W. R.; OLIVEIRA, C. M.; MACIEL, G. M. Role of allelochemicals and trichome density in the resistance of tomato to whitefly. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, MG, v. 37, n. 1, p. 61-67, jan./fev. 2013.

NOGUEIRA, D.G., MALUF, W.R.; NOGUEIRA, D.W.; MACIEL, G.M.; PAIVA, L.V.; FIGUEIRA, A.R. Marcador microssatélite associado ao alelo Ty-1 de resistência a Begomovirus em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.4, p.412-419, 2011.

OPENSHAW, S.J.; JARBOE, S.G.; BEAVIS, W.D. Marker assisted selection in backcross Corvallis, Oregon. *Proceedings...Corvallis: American Society for Horticultural Science*. **Crop Science of America**,. p.41-43, 1994.

PONTES, W, J.T. Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais de espécies nativas de Pernambuco sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari Tetranychidae). 2006. 99p. **Dissertação** (Mestrado em Entomologia Agrícola). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

SCHOONHOVEN, L. M., J.J.A. VAN L., DICKE. M. **Insect-plant biology**. Oxford University Press, New York, 2005. 421p

SANTOS, FERNANDA RAQUEL CAMILO DOS. Obtenção de linhagens de grãos do tipo especial em *Phaseolus vulgaris* por meio de retrocruzamentos. / Fernanda Raquel Camilo dos Santos. **Campinas**, 2009. 61p.

SILVA, V. F., MALUF, W. R., CARDOSO, M. G., NETO, Á. C. G., MACIEL, G. M.; NÍZIO, D. A. C.; SILVA, V. A. Resistência mediada por aleloquímicos de genótipos de tomateiro à mosca-branca e ao ácaro-rajado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1262-1269, 2009.

SNYDER, J.; C.; SIMMONS, A.; M.; TRACKER, R.; R. Attractancy and ovipositional response of adult *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) to type IV trichome density on leaves of *Lycopersicon hirsutum* grown in three daylength regimes. **Journal Entomology Science**, v. 33, p. 270-281, 1998.

SOL GENOMICS NETWORK. International Solanaceae Genome Project (SOL): systems approach to diversity and adaptation. Disponível em: <https://solgenomics.net/solanaceae-project/index.pl>, Acesso em: 20 dez. 2016.

SUINAGA, F.A., PICANÇO, M.C., MOREIRA, M.D., SEMEÃO, A.A., MAGALHÃES, S.T.V. Resistência por antibiose de *Lycopersicum peruvianum* a traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 281-285, 2004.

TOPPA, E.V.B.; JADOSKI, C.J. Uso dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.12, n. 1, p.1-5, 2013.

TOSCANO, L.C.; BOIÇA JÚNIOR, A.L.; SANTOS, J.M.; ALMEIDA, J.B.S.A. Tipos de tricomas em genótipos de *Lycopersicum*. **Horticultura Brasileira**, v. 19, n. 3, p. 204-206, 2001.

WAR, A.R.; PAULRAJ, M.G.; AHMAD, T.; BUHROO, A.A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H.C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signal Behavior**, v.7, n.10, p. 1306–1320, 2012.

WESTON, P. A.; SNYDER, J. C. Thumb tack bioassay : a quick method of measuring plant resistance to two spotted spider mites (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 83, p. 501-504, 1990.

3. Comportamento de seleção hospedeira para *Tetranychus urticae*, *Bemisia tabaci*, *Tuta absoluta* e *Diabrotica speciosa* em genótipos de tomateiro da geração F₂RC₂ (*Solanum lycopersicum* cv. “Redenção” x *Solanum. habrochaites* var. *hirsutum*).

Resumo

Em genótipos de tomateiro, o tipo e a densidade de tricomas, bem como os teores de aleloquímico, como o zingibereno, têm direcionado programas de melhoramento genético para resistência a artrópodes-praga. Neste trabalho, avaliamos a seleção hospedeira de dois artrópodes com hábito sugador, *Tetranychus urticae* e *Bemisia tabaci*, e dois com hábito mastigador, *Tuta absoluta* e *Diabrotica speciosa*, buscando caracterizar a preferência destes em relação a genótipos com teores distintos de zingibereno. Tais genótipos pertencem à geração F₂RC₂, resultante do cruzamento interespecífico entre *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826 e a cultivar comercial *Solanum lycopersicum* cv “Redenção”, sendo um selecionado para baixo teor (RVTZ 2011-79-117-273) e três para altos teores de zingibereno (RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164 e RVTZ 2011-79-185-250). Para avaliação do comportamento de seleção hospedeira dos artrópodes-praga foram realizados bioensaios com e sem chance de escolha para *T. urticae*, e com chance de escolha para *B. tabaci*, *T. absoluta* e *D. speciosa*. O teor de zingibereno influenciou a seleção hospedeira de todos os herbívoros avaliados. Os genótipos com teores elevados proporcionaram menor frequência de escolha e menor número de ovos de *T. urticae* que genótipos com baixos teores. Além disso, os genótipos selecionados para altos teores de zingibereno foram rejeitados por *B. tabaci*, *T. absoluta* e *D. speciosa* nos testes com chance de escolha, demonstrando a resistência destes genótipos em relação a cultivar padrão de suscetibilidade e, na maioria dos casos, ao genótipo com baixo teor do aleloquímico. Os resultados apresentados aqui demonstram que os genótipos F₂RC₂ selecionados para alto teor, possuem características de resistência por antixenose aos artrópodes-praga, *T. urticae*, *B. tabaci*, *T. absoluta* e *D. speciosa*, as quais são provenientes da espécie silvestre *S. habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826. Tais evidências subsidiam as próximas etapas do programa de melhoramento genético de tomateiro para resistência a artrópodes-praga, as quais direcionarão a geração F₂RC₃.

Palavras-Chave: melhoramento genético, zingibereno, oviposição, sobrevivência.

3. Behavior of the host selection for *Tetranychus urticae*, *Bemisia tabaci*, *Tuta absoluta* and *Diabrotica speciosa* in tomato genotypes of the F₂RC₂ generation (*Solanum lycopersicum* cv. "Redenção" x *Solanum, habrochaites* var. *hirsutum*).

Abstract

In tomato genotypes, the type and density of trichomes, as well as allelochemical contents, such as zingiberene, have directed genetic improvement programs for resistance to arthropod-pests. In this study, we evaluated the host selection of two sucking pests, *Tetranychus urticae* and *Bemisia tabaci*, and two with masticating habit, *Tuta absoluta* and *Diabrotica speciosa*, contents to characterize their preference for genotypes with different levels of zingiberene. These genotypes belong to the F₂RC₂ generation, resulting from the interspecific crossing between *Solanum. habrochaites* var. *hirsutum* 'PI 127826 and the commercial cultivar *Solanum. Lycopersicum* cv. "Redenção", where one was selected for low content (RVTZ 2011-79-117-273) and three for high levels of zingiberene contents (RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164 and RVTZ 2011 -79-185-250). To evaluate the host selection behavior of the arthropod-pests, bioassays were carried out with free and non-choice tests for *T. urticae*, and free choice test for *B. tabaci*, *T. absoluta* and *D. speciosa*. The zingiberene content affected the host selection of all herbivores evaluated. The genotypes with high contents showed less frequency of choice and fewer number of eggs of *T. urticae* than genotypes with low levels. In addition, genotypes selected for high zingiberene contents were rejected by *B. tabaci*, *T. absoluta* and *D. speciosa* in the bioassays with a free choice, demonstrating the resistance of these genotypes compared to the cultivate standard of susceptibility and in most cases to the genotype with low content of the allelochemical. The results presented here demonstrated that the F₂RC₂ genotypes, selected for high content, shower resistance by antixenosis for *T. urticae*, *B. tabaci*, *T. absoluta* and *D. speciosa*, which come from the wild species *S. habrochaites* var. *hirsutum* 'PI 127826. these evidences subsidize the next steps in the tomato genetic improvement program for resistance to pest arthropods, which will lead the F₂RC₃ generation.

Key words: genetic improvement, zingiberene, oviposition rate, survivorship.

3.1 Introdução

Um dos principais problemas na tomaticultura brasileira é a alta suscetibilidade das plantas ao ataque de artrópodes-praga, o que gera a crescente demanda por cultivares resistentes que reduzam os custos de controle e minimizem os problemas causados pelo uso de agrotóxicos. Nesse sentido, programas de melhoramento genético têm buscado fontes de resistência que sejam compatibilizadas a boas características agronômicas. Assim, considerando que as espécies silvestres de *Solanum habrochaites* possuem fatores químicos e físicos de resistência a artrópodes-praga, nos últimos anos tem-se buscado incrementar graus de resistência em variedades comerciais de *S. lycopersicum* a partir de cruzamentos destes dois grupos de plantas (GONÇALVES et al., 2006; LIMA et al., 2016).

Dentre as espécies silvestres, *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826’ é uma das mais promissoras em programas de melhoramento genético para resistência a pragas. Esta espécie possui altas densidades de tricomas glandulares do tipo IV (MALUF et al., 2001; FREITAS et al., 2002) e VI (CARTER et al. 1989a; GIANFAGNA et al., 1992), que exudam o zingibereno, composto volátil com ação deletéria sobre artrópodes-praga. Portanto, gerações segregantes podem permitir a separação e avaliação de múltiplos mecanismos de resistência que podem ocorrer nestas plantas. Além disso, bioensaios comportamentais e biológicos são importantes em programas de melhoramento, a fim de determinar os graus de resistência dos genótipos em relação aos artrópodes-pragas que se deseja atingir (SNYDER et al., 1998).

Atualmente, há registros de resistência de espécies silvestres de tomateiro em relação a espécies de Lepidoptera (Leite et al., 1998; Gonçalves e Gervásio et al., 1999; Gurr & Mcgrath., 2001; Resende et al., 2006; Maluf et al., 2010; Maciel et al., 2011; Oliveira et al., 2012); Dias et al., 2013; Lima et al., 2015), Hemiptera (Baldin et al., 2005; Simmons et al., 2003; Fancelli et al., 2005; Silva et al., 2013; Dias et al., 2016; Neiva et al., 2013); Coleoptera (Carter et al., 1989 a,b) e *Tetranychus* spp. (Carter & Snyder., 1985; Weston et al., 1990; Gonçalves et al., 2006; Silva et al., 2009; Baier et al., 2015; Lucini et al., 2015; Lima et al., 2016). Entretanto, em cada etapa de um programa de melhoramento, são necessários novos estudos que caracterizem a resistência das gerações, buscando confirmar a presença das características desejáveis advinda dos progenitores. Assim, no presente estudo, foi avaliada a seleção hospedeira de artrópodes destes quatro grupos: Lepidoptera (*Tuta absoluta*), Hemiptera (*Bemisia tabaci*), Coleoptera (*Diabrotica speciosa*) e Ácaro rajado *Tetranychus urticae*, buscando caracterizar os graus de resistência de genótipos com teores distintos de

zingibereno. Tais genótipos pertencem a geração F₂RC₂, resultante do cruzamento interespecífico entre *S. habrochaites* var. *hirsutum* ‘PI 127826 e a cultivar comercial *S. lycopersicum* cv. “Redenção”, sendo um selecionado para baixo teor (RVTZ 2011-79-117-273) e três para altos teores de zingibereno (RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164 e RVTZ 2011-79-185-250).

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local dos experimentos

Os trabalhos foram realizados no Núcleo de Pesquisas em Hortaliças e no Laboratório de Entomologia Agrícola da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Campus CEDETEG, em Guarapuava-PR, situado nas coordenadas geográficas 25°23’00’’ de latitude Sul e 51°29’38.50’’ de longitude Oeste, a uma altitude de 1.024 metros. O clima local é classificado como subtropical úmido mesotérmico (Cfb), com verões moderados e invernos com incidência de geadas.

3.2.2 Obtenção e criação dos artrópodes

Tetranychus urticae. A criação foi estabelecida a partir da coleta de indivíduos de *T. urticae* no campo experimental da UNICENTRO. Foi estabelecida uma criação estoque, no qual os ácaros foram mantidos e multiplicados em plantas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivadas em vasos (5 L) e acondicionadas em sala climatizada (temperatura 25±2°C, fotofase de 12 horas), sob irrigação diária. Os vasos contendo as plantas de feijão e os ácaros foram substituídos por plantas novas à medida que as plantas colonizadas pelos ácaros apresentaram sintomas intensos de ataque ou início de senescência. Essa substituição foi realizada colocando-se folhas com alta infestação do ácaro das plantas antigas, sobre as plantas novas. A partir da criação estoque, deu-se início a criação com controle de idade, a qual consistia em 10 ácaros adultos (3 machos e 7 fêmeas) mantidos em folíolos individuais de feijão. Cada folíolo foi mantido em bandejas plásticas (200x300 mm), com a face inferior voltada para cima, e sobre uma esponja umedecida em água destilada. Os ácaros foram mantidos nos folíolos durante 24 horas, e posteriormente os adultos foram retirados, permanecendo apenas os ovos. Para a renovação e preparo de novas bandejas, os folíolos

antigos em estágio de senescência foram colocados sobre os folíolos novos, permitindo o deslocamento dos ácaros. A criação foi realizada em câmara climatizada tipo BOD (temperatura $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

Bemisia tabaci. A criação foi estabelecida a partir da coleta de indivíduos de *Bemisia tabaci* em plantas de tomateiro no interior de casa de vegetação do Núcleo de Pesquisas em Hortaliças da UNICENTRO. Foi estabelecida uma criação estoque, no qual as moscas-brancas foram mantidas e multiplicadas em plantas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), cultivadas em vasos (5 L) e acondicionadas em gaiolas no interior de casa de vegetação com controle de temperatura ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$) e sob irrigação diária. Os vasos contendo as plantas de feijão foram substituídos por plantas novas utilizando a mesma metodologia descrita acima para *T. urticae*. A criação para controle de idade foi realizada mantendo-se folhas de feijão com ninfas de moscas-branca em gaiolas confeccionadas em *voil* (100x100 cm), em ambiente protegido com plantas de feijão livres de infestação. Os insetos adultos utilizados apresentavam idade entre 5 e 8 dias e não foram separados por sexo.

Tuta absoluta. Indivíduos de *Tuta absoluta* coletados em casa de vegetação do Núcleo de Pesquisas em Hortaliças da UNICENTRO foram mantidos em plantas de tomateiro cultivar Santa Cruz, cultivadas em vasos (5 L). Os vasos com as plantas foram acondicionados em gaiolas de *voil* (100x150 cm) com estrutura de PVC, onde foram inseridos adultos de *T. absoluta* e um frasco com solução de mel a 10% para alimentação, o qual foi substituído a cada três dias. As posturas realizadas nas folhas foram retiradas em intervalos de três dias e transferidas para gaiolas semelhantes contendo plantas livres de infestação. As gaiolas de criação foram mantidas no interior de casa de vegetação com controle de temperatura ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$). Os vasos contendo as plantas de tomate Santa Cruz foram substituídos por plantas novas à medida que as mesmas apresentaram alta porcentagem de folhas danificadas.

Diabrotica speciosa. Os indivíduos de *D. speciosa* foram obtidos a partir de criação em laboratório, baseada na metodologia de Parra (2000). Adultos foram mantidos em gaiola plástica (40 x 30 x 40 cm) contendo plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e substrato de oviposição, constituído de um recipiente circular (10 x 1,5 cm) forrado com gaze preta umedecida. Este substrato foi retirado da gaiola a cada dois dias, lavando-se a gaze sob água

corrente e recolhendo-se os ovos que permaneciam retidos em uma peneira de *voil*. Os ovos coletados foram tratados com sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) a 1%, por dois minutos, e transferidos para placas de Petri (9 x 1 cm), onde permaneceram até a eclosão. As larvas recém-eclodidas foram inoculadas em sementes de milho (*Zea mays* L.) pré-germinadas e mantidas em recipientes plásticos preenchidos com vermiculita umedecida (1 parte vermiculita: 2 partes água). Após 10 a 15 dias, realizou-se a transferência das larvas para novos recipientes contendo novas plântulas, onde os indivíduos permaneciam até a emergência. Esta criação foi realizada em salas climatizadas com temperatura de 22 ± 3 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12:12h.

3.2.3 Obtenção dos genótipos e cultivo das plantas

A população de plantas utilizada gerou-se a partir do retrocruzamento de plantas $F_2\text{RC}_1$ com *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’. Os genótipos $F_2\text{RC}_1$ foram oriundos do cruzamento interespecífico entre *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826 e *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’, gerando os seguintes genótipos: RVTZ 2011-079-117, RVTZ 2011-079-185, RVTZ 2011-079-335 e RVTZ 2011-079-503, (ZANIN, 2015). A partir do retrocruzamento desse genótipos com *S. lycopersicum* ‘Redenção’ obteve-se a geração $F_1\text{RC}_2$, com a autofecundação desta geração obteve-se a geração $F_2\text{RC}_2$ a qual foi utilizada na presente pesquisa.

A seleção dos genótipos $F_2\text{RC}_2$ contou com 500 plantas no total, sendo 100 plantas geradas de cada genitor $F_1\text{RC}_2$, 50 plantas *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826 e 50 plantas de *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’, esta seleção baseia-se no teor de zingibereno aleloquímico presente nos folíolos da planta, para esta quantificação seguiu-se a metodologia proposta por (FREITAS et al., 2000). Os genótipos $F_2\text{RC}_2$ foram distribuídas ao longo da casa-de-vegetação e numeradas de 1 a 500, a partir daí cada planta passou a ser considerada um tratamento.

Uma vez selecionados os genótipos, efetuou-se clones de cada um e após enraizamento transplantou-se os mesmos para vasos de polietileno com capacidade de 10 L, contendo mistura de substrato comercial e solo (1:1), fertilizante químico N-P-K (04:14:08) e calcário conforme necessidade para cultura. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, irrigados diariamente.

Os genótipos F₂RC₂, utilizados nas análises de comportamento dos insetos e ácaro foram: RVTZ 2011-79-503-pl#143, RVTZ 2011-79-503-pl#164, RVTZ 2011-79-503-pl#250, selecionados para alto teor de zingibereno e RVTZ 2011-79-117-273, com baixo teor e os parentais *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’ e *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826 (Tabela 1).

Tabela 1 - Nomenclatura de *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’ e *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826 e genealogia dos genótipos F₂RC₂, com respectivas abreviações.

Genótipos	Abreviações
<i>Solanum lycopersicum</i> cv. ‘Redenção’	<i>S. lycopersicum</i> cv. ‘Redenção’
<i>Solanum habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i> PI-127826	<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	RVTZ pl#143
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	RVTZ pl#164
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	RVTZ pl#250
RVTZ 2011-79-117-273(Baixo teor)	RVTZ pl#273

3.2.4 Ensaios comportamentais

Comportamento de seleção hospedeira de *Tetranychus urticae*. Os bioensaios com chance de escolha foram realizados em arenas confeccionadas em placas de Petri (diâmetro 6 cm) revestidas com esponja e uma camada de algodão, ambas umedecidas em água destilada. Nestas placas, dois discos foliares (diâmetro 3 cm), obtidos da região mediana das plantas de tomateiro com 50 dias de desenvolvimento, foram dispostos com a região abaxial para cima. Assim, em cada placa foram combinados dois genótipos, sendo combinados todos os genótipos avaliados, visando avaliar a preferência dos ácaros. Os discos foram conectados entre si por uma lamínula de plástico transparente (18 x 18 mm) (Figura 1), no centro da qual foram liberadas quatro fêmeas adultas de *T. urticae*, permitindo a livre escolha entre os discos dos diferentes genótipos de tomateiro. As placas foram mantidas durante 24 horas em câmara climatizada (temperatura 25±1°C, umidade de 70±10% e fotofase de 12 horas), após foi avaliado a frequência de escolha (%) dos ácaros. O experimento conteve seis tratamentos (genótipos) que foram combinados entre eles em pares (combinação) com cinco repetições por par (no total, 14 combinações); as arenas foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado.

Para o bioensaio sem chance de escolha foram utilizadas arenas semelhantes àquelas dos bioensaios com chance de escolha descritas acima. Nesse caso, porém, inseriu-se individualmente, um disco foliar (30 mm de diâmetro) de cada genótipo e sobre cada disco foram transferidas seis fêmeas adultas oriundas da criação, com auxílio de um pincel de cerdas finas sob um estereomicroscópio (Nikon SMZ745T). As fêmeas foram mantidas sobre os discos durante 24 horas, após o qual se contabilizou o número de ácaros vivos e o número de ovos depositados na face abaxial de cada disco. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos (genótipos) e cinco repetições, o conjunto de placas foi mantido em câmara climatizada (temperatura $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

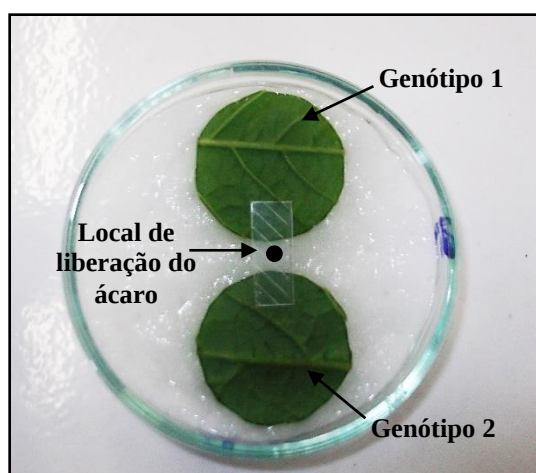


Figura 1. Arena utilizada nos bioensaios com chance de escolha do ácaro rajado, *Tetranychus urticae*, em relação aos folíolos de diferentes genótipos de tomateiro.

Comportamento de seleção hospedeira de *Bemisia tabaci*. O comportamento de seleção hospedeira para oviposição de *B. tabaci* foi avaliado em um teste com chance de escolha, no qual os adultos foram submetidos aos genótipos avaliados, com livre escolha. Para tanto, foram utilizadas arenas plásticas (29 cm diâmetro) com orifícios laterais equidistantes, onde foram inseridos os folíolos na posição horizontal, com o pecíolo mantido externamente à arena e a área foliar internamente (Figura 2 A, B). A umidade da folha foi mantida envolvendo-se o pecíolo em algodão hidrófilo e inserindo-o em um tubo plástico (0,3 cm diâmetro x 10 cm comprimento), onde adicionou-se água em quantidade suficiente para encher o tubo e permitir o encharcamento do algodão e do pecíolo (Figura 2A, B). Em cada uma das arenas foram liberados 30 indivíduos adultos de *B. tabaci* com 5-8 dias de idade, liberados com auxílio de succionador (tubo plástico transparente de 0,3 cm diâmetro) a partir de orifício feito no fundo do recipiente, sendo que a tampa foi substituída por tecido *voil* para

impedir a saída dos insetos e permitir a entrada de ar. Após 24 horas da liberação dos adultos, contabilizou-se o número de indivíduos e de ovos presentes na face abaxial de cada folíolo. Este bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos (genótipos) e vinte repetições, sendo que as arenas foram mantidas em casa de vegetação com controle de temperatura ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$).

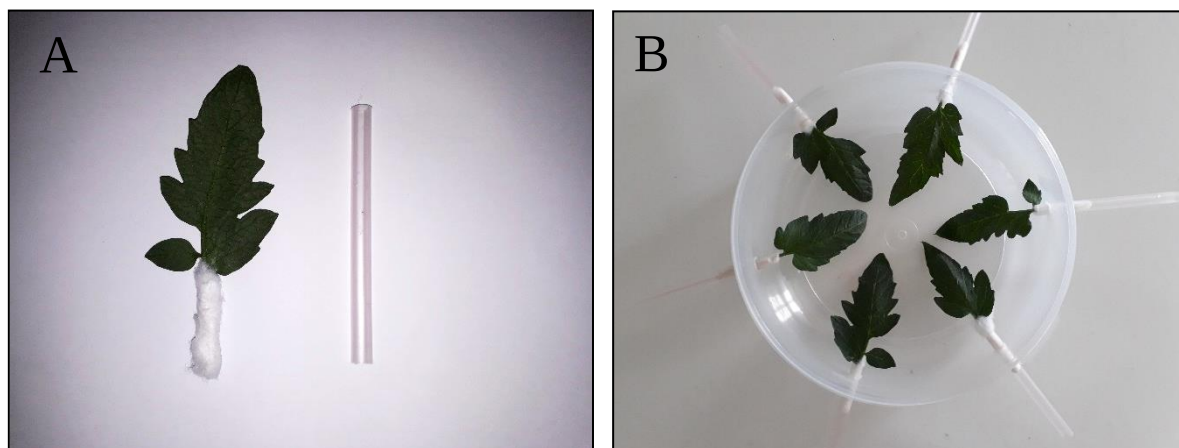


Figura 2 - Componentes das arenas utilizadas para os bioensaios com chance de escolha de *Bemisia tabaci* e *Diabrotica speciosa* em relação aos genótipos de tomateiro. A) Folíolo com pecíolo envolto em algodão hidrófilo e tubo de plástico no qual os pecíolos foram inseridos. B) Arena montada com os folíolos de cada genótipo dispostos equidistantes.

Após a contagem, foi também calculado o índice de atratividade: $IA = 2T/(T+P)$, onde IA = índice de atratividade; T = número de insetos atraídos para o genótipo avaliado e P = número de insetos atraídos para o padrão suscetível, (*Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’). Os valores de IA variam entre zero e dois, sendo que IA = 1 indica atração semelhante entre o genótipo avaliado (planta-teste repelente) e o padrão (planta-teste atraente), $IA < 1$ corresponde a menor atração (maior repelência) pelo genótipo e $IA > 1$ indica maior atração pelo genótipo avaliado em relação ao padrão. Esse índice é uma adaptação da fórmula citada por Lin et al. (1990), utilizado por Baldin et al (2005).

Também foi calculado o índice de preferência para oviposição: $IPO = [(T-P)/(T+P)] \times 100$, onde T = número de ovos contados no tratamento avaliado e P = número de ovos contados no genótipo padrão, (*Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’). O índice varia de +100 (muito estimulante) até -100 (total deterrência), sendo o valor 0 indicativo de neutralidade (BALDIN et al. 2000). A classificação dos genótipos foi feita a partir da comparação das médias de ovos dos tratamentos com a média do genótipo *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’.

Comportamento de seleção hospedeira de *Tuta absoluta*. O comportamento e a postura de *Tuta absoluta* foram avaliados em bioensaios com chance de escolha, utilizando arenas similares às descritas acima para *B. tabaci*, permitindo livre escolha dos insetos em relação aos genótipos (vide Figura 3 A - C). Entretanto, para *T. absoluta*, as arenas foram confeccionadas com uma placa (material, EVA) retangular disposta de forma cônica formando um tubo (25 diâmetro x 40 cm altura) (Figura 3), com orifícios laterais arranjados de forma equidistante, os quais permitiram o acoplamento dos folíolos na posição horizontal. Da mesma forma, os folíolos foram inseridos na arena com a área foliar na parte interna e o pecíolo envolto em algodão e um tubo plástico na parte externa. Por sua vez, as aberturas superior e inferior da arena foram forradas com tecido *voil* para evitar a fuga dos insetos e permitir a circulação de ar. No centro de cada arena foram liberadas 12 fêmeas adultas com 10 a 12 dias de idade, as quais permaneceram por 72 horas até a avaliação do número de indivíduos e do número de ovos depositados nas faces adaxial e abaxial dos folíolos de cada genótipo. Após a contagem, foi também calculado o índice de atratividade e de preferência para oviposição, a exemplo do que se realizou para *B. tabaci*, conforme descrito no item acima.

O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos (genótipos) e dez repetições, e os insetos foram mantidos em salas climatizadas (temperatura $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

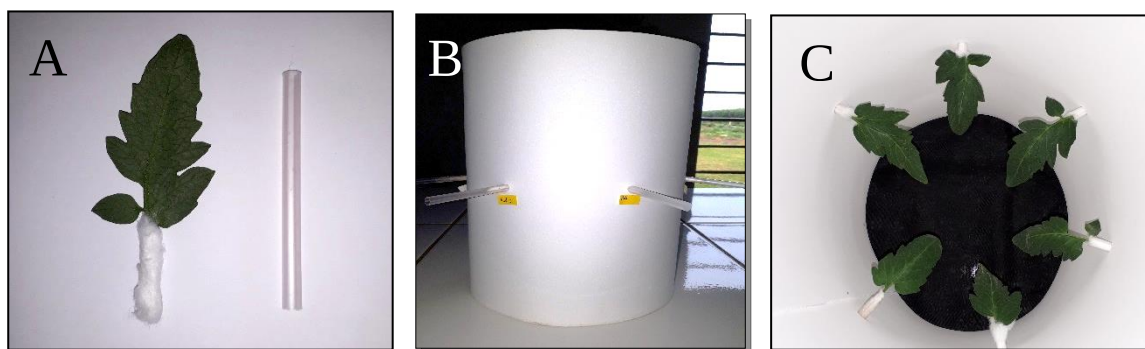


Figura 3 - Componentes da arena utilizada nos bioensaios com chance de escolha de *Tuta absoluta* em relação aos genótipos de tomateiro. A) Folíolo com pecíolo envolto em algodão hidrófilo e tubo de plástico no qual os pecíolos foram inseridos; B) vista lateral da arena; C) vista superior dos folíolos inseridos na arena.

Comportamento de seleção hospedeira de *Diabrotica speciosa*. O comportamento de seleção hospedeira de *D. speciosa* foi avaliado em bioensaios com chance de escolha, a partir da estimativa da área foliar consumida pelos adultos. Para tanto, foram utilizadas as mesmas

arenas descritas para *B. tabaci*, as quais permitiram livre acesso dos insetos aos genótipos (vide Figura 2A e B). Através de um orifício confeccionado no centro da arena, foram liberados 4 adultos de *D. speciosa* (2 machos e 2 fêmeas) que permaneceram na arena por 48 horas. Após 24 e 48 horas, foi avaliada a porcentagem de área foliar danificada, atribuindo valor mínimo de 0% às folhas intactas e máximo de 100% a folhas completamente consumidas pelos adultos, as notas variaram de 0 a 10, sendo que as avaliações foram feitas sempre pela mesma pessoa. Durante os bioensaios as arenas foram mantidas em salas climatizadas (temperatura $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 40 repetições.

3.2.5 Análise dos dados

Os dados referentes aos bioensaios com chance de escolha para o *T. urticae* e *D. speciosa* foram analisados pelo teste de Qui-quadrado ($p\leq 0,05$) e Kruskal-Wallis ($p\leq 0,05$), respectivamente, testando-se a hipótese de igualdade entre as frequências observadas e esperadas de indivíduos que se dirigiam para cada tratamento. Por sua vez, o número de adultos e de ovos de *T. urticae*, *B. tabaci* e *T. absoluta* presentes em cada genótipo foram submetidos à análise de normalidade (Bartlett, $p\leq 0,05$), análise de variância (ANOVA, $p\leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p\leq 0,05$). Dados não normais, foram transformados por $(X+0,5)^{1/2}$. Estas análises foram realizadas no software (Statística 7.0 StatSoft Inc., 2004).

3.3 Resultados

Comportamento de seleção hospedeira de *Tetranychus urticae*.

As combinações de genótipos oferecidos a *T. urticae* influenciaram a escolha de fêmeas, que apresentaram rejeição aos genótipos F₂RC₂ providos de alto teor de zingibereno, (RVTZ 2011-79-503-pl#143, RVTZ 2011-79-503-pl#164, RVTZ 2011-79-503-pl#250), quando combinados com a cultivar padrão de suscetibilidade, *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’ (χ^2 ; $p<0,05$) (Figura 4). Embora com menor intensidade, este padrão de resposta repetiu-se quando esta cultivar foi comparada ao genótipo com baixo teor de zingibereno, RVTZ 2011-79-503-pl#273.

Por outro lado, o genótipo padrão de resistência, *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826, foi significativamente menos preferido em todas as combinações avaliadas, mesmo quando comparadas com os genótipos selecionados para o alto teor de zingibereno (χ^2 ; $p < 0,001$).

Fêmeas de *T. urticae* não diferenciaram entre genótipos com alto teor de zingibereno, apresentando frequência de escolha semelhante independente dos genótipos combinados (χ^2 ; $p < 0,0001$).

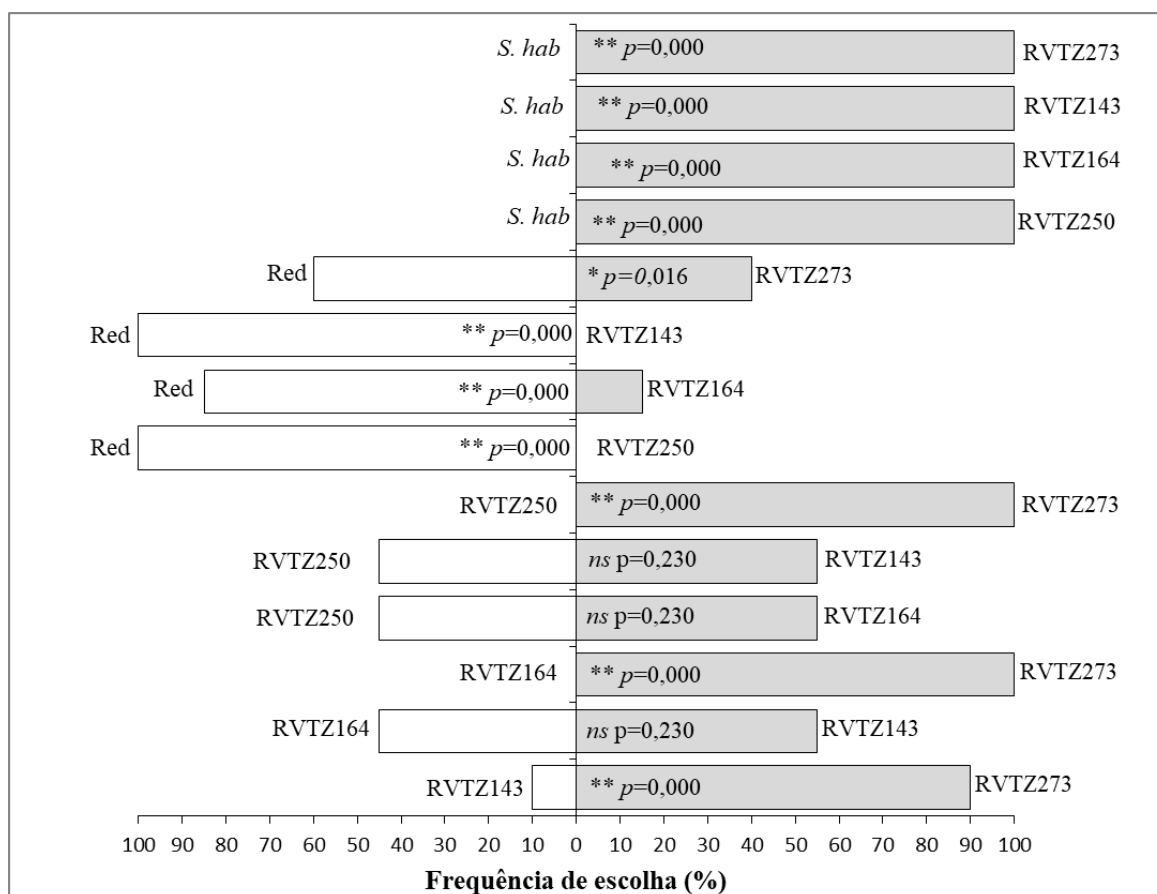


Figura 4. Frequência de escolhas realizadas por fêmeas de *Tetranychus urticae* em relação a genótipos F₂RC₂ (*Solanum lycopersicum* “Redenção” X *S. habrochaites* var. *hirsutum*) de tomateiro. (ns) Não significativo; (*) Diferença significativa entre os tratamentos (n=20, Qui-quadrado; $p < 0,05$); (**) Diferença significativa entre os tratamentos (Qui-quadrado; $p < 0,01$).

Em bioensaios sem chance de escolha, o número de ácaros vivos foi influenciado negativamente pela presença de zingibereno, tanto no genótipo de baixo, quanto de alto teor. Apenas *S. lycopersicum* cv. Redenção proporcionou mais de 90% de sobrevivência após 24 horas de exposição dos ácaros aos folíolos (Tabela 2). Por outro lado, o número médio de ovos depositados foi significativamente superior na cultivar suscetível seguido pelo genótipo

com baixo teor RVTZ273, sendo mais de 30 vezes inferior em genótipos de alto teor e acesso silvestre, os quais não diferiram entre si (Tabela 2).

Tabela 2 - Número médio ($\pm$ EP) para adultos e ovos, de ácaros *Tetranychus urticae*, na face abaxial dos discos foliares de seis genótipos de tomateiro, em bioensaio sem chance de escolha as 24 horas após a liberação.

Genótipos	Nº médio de ácaros*	Nº médio de ovos*
<i>S. lycopersicum</i> var Redenção	5,75 $\pm$ 0,12a	46 6 $\pm$ 1,8a
RVTZ 2011-79-117-273(Baixo teor)	2,25 $\pm$ 0,14b	27,2 $\pm$ 1,2b
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	3,25 $\pm$ 0,15b	3,1 $\pm$ 0,6c
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	3,50 $\pm$ 0,14b	3,9 $\pm$ 0,53c
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	3,25 $\pm$ 0,3b	0,7 $\pm$ 0,14c
<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>	3,75 $\pm$ 0,12b	1,8 $\pm$ 0,18c
CV%	17,3	23,7
F	81,9**	328**

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Dados referentes ao número médio de ovos foram transformados por $(x + 0.5)^{1/2}$

Comportamento de seleção hospedeira de *Bemisia tabaci*.

A atratividade e a seleção para oviposição de *B. tabaci* em relação aos diferentes genótipos de tomateiro (Tabela 3) demonstra que *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’ foi mais atrativo, seguido de RVTZ 2011-79-117-273 (Baixo teor), diferindo significativamente de *S. habrochaites* var *hirsutum* PI-127826 e genótipos selecionados com alto teor de zingibereno (RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164, RVTZ 2011-79-185-250).

Tabela 3 - Número médio ($\pm$ EP) de adultos e ovos de *Bemisia tabaci* na face abaxial em folíolos de genótipos de tomateiro 24 horas após a liberação em bioensaios com chance de escolha.

Genótipos	Nº médio de indivíduos*	Nº médio de ovos*
<i>S. lycopersicum</i> cv. Redenção	20,5 $\pm$ 0,9a	47,1 $\pm$ 3,7a
RVTZ 2011-79-117-273(Baixo teor)	12,9 $\pm$ 1,0b	35,3 $\pm$ 3,5b
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	0,7 $\pm$ 0,2c	1,45 $\pm$ 0,5c
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	1,2 $\pm$ 0,3c	1,8 $\pm$ 0,4c
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	1,0 $\pm$ 0,15c	1,75 $\pm$ 0,35c
<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>	1,2 $\pm$ 0,3 c	2,5 $\pm$ 0,4c
CV%	23,06	29,37
F	68,8 **	177,8**

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os dados foram transformados por $(x + 0.5)^{1/2}$

De acordo com os valores do índice de atratividade calculado após 24h de infestação (Tabela 4), todos os genótipos foram classificados como repelentes à mosca branca quando comparados ao genótipo padrão de susceptibilidade *Solanum lycopersicum* cv. ‘Redenção’. Além disso, o índice de preferência para oviposição calculado no bioensaio com chance de escolha (Tabela 5), classifica todos os materiais como deterrentes à oviposição da mosca branca, quando comparados a *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’.

Tabela 4 - Número médio ($\pm$ EP) de adultos e índice de atratividade (IA) para *Bemisia tabaci* na face abaxial de folíolos de seis genótipos de tomateiro, 24 horas após a liberação, no bioensaio com chance de escolha.

Genótipos	Nº de indivíduos	Índice de atratividade	
		IA	Atratividade
<i>S. lycopersicum</i> cv. Redenção	20,5 $\pm$ 0,9a	1,00	Alta
RVTZ 2011-79-117-273 (=Baixo 1)	12,9 $\pm$ 1,0b	0,80	Baixa
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	0,7 $\pm$ 0,2c	0,04	Baixa
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	1,2 $\pm$ 0,3c	0,10	Baixa
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	1,0 $\pm$ 0,15c	0,04	Baixa
<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>	1,2 $\pm$ 0,3c	0,10	Baixa
CV%	23,06	-	-
F	68,8 **	-	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Dados referentes ao número de indivíduos foram transformados por $(x + 0.5)^{1/2}$

IA = $2T/(T+P)$. IA varia entre 0 e 2. Sendo IA = 1 indica atração semelhante entre o genótipo avaliado (planta-teste repelente) e o padrão (planta-teste atraente), IA < 1 corresponde a menor atração (maior repelência) pelo genótipo e IA > 1 indica maior atração pelo genótipo avaliado em relação ao padrão.

Tabela 5 - Número médio ($\pm$ EP) de ovos, índice de preferência para oviposição (IPO) e classificação para *Bemisia tabaci*, de seis genótipos de tomateiro, 24 horas após a liberação, no bioensaio com chance de escolha.

Genótipos	Nº de ovos	Índice de preferência para oviposição	
		IPO	Classificação
<i>S. lycopersicum</i> cv. Redenção	47,1 $\pm$ 3,7a	0,00	Padrão
RVTZ 2011-79-117-273 (Baixo teor)	35,3 $\pm$ 3,5b	-14,30	Deterrente
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	1,45 $\pm$ 0,5c	-94,20	Deterrente
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	1,8 $\pm$ 0,4c	-92,60	Deterrente
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	1,75 $\pm$ 0,35c	-93,00	Deterrente
<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>	2,5 $\pm$ 0,4c	- 89,00	Deterrente
CV%	29,37	-	-
F	177,8**	-	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Dados referentes ao número de ovos foram transformados por $(x + 0.5)^{1/2}$.

IPO = $[(T-P)/(T+P)] \times 100$. IPO varia de +100 (muito estimulante) até -100 (total deterência), sendo o valor 0 indicativo de neutralidade.

Comportamento de seleção hospedeira de *Tuta absoluta*.

Fêmeas de *T. absoluta* foram significativamente abundantes em genótipos com baixo teor de zingibereno, embora o genótipo RVTZ 2011-79-335-164 (Alto teor) também tenha abrigado uma quantidade de insetos que não diferiu de *S. lycopersicum* var Redenção e a RVTZ 2011-79-117-273 (Baixo teor) (Tabela 6).

Entretanto, mesmo que as fêmeas tenham permanecido sobre genótipos de baixo e alto teor de zingibereno, o número de ovos depositados foi significativamente superior na cultivar padrão de suscetibilidade, em relação a todos os demais genótipos (Tabela 6). Os índices calculados demonstraram que genótipos de baixo teor e suscetíveis tem atratividade alta em relação aos de alto teor (Tabela 7) e que apenas a cultivar *S. lycopersicum* cv. Redenção não apresenta deterência a *T. absoluta* (Tabela 8)

Tabela 6 - Número médio ($\pm$ EP) de adultos e ovos de *Tuta absoluta* na face adaxial e abaxial de folíolos de seis genótipos de tomateiro, 72 horas após a liberação no bioensaio com chance de escolha.

Genótipos	Nº médio de adultos	Nº médio de ovos
<i>S. lycopersicum</i> cv. Redenção	1,4 $\pm$ 0,15a	47,0 $\pm$ 1,4a
RVTZ 2011-79-117-273(Baixo teor)	1,4 $\pm$ 0,15a	37,0 $\pm$ 1,3b
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	0,5 $\pm$ 0,16b	4,7 $\pm$ 0,1c
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	1,0 $\pm$ 0,2ab	8,2 $\pm$ 0,3c
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	0,6 $\pm$ 0,15b	9,1 $\pm$ 0,2c
<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>	0,5 $\pm$ 0,16b	3,6 $\pm$ 0,09c
CV%	21.1	15.9
F	6.1 **	111.6**

Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os dados foram transformados por $(x + 0.5)^{1/2}$.

Tabela 7 - Número médio ($\pm$ EP) de adultos e índice de atratividade (IA) para *Tuta absoluta* na face adaxial e abaxial de folíolos de seis genótipos de tomateiro, 72 horas após a liberação no bioensaio com chance de escolha.

Genótipos	Nº de adultos	Índice de atratividade	
		IA	Atratividade
<i>S. lycopersicum</i> cv. Redenção	1,4 $\pm$ 0,15a	1	Alta
RVTZ 2011-79-117-273 (=Baixo 1)	1,4 $\pm$ 0,15a	1	Alta
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	0,5 $\pm$ 0,16b	0,5	Baixa
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	1,0 $\pm$ 0,2ab	0,8	Baixa
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	0,6 $\pm$ 0,15b	0,6	Baixa
<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>	0,5 $\pm$ 0,16b	0,5	Baixa
CV%	21,1	-	-
F	6,1 **	-	-

Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Dados foram transformados em $(x + 0.5)^{1/2}$.

IA = $2T/(T+P)$. IA varia entre 0 e 2. Sendo IA = 1 indica atração semelhante entre o genótipo avaliado (planta-teste repelente) e o padrão (planta-teste atraente), IA < 1 corresponde a menor atração (maior repelência) pelo genótipo e IA > 1 indica maior atração pelo genótipo avaliado em relação ao padrão.

Tabela 8 - Número médio ($\pm$ EP) de ovos, índice de preferência para oviposição (IPO) e classificação para *Tuta absoluta* na face adaxial e abaxial de folíolos de seis genótipos de tomateiro, 72 horas após a liberação no bioensaio com chance de escolha.

Genótipos	Nº de ovos	Índice de preferência para oviposição	
		IPO	Classificação
<i>S. lycopersicum</i> cv. Redenção	47 $\pm$ 1.4a	0	Padrão
RVTZ 2011-79-117-273 (=Baixo 1)	37 $\pm$ 1.3b	-11,9	Deterrente
RVTZ 2011-79-503-143(Alto teor)	4.7 $\pm$ 0.1c	-81,8	Deterrente
RVTZ 2011-79-335-164(Alto teor)	8.2 $\pm$ 0.3c	-70,2	Deterrente
RVTZ 2011-79-185-250(Alto teor)	9.1 $\pm$ 0.2c	-67	Deterrente
<i>S. habrochaites</i> var. <i>hirsutum</i>	3.6 $\pm$ 0.09c	-85.7	Deterrente
CV%	15.9	-	-
F	111.6**	-	-

Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados foram transformados por $(x + 0.5)^{1/2}$.

IPO = $[(T-P)/(T+P)] \times 100$. IPO varia de +100 (muito estimulante) até -100 (total deterrência), sendo o valor 0 indicativo de neutralidade.

Comportamento de seleção hospedeira de *Diabrotica speciosa*.

A seleção hospedeira para alimentação de *D. speciosa* foi influenciada pelos genótipos aos quais os adultos foram submetidos. De maneira geral, após 24h e 48 horas, os adultos consumiram pouca ou nenhuma quantidade de folíolos com altos teores de zingibereno (Figura 5). Nas primeiras 24 horas de exposição às plantas, os insetos alimentaram-se

preferencialmente de folíolos de *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’ e no genótipo com baixo teor de zingibereno (RVTZ 2011-79-117-273), e em menor escala os genótipos de alto teor (Figura 5). Entretanto, o comportamento de *D. speciosa* diferenciou-se após 48 horas de exposição, quando a porcentagem de consumo não diferiu entre a cultivar padrão de suscetibilidade e o genótipo de baixo teor (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

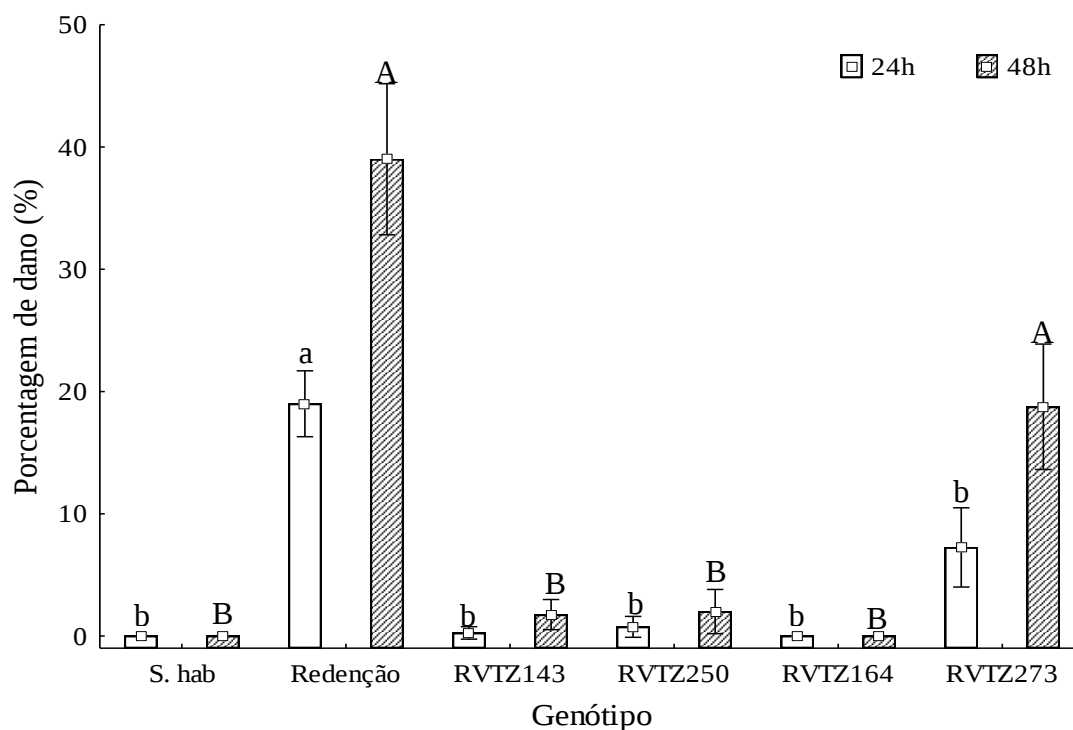


Figura 5 - Porcentagem de dano ocasionado por adultos de *Diabrotica speciosa* após 24 e 48 horas de exposição aos genótipos de tomateiro com teores contrastantes de zingibereno. Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Após 48 horas de exposição aos diferentes genótipos de tomateiro, *D. speciosa* permaneceu nos genótipos *S. lycopersicum* cv. ‘Redenção’ e RVTZ 2011-79-117-273 baixo teor de zingibereno (Figura 5), podendo confirmar o efeito negativo promovido pelo aleloquímico na seleção hospedeira, mesmo na escassez de alimento.

3.4 Discussão

Todos os genótipos de tomateiro que produzem zingibereno apresentaram efeitos sobre o comportamento dos artrópodes, com destaque para aqueles genótipos com altos teores do aleloquímico, RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164, RVTZ 2011-79-185-250. Estas plantas, em alguns casos, apresentam graus similares de resistência ao padrão de resistência, *S. habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826. Tais evidências demonstram que plantas F₂RC₂ selecionadas para alto teor desse aleloquímico apresentam características e graus desejáveis de resistência aos insetos e que a seleção para essa característica foi bem-sucedida em termos de resposta biológica dos organismos alvo.

Desse modo, corrobora-se as informações de Souza et al. (2013), que apontaram a preferência de artrópodes praga a genótipos com baixos teores de zingibereno quando houve chance de escolha. Além disso, Gonçalves et al. (2006), em experimento avaliando a repelência ao ácaro vermelho *T. evansi* e Lima et al. (2015), avaliando ácaro rajado *T. urticae* demonstraram a eficiência de genótipos com alto teor de zingibereno, quando comparado com genótipos de baixo teor desse aleloquímico. Os autores afirmam o grande potencial para utilização destes materiais em programas de melhoramento que visem a obtenção de plantas resistentes a artrópodes-praga.

Nos bioensaios com ácaro rajado, mosca-branca e *D. speciosa*, os resultados dos ensaios de preferência seguiram padrões similares, em que os genótipos de alto teor foram rejeitados pelos adultos. Para a traça-do-tomateiro, apesar dos adultos terem permanecido sobre folíolos de genótipos com altos teores de zingibereno, a rejeição a estes foi verificada pelo reduzido número de ovos depositados neles, quando comparados ao padrão de suscetibilidade.

Maior resistência a oviposição de *T. absoluta*, foi observada por Lima et al. (2015), testando a resistência na geração F₂ do cruzamento interespecífico *S. lycopersicum* var 'Redenção' x *Solanum habrochaites* var. *hirsutum* (acesso PI-127826), nesta geração materiais selecionados para alto teor de zingibereno bem como *S. habrochaites* var. *hirsutum* e F₁ apresentaram menor número de ovos até 50 dias após a infestação.

Já os resultados obtidos nas comparações entre o genótipo de baixo teor de zingibereno e a cultivar padrão de suscetibilidade demonstram semelhança entre eles. Em alguns casos, mostram baixo grau de resistência desse genótipo, como no caso de número médio de ovos depositados por *T. urticae*, *B. tabaci*, *T. absoluta*, além da preferência de *D. speciosa*. Dessa forma, nota-se que embora um baixo teor do aleloquímico esteja presente no genótipo, este

demonstrou alta suscetibilidade aos insetos avaliados e consistiu de uma planta adequada para testar o contraste em relação aos genótipos de alto teor de zingibereno.

Para os artrópodes estudados aqui, o efeito do aleloquímico zingibereno sobre o comportamento de seleção hospedeira em tomateiro é amplamente relatado para os generalistas, *T. urticae* e *B. tabaci* e para insetos especialistas, como *T. absoluta*. Tais insetos, com hábitos sugadores e minadores respectivamente são afetados por tricomas dos tipos IV (MALUF et al., 2001; FREITAS et al., 2002) e VI (CARTER et al.1989; GIANFAGNA et al., 1992). Plantas contendo esses tricomas produzem o zingibereno, que pode resultar em efeitos deletérios na seleção hospedeira, por antixenose, ou na biologia dos insetos, mediante redução da sobrevivência, oviposição entre outros (SUINAGA et al., 2004; SILVA et al., 2009; LIMA et al., 2015; LIMA et al., 2016).

Por outro lado, embora o efeito deste composto químico sobre Chrysomelidae tenha sido relatado em *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) Kennedy e Sorenson., (1985), este é o primeiro relato sobre o efeito de genótipos com zingibereno sobre uma espécie de *Diabrotica*, um dos Chrysomelidae mais importantes para diversas culturas no Brasil. Para o crisomelídeo *L. decimlineata*, Carter et al., (1989a) realizaram bioensaios avaliando o efeito de zingibereno sobre larvas e comprovaram o efeito tóxico deste composto na dose de 7µg/larva, quantidade semelhante àquela encontrada em 20mm² de folíolos contendo tricomas VI. Além dessas evidências, Kennedy e Sorenson., (1985) descreveram efeitos semelhantes de *S. lycopersicum* var *glabratum* portador do aleloquímico (2-tridecanona) sobre esse inseto, demonstrando que o tipo de resistência é antibiose, pois ocasiona mortalidade das larvas de *L. decimlineata*. Para *D. speciosa*, evidenciou-se aqui uma ampla capacidade de dano na cultivar comercial de tomateiro, *S. lycopersicum* cv. Redenção, bem como a não preferência por genótipos portadores de altos teores de zingibereno, o que indica o efeito do zingibereno sobre o comportamento de seleção hospedeira dessa espécie. Assim, tais evidências podem direcionar novos estudos a fim de confirmar os efeitos dos tricomas e do zingibereno sobre o comportamento e a biologia de *D. speciosa*.

Além da caracterização da ocorrência e dos graus de resistência dos genótipos selecionados em relação aos artrópodes avaliados, o presente trabalho nos mostra que, a herança da produção do zingibereno está sendo transferida pelos retrocruzamentos, trazendo as características genéticas de resistência aos artrópodes analisados nos genótipos selecionados para alto teor do aleloquímico.

Lima et al. (2015) selecionou genótipos de tomate com níveis elevados de zingibereno com resistentes à *T. absoluta* e estimou os parâmetros genéticos da herança de zingibereno dos genótipos oriundos do cruzamento interespecífico de *S. lycopersicum* cv 'Redenção' x *S. habrochaites* var. *hirsutum* acesso (PI-127826). As plantas F₂ selecionadas, por Lima et al., (2015) fazem parte da primeira geração, a qual foi base para F₂RC₁ e a F₂RC₂ que são apresentadas nesta pesquisa. Esse autores, concluem que o conteúdo de zingibereno apresenta alta herdabilidade, com dominância incompleta no sentido de menor teor de zingibereno. Além disso, relatam que o nível de zingibereno em folíolos dos genótipos F₂ foi estimado para ser controlado por dois genes.

A combinação dos efeitos e graus de resistência que os genótipos F₂RC₂ apresentam, mostra que o avanço da geração está sendo acompanhado pela resistência as pragas que avaliamos, e também que *S. habrochaites* var. *hirsutum* PI-127826 usado em programas de retrocruzamento do tomateiro, aumentam a capacidade de os genótipos afetarem negativamente a seleção hospedeira para *T. urticae*, *B. tabaci*, *T. absoluta* e *D. speciosa*. Blanca (2011), descreve que a espécie silvestre de tomate *S. habrochaites* var. *hirsutum* é fonte de novos genes e contribui positivamente para o melhoramento genético do tomateiro, devido a sua alta resistência a pragas.

Os resultados obtidos com os bioensaios apresentados aqui, sugerem que os genótipos selecionados para o alto teor de zingibereno (RVTZ 2011-79-503-143, RVTZ 2011-79-335-164, RVTZ 2011-79-185-250), são fontes potenciais de genes resistentes contra, *T. urticae*, *T. absoluta*, *B. tabaci* e *D. speciosa*, para programas de melhoramento do tomateiro.

3.5 Referências

- BAIER, JE; RESENDE, JTV; FARIA, MV; SCHWARZ, K.; MEERT, L. Indirect selection of industrial tomato genotypes that are resistant to spider mites (*Tetranychus urticae*). **Genetics and Molecular Research**, v.14, n.1, p. 244-252, 2015.
- BALDIN, E.L.L.; TOSCANO, L.C.; LIMA, A.C.S.; LARA, F.M.; BOIÇA JR, A.L. Preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* Biótipo “B” por genótipos de Cucurbita moschata e Cucurbita maxima. **Boletín de sanidad vegetal Plagas**, v 26, p 409-413, 2000.
- BLANCA, J M. Pattern of genetic variability of *Solanum habrochaites* in its natural area of distribution. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58. p 347–360, 2011.
- CARTER, C.D.; GIANFAGNA, T.J.; SACALIS, J.N. Sesquiterpenes in glandular trichomes of a wild tomato species and toxicity to the Colorado Potato beetle. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.37, n.5, p. 1425-1428, 1989a.
- CARTER, C.D.; SACALIS, J.N.; GIANFAGNA, T.J. Zingiberene and Resistance to Colorado Potato Beetle in *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.37, n.1, p. 206-210, 1989b.
- CARTER, C.D.; SNYDER, J.C. Mite responses in relation to trichomes of *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon hirsutum* F2 hybrids. **Euphytica**, v. 34, p. 177-185. 1985.
- DIAS, D.M.; RESENDE, J.T.V.; FARIA, M.V.; CAMARGO, L.K.P.; LIMA, I.P. Selection of processing tomato genotypes with high acyl sugar content that are resistant to the tomato pinworm. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, p.381-389, 2013.
- DIAS, D.M.; RESENDE, J.T.V.; MARODIN, J.C.; MATOS, R.; LUSTOSA, I.F.; RESENDE, N.C.V. Acyl sugars and whitefly (*Bemisia tabaci*) resistance in segregating populations of tomato genotypes. **Genetics and Molecular Research**, v.15, p.1-11, 2016.
- BALDIN, E.L.L.; VENDRAMIM, J. E. D.; LOURENÇÃO, A. L. Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 435-441, 2005.
- FANCELLI, M; VENDRAMIM, J; FRIGHETTO, R.T.S; LOURENÇÃO, AL. Exsudato Glandular de Genótipos de Tomateiro e Desenvolvimento de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Sternorrhyncha: Aleyrodidae) Biótipo B. **Neotropical Entomology**, v.34, n.4, p. 59-665, 2005.
- FREITAS, J.A.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; GOMES, L.A.A.; BEARZOTTI, E. Inheritance of foliar zingiberene contents and their relationship to trichome densities and whitefly resistance in tomatoes. **Euphytica**, v.127, p. 275-287, 2002.
- FREITAS, J.A.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; OLIVEIRA, A.C.B. Seleção de plantas de tomateiro visando à resistência à artrópodes-praga mediada por zingibereno. **Acta Scientiarum**, v. 22, p. 919-923, 2000.

GIANFAGNA, T.J.; CARTER, C.D.; SACALIS, J.N. Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of *Lycopersicum hirsutum* f. *hirsutum*. **Plant Physiology**, v.100, p.1403-1405, 1992

GONÇALVES, L.D; MALUF, W.R; CARDOSO, M. das G; RESENDE, J.T.V; CASTRO, E.M; SANTOS, N.M; NASCIMENTO, I.R; FARIA, M.V. Relação entre zingibereno, tricomas foliares e repelência de tomateiros a *Tetranychus evansi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 267-273, 2006.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R. de C.R.; CIOCIOLA, A.I.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; MALUF, W.R. Aspectos biológicos de *Tuta absoluta* (MEYRICK, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em dois genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-tridecanona nos folíolos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, p. 247-251, 1999.

GURR, G.M; MCGRATH, D. Effect of plant variety, plant age and photoperiod on glandular pubescence and host-plant resistance to potato moth (*Phthorimaea operculella*) in *Lycopersicon* spp. **Annals of Applied Biology**, v. 138, p. 221-230, 2001.

KENNEDY, G. G; SORENSON, C. F. Role of Glandular Trichomes in the Resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) **Journal of Economic Entomology**, v. 78, n. 3, p. 547-551, 1985.

LEITE, G.L.D., PICANCO, M., AZEVEDO, A.A.; MOURA, M.F. Effect of age of plants on the resistance for antixenose of *Lycopersicon hirsutum* to *Tuta absoluta*. **Agro-Ciencia**, v.14, p. 49-53, 1998.

LIMA, I. P.; RESENDE, J.T.V.; OLIVEIRA, J.R.F.; FARIA, M.V.; RESENDE, N.C.V.; LIMA FILHO, R.B. Indirect selection of industrial tomato genotypes rich in zingiberene and resistant to *Tuta absoluta* Meyrick. **Genetics and Molecular Research**, v.14, p. 15081-15089, 2015.

LIMA, IP; RESENDE, JTV; OLIVEIRA, JRF; FARIA, MV; DIAS, DM; RESENDE, NCV. Selection of tomato genotypes for processing with high zingiberene content, resistant to pests. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 387-391, 2016.

LIN, H; KOGAN, M; FISCHER, D. Induced resistance in soybean to the mexican bean beetle (Coleoptera; Coccinellidae): Comparisons of inducing factors. **Environ. Entomol**, v. 19: p. 1852-1857, 1990.

LUCINI, T.; FARIA, M.V.; ROHDE, C.; RESENDE, J.T.V; OLIVEIRA, J.R.F. Acylsugar and the role of trichomes in tomato genotypes resistance to *Tetranychus urticae*. **Arthropod-Plant Interactions**, v.9, p. 45-53, 2015.

MACIEL, GM; MALUF, WR; SILVA, VF; GONÇALVES, NETO AC. Híbridos pré-comerciais resistentes a *Tuta absoluta* obtidos de linhagem de tomateiro rica em aciaçúcares. **Hort. Bras**, v. 29, p. 151-156, 2011.

MALUF, W. R.; SILVA, V. F.; CARDOSO, M. G.; GOMES, L. A. A.; GONÇALVES NETO, A. C.; MACIEL, G. M.; NÍZIO, D. A. C. Resistance to the South American tomato pinworm *Tuta absoluta* in high acylsugar and/or high zingiberene tomato genotypes. **Euphytica**, v. 176, p. 113-123, 2010.

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

NEIVA, I.P.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.; MALUF, W.R.; OLIVEIRA, C.M.; MACIEL, G.M. Role of allelochemicals and trichome density in the Resistance of tomato to whitefly. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 37, p. 61-67, 2013.

OLIVEIRA, C. M.; ANDRADE JUNIOR, V. C.; MALUF, W. R.; NEIVA, I. P.; MACIEL, G.M. Resistance of tomato strains to the moth *tuta absoluta* imparted by allelochemicals and trichome density. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, p. 45-52, 2012.

PARRA, J.R.P. A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório a aplicação em campo. In: GUEDES, J.C. et al. Bases técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 248p. p.1-29, 2000

RESENDE, J. T. V.; MALUF, W.R.; FARIA, M.V.; PFANN, A.Z.; NASCIMENTO, I.R do. Acylsugars In Tomato Leaflets Confer Resistance to the South American Tomato Pinworm, *Tuta Absoluta* Meyr. **Scientia Agricola**, v.63, n.1, p.20-25, 2006.

SILVA, A. A; MALUF, W. R; MORAES, J.C; ALVARENGA. R; COSTA. E. M. R. Resistência a *Myzus persicae* em genótipos de tomateiro com altos teores foliares de aleloquímicos. **Bragantia**, v. 72, n. 2, p.173-179, 2013.

SILVA, V.F.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; GONÇALVES NETO, A.C.; MACIEL, G.M.; NÍZIO, D.A.C.; SILVA, V.A. Resistência mediada por aleloquímicos de genótipos de tomateiro à mosca-branca e ao ácaro-rajado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p. 1262-1269, 2009.

SIMMONS, A.T., GURR, G.M., MCGRATH, D., NICOL, H.I. & MARTIN, P.M. Trichomes of *Lycopersicon* spp. and their effect on *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Australian Journal of Entomology**, v.42, n. 373–378, 2003.

SNYDER J. C., THACKER R. R., ZHANG X. Genetic Transfer of a Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae) Repellent in Tomato Hybrids. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 5, p. 1710-1716, 1998.

SOUZA BHS, BOTTEGA DB, SILVA AG AND BOIÇA JÚNIOR AL. Feeding non-preference by *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera eridania* on tomato genotypes. **Ceres** v. 60, p. 21-29, 2013.

SUINAGA, F.A., PICANÇO, M.C., MOREIRA, M.D., SEMEÃO, A.A., MAGALHÃES, S.T.V. Resistência por antibiose de *Lycopersicum peruvianum* a traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n.2, p. 281-285, 2004.

WESTON, P. A.; SNYDER, J. C. Thumbtack bioassay a quick method of measuring plant resistance to twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 83, p. 501-504, 1990.

ZANIN, S, D. Seleção de genótipos F₂RC₁ de tomateiro industrial com elevados teores de zingibereno resistentes a artrópodes-praga. Guarapuava: Unicentro, 2015.