Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Caracterização agronômica e molecular de linhagens de tomateiro resistentes a
tospovírus

Bruna Fernanda Longatti

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2017

Bruna Fernanda Longatti
Engenheira Agrônoma

**Caracterização agronômica e molecular de linhagens de tomateiro resistentes a
tospovírus**
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **PAULO CÉSAR TAVARES DE MELO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Longatti, Bruna Fernanda

Caracterização agronômica e molecular de linhagens de tomateiro resistentes a tospovírus / Bruna Fernanada Longatti. -- versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. -- Piracicaba, 2017.

58 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Melhoramento genético 2. Tomate 3. Vira-cabeça do tomateiro 4. Gene Sw-5 I. Título

DEDICATÓRIA

À Deus, por continuar me guiando pelos melhores caminhos, mesmo não sendo esses os mais fáceis. Por me manter serena nas tempestades e por me presentear com pessoas tão especiais.

Aos meus pais por minha privilegiada educação, pelo incentivo para eu me atrever, pela persistência para eu não desistir, pelo apoio para eu continuar e pela confiança depositada em mim todos esses anos.

Ao meu querido orientador Paulo César Tavares de Melo, por sua brilhante orientação, por compartilhar sua incrível experiência e por sua dedicação e atenção.

Ao meu grande amigo e professor Fernando Angelo Piotto por sua incrível ajuda e confiança, por todos os ensinamentos, e principalmente por sua paciência e perseverança.

Dedico e ofereço com muita gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pela oportunidade de realizar o curso de mestrado contribuindo para minha formação acadêmica e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida para a realização do mestrado.

À Empresa Hortivale – Sementes do Vale pelo apoio financeiro concedido para o início do experimento.

À minha família, Mauro Fernando Longatti, Lúcia Helena Denardi Longatti e Rafaela Fernanda Longatti, por ser meu porto seguro e me ensinar o significado das palavras amor e união.

Ao meu orientador, Professor Paulo César Tavares de Melo, por compartilhar experiências, conhecimento e seu fascínio por essa importante hortaliça, o tomate. Por sua brilhante orientação, confiança e dedicação.

Ao meu Professor Fernando Angelo Piotto por sua enorme colaboração, além de me acolher de braços abertos junto ao Departamento de Genética (ESALQ/USP). Por me guiar, ensinar, persistir e perseverar. Pelas oportunidades e confiança.

Aos professores Ana D.L. Coelho Novembre, Angelo Pedro Jacomino, Paulo Cesar Tavares de Melo, Silvio Moure Cícero, Simone da Costa Mello, Francisco Guilhien Gomes Junior, pelos ensinamentos e experiências que me foram compartilhados.

Aos colegas de curso, em especial, Carina, Danielle, Cesia, Fábio, Ana Cláudia e Plínio que acabaram tornando-se grandes e inestimáveis amigos que levarei para a vida toda.

A minha querida amiga Ana Paula que me ajudou na implantação do experimento.

Aos colegas e funcionários do Departamento de Genética.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

EPÍGRAFE

*“[...] vamos!
y sobre la mesa,
en la cintura del verano,
el tomate, astro de tierra,
estrela repetida y fecunda [...]”.*

Pablo Neruda

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS.....	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.1. EXPERIMENTO DE CAMPO	21
2.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.1. CARACTERES RELACIONADOS À PARTE AÉREA DO TOMATEIRO	31
3.2. CARACTERES RELACIONADOS AO FRUTO	35
3.3. CARACTERES RELACIONADOS À PRODUÇÃO.....	40
3.4. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR	44
4. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	49

RESUMO

Caracterização agronômica e molecular de linhagens de tomateiro resistentes a tospovírus

A utilização de cultivares resistentes às viroses de plantas tornou-se estratégia relevante para o cultivo de tomateiro. Para isso fontes de resistência são incluídas em programas de melhoramento genético visando à obtenção de linhagens e/ou novas cultivares resistentes a esses patógenos. As tospoviroses são responsáveis por grandes perdas econômicas em cultivos do tomateiro em todo o mundo, visto que, elevadas taxas de infecção tem acarretado em perdas econômicas consideráveis para inúmeros países. O objetivo do trabalho visou a caracterização de linhagens de tomateiro de hábito de crescimento determinado resistentes a tospovírus, utilizando caracteres agronômicos e marcadores associados a genes de resistência à doença. Foram utilizados 16 genótipos de tomateiro de hábito de crescimento determinado, sendo doze linhagens experimentais e quatro testemunhas comerciais. Usou-se delineamento em blocos casualizados, com 16 tratamentos e 3 repetições. Avaliaram-se uniformidade de planta (UP), vigor da planta (VP), altura de planta (AP), pegamento de fruto (PGF), cobertura foliar (CF), massa média do fruto (MMF), comprimento (C), diâmetro equatorial (D), razão entre comprimento e diâmetro (R C/D), tamanho da cicatriz peduncular (CP), forma da base (FB), firmeza do fruto (FF), espessura do pericarpo (EP), número de lóculos (NL), produção total (PT), número de frutos descartados (NFD), produção descartada (PD) e produção comercial (PC). Para a análise molecular, utilizou-se o par de *primers* *Sw-5-2* (F = 5' AATTAGGTTCTTGAAGCCCATCT 3'; R = 5' T'TCCGCATCAGCCAATAGTGT 3'). Nas condições em que o presente trabalho foi conduzido e, de acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que todas as linhagens estudadas confirmaram a presença do gene *Sw-5* em análise molecular, portanto, são resistentes a tospovírus, sendo recomendadas para serem utilizadas como genitoras.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*; Melhoramento genético; Tomate; Vira-cabeça do tomateiro; Gene *Sw-5*

ABSTRACT

Agronomic and molecular characterization of advanced breeding tomato lines resistant to tospovirus

Resistance of cultivars to viruses has become a relevant strategy for tomato cultivation. Sources of resistance are included in breeding programs to obtain lines and /or resistant hybrids. The tospoviroses are responsible for large economic losses in tomato crops worldwide. The objective of this work was the characterization of tomato lines resistant to Tospovirus, using agronomic traits and molecular markers. We used sixteen tomatoes genotypes, twelve of them were experimental lines and four were commercial controls. The experiment was carried out at the research field area with random blocks design with sixteen treatments and three replications. The following agronomical traits were assessed: plant uniformity (UP), plant vigour (VP), plant height (AP), fruit setting (PGF), leaf cover (CF), average fruit weight (PMF), fruit length (C), fruit width (D), relation between length and width fruit (R C/D), size of the peduncular scar (CP), pistil scar (FB), fruit firmness (FF), fruit pericarp thickness (EP), fruit loculus number (NL), total production (PT), not marketable fruit yield (PD) and marketable yield (PC). To the molecular analysis, we used the primers pair *Sn-5-2* (F = 5' AATTAGGTTCTTGAAGCCCATCT 3'; R = 5' TTCCGCATCAGCCAATAGTGT 3'). According to the results, for the conditions in which the present experiment was conducted, we concluded that all genotypes confirmed the presence of the *Sn-5* gene in molecular analysis, therefore, they are resistant to tospovirus, recommended to be used as parental lines.

Keywords: *Solanum lycopersicum*; Breeding program; Tomato; *Tomato spotted wilt virus*; Gene *Sn-5*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. CROQUI DA ÁREA EXPERIMENTAL. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	24
FIGURA 2. PESAGEM INDIVIDUAL DOS FRUTOS EM BALANÇA DIGITAL (ESQUERDA); MEDIÇÃO INDIVIDUAL DO COMPRIMENTO, DIÂMETRO E TAMANHO DA CICATRIZ PEDUNCULAR DOS FRUTOS POR MEIO PAQUÍMETRO DIGITAL. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	26
FIGURA 3. FORMATO DA CICATRIZ DO PISTILO DESCRITA POR PONTO (1), ESTRELA (2), RETO (3) E IRREGULAR (4) (IPGRI, 1996). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	27
FIGURA 4. PENETRÔMETRO DIGITAL COM PONTEIRA DE 8 MM UTILIZADO PARA MEDIR FIRMEZA DO FRUTO (ESQUERDA); VALOR EXPRESSO EM NEWTON (CENTRAL); FRUTOS APÓS MEDIÇÃO DA FIRMEZA (DIREITA). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	27
FIGURA 5. FRUTOS CORTADOS TRANSVERSALMENTE PARA MEDIÇÃO, POR MEIO DE PAQUÍMETRO DIGITAL, DA ESPESSURA DO PERICARPO E CONTAGEM DO NÚMERO DE LÓCULOS. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	28
FIGURA 6. PARCELA DO EXPERIMENTO DE GENÓTIPO PORTADOR DO GENE SW-5 (ESQUERDA) E PARCELA DE GENÓTIPO SUSCETÍVEL A TOSPOVIROSE (DIREITA) QUANDO DA AVALIAÇÃO DOS CARACTERES RELACIONADOS À PARTE AÉREA DO TOMATEIRO REALIZADA AOS 85 DIAS APÓS TRANSPLANTE DAS MUDAS NO CAMPO. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	34
FIGURA 7. GRÁFICO DE COMBINAÇÃO DOS RESULTADOS DOS CARACTERES NÚMERO DE FRUTOS COMERCIAIS (NFC) E MASSA MÉDIA DO FRUTO (MMF). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	37
FIGURA 8. FORMATO DOS FRUTOS CLASSIFICADOS EM PIRIFORME (ESQUERDA); REDONDO (CENTRO) E OBLONGO (DIREITA), REPRESENTADOS PELOS GENÓTIPOS TPN0202, TPN0210 E TPN0234, RESPECTIVAMENTE.	38
FIGURA 9. FRUTOS PLURILOCULARES DA CULTIVAR TSW-10 (ESQUERDA) E FRUTOS BILOCULARES DA CULTIVAR NEMADORO (DIREITA). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	40
FIGURA 10. GEL DE AGAROSE ILUSTRANDO OS PADRÕES DE AMPLICONS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE PCR UTILIZANDO O PAR DE PRIMERS 'SW-5-2'. M: MARCADOR 1 KB LADDER, 1- TPN0191; 2- TPN0252; 3- TPN0254; 4- TPN0193; 5- TPN0194; 6- TPN0196; 7- TPN0202; 8- TPN0208; 9- TPN0210; 10- TPN0214; 11- TPN0234; 12- TPN0240; 13- TSW10; 14- STEVENS; 15- NEMADORO E 16- IPA-6. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. VALORES MÉDIOS MENSIS DE TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA DO AR, PRECIPITAÇÃO MENSAL E VELOCIDADE DO VENTO. DADOS REGISTRADOS NO PERÍODO DO EXPERIMENTO, DE JUNHO A OUTUBRO DE 2016. PIRACICABA, ESALQ, 2016.....	21
TABELA 2. ANÁLISE QUÍMICA DE SOLO DA ÁREA EXPERIMENTAL DO DEPARTAMENTO DE GENÉTICA. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	22
TABELA 3. RELAÇÃO DAS LINHAGENS E CULTIVARES COMERCIAIS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	23
TABELA 4. RELAÇÃO DOS PRODUTOS DE CONTROLE APLICADOS DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	25
TABELA 5. QUADRADOS MÉDIOS (QM) E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV%) DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA UNIFORMIDADE DE PLANTA (UP), VIGOR DE PLANTA (VP), ALTURA DE PLANTA (AP), PEGAMENTO DE FRUTO (PGF) E COBERTURA FOLIAR (CF). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	31
TABELA 6. UNIFORMIDADE DE PLANTA (UP), VIGOR DE PLANTA (VP), ALTURA DE PLANTA (AP), PEGAMENTO DE FRUTO (PGF) E COBERTURA FOLIAR (CF). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	31
TABELA 7. QUADRADOS MÉDIOS (QM) E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV%) DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA MASSA MÉDIA DO FRUTO (MMF), COMPRIMENTO (C) E DIÂMETRO (D) DE FRUTO, RAZÃO COMPRIMENTO E DIÂMETRO DE FRUTO (R C/D), TAMANHO DA CICATRIZ PEDUNCULAR (CP), FORMA DA BASE DO FRUTO (FB), ESPESSURA DO PERICARPO (EP), FIRMEZA DO FRUTO (FF) E NÚMERO DE LÓCULOS DO FRUTO (NL). PIRACICABA, ESALQ, 2016.....	35
TABELA 8. MASSA MÉDIA DO FRUTO (MMF) EXPRESSO EM GRAMAS, COMPRIMENTO (C) E DIÂMETRO (D) DE FRUTO EXPRESSOS EM CENTÍMETROS, RAZÃO COMPRIMENTO E DIÂMETRO DE FRUTO (R C/D), TAMANHO DA CICATRIZ PEDUNCULAR (CP) EXPRESSO EM MILÍMETROS, FORMA DA BASE DO FRUTO (FB), ESPESSURA DO PERICARPO (EP) EXPRESSA EM MILÍMETROS, FIRMEZA DO FRUTO (FF) EXPRESSA EM NEWTON E NÚMERO DE LÓCULOS DO FRUTO (NL). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	36
TABELA 9. QUADRADOS MÉDIOS (QM) E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV%) DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PRODUÇÃO TOTAL (PT), NÚMERO TOTAL DE FRUTOS (NTF), PRODUÇÃO DESCARTADA (PD), NÚMERO DE FRUTOS DESCARTADOS (NFD), PRODUÇÃO COMERCIAL (PC), NÚMERO DE FRUTOS COMERCIAIS (NFC). PIRACICABA, ESALQ, 2016.....	40
TABELA 10. PRODUÇÃO TOTAL (PT), NÚMERO TOTAL DE FRUTOS (NTF), PRODUÇÃO DESCARTADA (PD), NÚMERO DE FRUTOS DESCARTADOS (NFD), PRODUÇÃO COMERCIAL (PC), NÚMERO DE FRUTOS COMERCIAIS (NFC). VALORES DE MASSA EXPRESSOS EM QUILOGRAMAS. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	41
TABELA 11. QUADRADOS MÉDIOS (QM) E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV%) DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PRODUÇÃO TOTAL (PT HA ⁻¹), PRODUÇÃO COMERCIAL (PC HA ⁻¹), PRODUÇÃO DESCARTADA (PD HA ⁻¹). PIRACICABA, ESALQ, 2016.	41
TABELA 12. PRODUÇÃO TOTAL (PT HA ⁻¹), PRODUÇÃO COMERCIAL (PC HA ⁻¹), PRODUÇÃO DESCARTADA (PD HA ⁻¹). VALORES EXPRESSOS EM TONELADAS POR HECTARE. PIRACICABA, ESALQ, 2016.	42

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma solanácea originária da região andina (Rick, 1982), abrangendo parte do Chile, Bolívia, Equador, Colômbia e Peru. Diferentemente da maioria das espécies de plantas cultivadas supõem-se que a domesticação dessa hortaliça não ocorreu na sua região de origem, e sim no México. Especula-se que espécies primitivas da cultura tenham sido levadas de sua região de origem para esse país (Larry & Joanne, 2007).

A cultura caracteriza-se como espécie pertencente à ordem Tubiflorae, família *Solanaceae* e é uma das treze espécies do gênero *Solanum*. Embora ainda existam autores que utilizam *Lycopersicon esculentum* Mill. como o nome científico do tomateiro cultivado (Santos et al., 2011), a partir de evidências obtidas de estudos filogenéticos com o uso de sequência de DNA e estudos de morfologia e de distribuição das plantas, há, atualmente, ampla aceitação entre taxonomistas, melhoristas e geneticistas da nomenclatura *Solanum lycopersicum* L. (Spooner et al., 2005).

O tomate destaca-se, mundialmente, como a hortaliça mais produzida, sendo superado em área cultivada, apenas pela batata. A China é o principal produtor, com 50.664.255 t, seguido da Índia com 18.227.000 t e dos Estados Unidos com 12.574.550 t (FAOSTAT, 2016).

No Brasil, a tomaticultura apresentou crescimento acentuado a partir da década de 1970, principalmente no estado de São Paulo (Minami & Haag, 1989). Em 2015, o Brasil ocupou o oitavo lugar na lista de maiores produtores mundiais de tomate, com produção total de 3.686.816 t, em uma área colhida de 56.880 ha (IBGE, 2016), e rendimento médio de 64,8 t/ha, considerando os sistemas de cultivo da cultura para consumo fresco (mesa) e o de processamento industrial. Os Estados com maior participação na safra nacional foram Goiás, São Paulo e Minas Gerais com 23,8, 19,4 e 15,4%, respectivamente (IBGE, 2016).

As diferentes características de arquitetura da planta do tomateiro condicionam o tipo e cultivo da cultura, ou seja, se para indústria ou para consumo fresco. O hábito indeterminado que representa a maioria das cultivares apropriadas para a produção de frutos *in natura*, que são tutoradas e podadas, com o caule atingindo mais de 2,5 metros de altura; e o hábito determinado, característico das cultivares adaptadas especialmente para a cultura rasteira, com finalidade agroindustrial com suas hastes atingindo cerca de um metro.

O desenvolvimento ótimo do tomateiro ocorre em épocas ou em locais de temperaturas amenas, com pouca precipitação e baixa umidade relativa do ar. No entanto, a planta suporta uma amplitude térmica de 10 °C a 34 °C, sendo que a média ideal para cultivo encontra-se em torno de 21 °C (Boiteux et al., 2012). A prolongada exposição a temperaturas inferiores a 10 °C e uma iluminação diurna inferior a 12 horas afetam negativamente a planta (Alvarenga, 2013). Da

mesma forma, temperaturas superiores a 35 °C afetam a frutificação, e, por conseguinte, reduzem a produção (Melo, 2007).

A cultura, de ciclo relativamente curto e de altos rendimentos, apresenta boas perspectivas econômicas e tem mostrado aumento de área cultivada a cada safra (Naika et al., 2009).

A composição nutricional dos frutos de tomate varia de acordo com a cultivar escolhida, nutrição adotada, sistema de cultivo e com as condições ambientais nas quais a cultivar foi implantada. O fruto de tomate fresco apresenta baixo poder calórico, baixo teor de matéria seca, além de ser muito rico em sais minerais e vitamina C (Alvarenga, 2013).

No Brasil, as cultivares de tomateiro são incluídas em cinco grupos varietais distintos, sendo eles, o grupo Santa Cruz, caracterizado por frutos oblongos, de diâmetro transversal menor que o diâmetro longitudinal, resistentes ao transporte; grupo Caqui, caracterizando-se por apresentar frutos graúdos, pluriloculares, de coloração vermelha ou rosada; grupo Salada, nesse grupo enquadram-se frutos pluriloculares, formato globular achatado, com diâmetro transversal maior que o diâmetro longitudinal, sendo menores que os do grupo Caqui; grupo Saladete, também conhecido como Italiano, caracteriza-se por frutos alongados, com diâmetro transversal de 3 a 5 cm, coloração vermelha intensa, biloculares e sabor adocicado; e grupo Minitomate, que devido à variedade de cores e formatos dos tomates de tamanho reduzido, estão incluídos nesse grupo os tomates cereja, *grape*, coquetel, mini-italiano e *tomatoberry*. Em geral, esse grupo apresenta frutos mais adocicados e são considerados como produto *gourmet* (Alvarenga et al., 2013).

Merece registro o fato de que o tomate é a olerácea de maior complexidade de produção no Brasil em vista do amplo espectro de patógenos que tem a espécie como hospedeiro, além dos inúmeros distúrbios fisiológicos que afetam as diversas fases de desenvolvimento da planta (Pereira-Carvalho et al., 2014). Desse modo, torna-se relevante o desenvolvimento de novas cultivares que atendam aos requerimentos dos setores produtivo e de consumo, tornando a tomaticultura mais dinâmica e competitiva (Onoyama et al., 2010).

Nas últimas décadas, a cultura do tomateiro experimentou diversas transformações com destaque para a conversão do uso de cultivares de polinização aberta por híbridos com ampla gama de resistência a doenças, a introdução de novas tecnologias de cultivo e o surgimento de nova estrutura de comercialização. Tais mudanças contribuíram, sobremaneira, para a modernização da cadeia produtiva do tomate englobando os segmentos de mesa e industrial (Melo, 2014).

O tomateiro é cultivado principalmente em grandes áreas, sendo, por conta disso, afetado por inúmeras doenças que reduzem sua produtividade, entre elas, destacam-se àquelas que têm vírus como agente causal.

A literatura registra pelo menos 37 diferentes espécies de vírus de importância econômica na cultura do tomateiro. Desses, os que pertencem ao gênero *Tospovirus*, que têm como vetores tripses dos gêneros *Frankliniella*, *Thrips* e *Scirtothrips*, aumentaram consideravelmente de importância nos últimos anos. Com efeito, a alta incidência de tospovírus nas lavouras tem causado decréscimos significativos na produção. É importante mencionar que a incidência de tospovirose tem aumentado significativamente causando graves perdas econômicas anuais de produção à cultura do tomateiro (King et al., 2011).

A utilização de cultivares resistentes às viroses de plantas pode ser considerada a opção mais eficaz, durável e estável dentro da estratégia de manejo integrado. Portanto, torna-se uma estratégia relevante a identificação de fontes de resistência às espécies de tospovírus através da avaliação de genótipos recentemente desenvolvidos e também de cultivares antigas, genótipos introduzidos de outros países e formas selvagens de *Solanum*. Essas fontes de resistência podem ser incluídas em programas de melhoramento genético visando à obtenção de linhagens e/ou novas cultivares resistentes a viroses.

Os vírus destacam-se entre os diversos patógenos responsáveis pela redução da produtividade do tomateiro. Dentre estes, as principais espécies e respectivos gêneros são: *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) e *Tomato golden vein virus* (TGVV), pertencentes ao gênero *Begomovirus*; *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) e *Potato virus Y* (PVY), pertencentes ao gênero *Potyvirus*; *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) e *Groundnut ringspot virus* (GRSV), gênero *Tospovirus*; *Cucumber mosaic virus* (CMV) e *Tomato mosaic virus* (ToMV), gênero *Tobamovirus* e, recentemente, *Tomato chlorosis virus* (ToCV), pertencente ao gênero *Crinivirus*.

O tospovírus, pertencente à família *Bunyaviridae*, foi descoberto na Austrália em 1915 (Brittlebank, 1919), sendo o único gênero desta família com capacidade de atacar plantas. Essa família é representada por viroses animais transmitidas por artrópodes vetores. Porém, atualmente, alguns vírus de plantas pertencentes à família *Bunyaviridae* foram relatados infectando e desenvolvendo sintomas de doenças, como febre e dores abdominais, em seres humanos, especulando-se que esse comportamento tenha ocorrido devido mudanças nas condições climáticas (Le May & Bouloy, 2012).

O gênero *Tospovirus* foi inicialmente considerado como monotípico, sendo TSWV a única espécie descrita, no entanto, estudos de caracterização biológica e molecular de isolados de diversos continentes indicaram a existência de um grande número de espécies dentro deste

gênero (De Ávila et al., 1992; Pozzer et al., 1996; Bezerra et al., 1999; Prins & Goldbach, 1998).

As espécies desse grupo de vírus possuem a partícula viral variando de 80 a 120 nm, de formato indefinido, que é envolta por uma membrana lipídica (ICTV, 2016), denominada envelope, e associadas a essa membrana estão as glicoproteínas Gc e Gn, responsáveis pela interação do vírus com seu vetor, determinando a transmissão e a especificidade (Wijkamp et al., 1995; Ullman et al., 2005). O genoma desse patógeno é constituído por três segmentos de RNA denominados S (*small*), M (*medium*) e L (*large*). O segmento S RNA apresenta duas fases abertas de leitura – ORFs (ambisense) que codificam uma proteína não estrutural (gene NSs) e a proteína do nucleocapsídeo (gene N). O segmento M RNA também possui duas ORFs (ambisense) que codificam a proteína de movimento (NSm) e um precursor das glicoproteínas (G1/G2), já o segmento L RNA apresenta uma única ORF (sendo negativo) que codifica a polimerase viral (gene L) (Van Regenmortel et al., 2000). Os segmentos gênicos de tospovírus possuem um conjunto de oito nucleotídeos conservados (5'- AGAGCAAT-3') e complementares nas extremidades 5' e 3', levando à formação de uma estrutura secundária dos segmentos gênicos virais conhecido como cabo de panela (*panhandle*), que é usual para a maioria dos vírus de ssRNA(+)/(-) (Walpita & Flick, 2005) e essencial para a iniciação dos processos de replicação/transcrição dos vírus (Kawoka, 2004).

Os sintomas causados pelo vírus apresentados são determinados em função da espécie hospedeira, idade e estado nutricional da planta, época do ano e das condições ambientais (Francki & Hatta, 1981). De modo geral, quando infectado, o tomateiro suscetível pode apresentar diminuição do crescimento, as folhas do ponteiro perdem o brilho, os folíolos apresentam enrolamento do limbo para cima, além do aparecimento da coloração bronzeada ou arroxeada com pontos necróticos. Já os frutos jovens mostram áreas necróticas ou anéis concêntricos, e a maturação torna-se irregular (Tokeshi & Carvalho, 1980). Para as cultivares altamente suscetíveis, a infecção prematura pode levar ao decaimento completo seguido de morte da planta.

Merece registro que, em períodos mais quentes e secos, devido a maior dispersão e multiplicação do inseto vetor, as perdas são mais elevadas. Por essas razões, os tospovírus tem figurado, em termos globais, entre os dez mais importantes vírus para a agricultura (Scholthof et al., 2011).

Espécies desse gênero viral possuem distribuição mundial e apresentam um amplo círculo de hospedeiras, distribuídas em 92 famílias e 1.050 espécies botânicas (Peters, 1998), incluindo monocotiledôneas e dicotiledôneas com destaque para as famílias *Solanaceae* e *Asteraceae*,

além de outras culturas como o fumo, amendoim (*Arachis hypogaea* L.), pimenta e pimentão (*Capsicum* spp.) e várias plantas ornamentais (De Ávila, 1993, Berguer et al., 2005).

Atualmente, onze espécies do gênero *Tospovirus* são reconhecidas e aprovadas pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV, 2016). Entre as espécies que infectam o tomateiro e outras hortaliças estão: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV); *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV); *Groundnut ringspot virus* (GRSV); *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV); *Iris yellow spot virus* (IYSV); e *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV), responsáveis por grandes danos econômicos à cultura (Pozzer et al. 1996, Bezerra et al. 1999). No Brasil, quatro dessas espécies de tospovírus já foram identificadas infetando tomateiros, *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV) e *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) (Resende et al., 1995; Dianese et al., 2010), sendo observada predominância de determinadas espécies de acordo com a região do país (Nagata et al., 1995; De Ávila et al., 1998; Colariccio et al., 2000). Dentre elas, acredita-se que a espécie *Groundnut ringspot virus* (GRSV) é a predominante no país, possivelmente por sua maior eficiência de transmissão através da espécie de tripes *Frankliniella schultzei* (Nagata et al., 2004).

Os tospovírus são considerados os mais importantes agentes fitopatogênicos em tomateiro nas épocas mais quentes do ano, em diversas regiões do mundo (German et al., 1992; Pozzer et al., 1996) sendo transmitidos por tripes pertencentes aos gêneros *Frankliniella*, *Thrips* e *Scirtothrips* (Chen & Chiu, 1996; Mound, 1996; Webb et al., 1998) de maneira circulativa e propagativa. A dispersão primária de TSWV é feita por tripes adultos, que se dispersam amplamente, se alimentam de muitos hospedeiros vegetais e podem permanecer virulíferos pelo resto de sua vida. O vetor somente adquire o vírus durante o primeiro e o segundo estágios larvais, quando se alimentam de folhas infectadas (Wijkamp et al., 1995), sendo assim, tripes adultos não se tornam virulíferos mesmo depois de prolongados períodos de alimentação em plantas infectadas (Van de Wetering et al., 1996).

A evidência para a replicação do vírus no inseto vetor baseia-se na acumulação de proteínas não estruturais (NS) (Kormelink e Kitajima, 1991) e na inclusão em células endoteliais, células musculares e glândulas salivares (Moyer, 1999). O vírus também pode se espalhar por propágulos vegetativos de plantas, mas não através de semente (Tsompana, 2004). O controle total da doença é muito difícil, de forma que o mais eficaz é a integração de práticas para minimizar os danos. A rotação com culturas não hospedeiras, época de plantio, plantio em áreas isoladas, a eliminação de hospedeiros alternativos do vetor, *roguing* de plantas infectadas, aplicação de inseticidas granulados e sistêmicos complementares são algumas das medidas que podem ser utilizadas em programa de manejo integrado (Kurozawa & Pavan, 2005). Desse modo, ações que

contribuam para a redução da população do vetor ou que restrinjam a eficiência de transmissão, têm sido usadas como uma das principais estratégias para o controle desses patógenos. No entanto, o uso de cultivares tolerantes ou resistentes é o mais promissor método complementar de outras medidas ou controle dessa virose (Dianese et al., 2011), uma vez que são encontradas dificuldades no combate ao inseto vetor, como características de polifagia, facilidade de reprodução, número de ovos produzidos e capacidade de difusão rápida na natureza, além de apresentar resistência aos inseticidas (Moura et al., 2014).

Atualmente, existem materiais considerados resistentes a tospovírus que não apresentam perda da qualidade dos frutos e da produtividade, além de outros que podem ser usados como fontes de resistência em programas de melhoramento genético da hortaliça (Colariccio et al., 2001; Kurozawa & Pavan, 2005). É válido ressaltar que a utilização de genes de resistência favorece um decréscimo considerável das perdas econômicas causadas por vírus (Stevens et al., 1992; Dianese et al., 2011).

A introdução de resistência genética nas cultivares tem sido a medida de manejo mais eficiente no controle de viroses no campo (Diaz-Pendon et al., 2004; Zerbini, 2006), sendo portanto, de suma importância a identificação de fontes de resistência em condições de cultivo com elevada pressão do inseto vetor e fontes do vírus, permitindo, dessa forma, a caracterização de materiais promissores. Entretanto, a existência de diferentes espécies do vírus dificulta a ocorrência de fontes de resistência a tospovírus (De Ávila et al., 1993; Law & Moyer, 1990).

Os genes de resistência se distribuem em populações de uma determinada espécie hospedeira e sua variabilidade está relacionada com as características intrínsecas de cada indivíduo. Essa variação ocorre, principalmente, devido a diferentes tipos de mutações, incluindo deleções, inserções e substituições de nucleotídeos, bem como por eventos de recombinação que podem levar à inativação ou ativação de um determinado gene, ou alteração nos níveis de expressão da resistência (Suzuki et al. 1992).

Existem várias fontes de resistência genética a tospovírus, sendo elas identificadas em avaliações de germoplasma de *Solanum* (seção *Lycopersicon*) contra isolados de tospovírus oriundos de diversas regiões geográficas (Samuel et al., 1930; Araújo et al., 1983; Nagata et al., 1993; Stevens et al., 1994; Lourenção et al., 1997; Scott et al., 2005; Gordillo et al., 2008; Dianese et al., 2011).

Os primeiros estudos sobre a genética da resistência a tospovírus em acessos de *S. pimpinellifolium* e *S. lycopersicum* indicaram a ação coordenada de cinco genes (Samuel et al., 1930; Holmes, 1948), sendo dois genes dominantes (denominados Sw-1a e Sw-1b) e três genes recessivos (denominados sw-2, sw-3 e sw-4) (Finlay, 1953). Todavia, a resistência conferida a

tospovírus por esses genes foi rapidamente superada. Posteriormente, o gene *Sm-5* foi identificado em tomateiro conferindo resistência de amplo espectro ao TSWV, GRSV, TCSV e CSNV, uma vez que são filogeneticamente próximos (Boiteux & Giordano, 1993). Esse gene foi incorporado à *S. lycopersicum* a partir de acessos de *S. peruvianum* (Stevens et al., 1992; Thompson & Zijl, 1996) e pertence à mesma classe de genes de resistência a patógenos como *Meloidogyne* spp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Spasova et al., 2001).

A proteína codificada por *Sm-5* possui 1246 aminoácidos e caracteriza-se pela presença de domínios de ligação a nucleotídeos (*nucleotide binding site*) e repetições ricas em leucina (*leucine rich repeats*) (Brommonschenkel et al., 2000). Merece registro que tais características estruturais são comuns em proteínas presentes na resposta de resistência a fitopatógenos (Martin et al., 2003; Belkhadir et al., 2004).

Vários estudos demonstraram que a resistência conferida por *Sm-5* é eficiente contra as espécies de tospovírus que infectam o tomateiro, bem como a cultura da berinjela (*Solanum melongena* L.) e fumo (*Nicotiana tabacum* L.) (Brommonschenkel et al., 2000; Lau, 2001; Picoli, 2000). Devido ao caráter não específico dessa resistência, esse gene tornou-se o mais utilizado em programas de melhoramento, pois, além de monogênico e dominante, tem se mostrado muito estável (De Ávila, 1993; Boiteux, et al., 1993; Roselló et al., 1999). O gene *Sm-5* compõe uma família multigênica com membros dispersos nos cromossomos 9 e 12 do tomateiro (Brommonschenkel et al., 2000). Através do mapeamento do *Sm-5* ao longo do cromossomo 9, verificou-se um complexo formado por cinco cópias do gene, nomeadas de *Sm-5a*, *Sm-5b*, *Sm-5c*, *Sm-5d*, *Sm-5e*. Análises mais detalhadas utilizando cada uma das cópias desses análogos em plantas transgênicas indicaram que a cópia *Sm-5b* é essencial para a expressão do fenótipo de resistência (Spasova et al., 2001).

Atualmente, estão disponíveis no mercado cultivares de tomateiro com resistência a tospovírus mediada pelo gene *Sm-5*. No entanto, a expressão fenotípica da resistência controlada pelo gene *Sm-5* não apresenta penetrância completa (Stevens et al., 1992). Dessa forma, linhagens e até mesmo híbridos com este gene podem apresentar percentuais variáveis de plantas com sintomas ao longo dos diferentes estágios de desenvolvimento e em distintas condições ambientais.

De outra parte, já foram relatados isolados de TSWV que conseguem quebrar a resistência conferida pelo gene *Sm-5* (Cho et al., 1996; Aramburu & Marti, 2003), de certa forma, isso já era esperado devido ao elevado índice de mutação durante replicação viral (Roossinck, 1994), acarretando no surgimento de novos isolados do vírus capazes de sobrepujar o gene de resistência.

Crescenzi et al. (2013) reportaram que novas estirpes evoluídas de TSWV foram capazes de superar o gene de resistência *Sw-5* em híbridos de tomate previamente conhecidas como sendo resistentes ao vírus no sul da Itália. Na Espanha houve aumento da severidade dos sintomas da tospovirose e, conseqüentemente, na morte mais rápida da planta quando esta foi previamente infectada com ToCV (*Tomato chlorosis virus*), o que é extremamente preocupante, uma vez que tal vírus está se tornando muito importante e significativo com altas incidências em lavouras de tomate (Garcia-Cano et al., 2006), no entanto, essa interação não foi verificada no Brasil (Souza, 2016).

A expressão da resistência pode ser negativamente afetada em condições de alta pressão de inóculo ou em regiões onde ocorrem drásticas flutuações de temperaturas diurnas e noturnas (De Ávila, 1993; Díez et al., 1995; Roselló et al., 1997; Roselló et al., 1998). Foi observado ainda que em genótipos avançados com incorporação do gene *Sw-5*, temperaturas elevadas (acima de 32 °C) alteraram a expressão do gene *Sw-5* no controle da resistência à doença, tendo ocorrido o aparecimento de sintomas em genótipos portadores desse gene (Aragão et al., 2002).

A detecção através do uso de marcadores moleculares, que são características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente, destaca-se como ferramenta importante para a manipulação da resistência conferida pelo *Sw-5* (Pereira-Carvalho et al., 2014).

Os principais tipos de marcadores moleculares podem ser classificados em dois grupos, conforme a metodologia utilizada para identificá-los: hibridização ou amplificação de DNA. Entre os identificados por hibridização estão os marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e Minissatélites ou locus VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*). Já aqueles revelados por amplificação incluem os marcadores do tipo: RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*); SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*) ou ASA (*Amplified Specific Amplicon*); Microsatélite (ou *SSR - Simple Sequence Repeats*); e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Milach, 1999).

Atualmente, dezenas de genes de extrema importância para a cultura do tomateiro estão sendo mapeadas com o objetivo principal de aumentar a eficiência dos programas de melhoramento dessa hortaliça (Bai & Lindhout, 2007).

O gene *Sw-5* foi mapeado através de marcador RAPD, no cromossomo 9 (Stevens et al., 1995). Stevens et al. (1996), desenvolveram o marcador codominante 'UBC 421', situado a uma distância 1,0 cM do gene *Sw-5*, obtido a partir de um *primer* decâmetro de RAPD (ACG GCC CAC C), que mostra uma banda de 940 pb (banda 421R) nos materiais resistentes e uma banda

900 pb (banda 421S) nos suscetíveis. Recentemente o marcador 'UBC 421' foi convertido em um marcador também codominante do tipo SCAR (*primers* de 20 pb 'Sw-421-1 e Sw-421-2').

A seleção indireta de plantas resistentes por meio de marcadores do tipo SCAR leva a resultados mais rápidos, além de não depender de condições ambientais. Dianese et al. (2010) desenvolveram um marcador SCAR codominante correspondente a uma região dentro do locus *Sw-5*. Esse marcador permitiu identificar tomateiros resistentes e suscetíveis a tospovírus de maneira inequívoca, tornando-se facilitada a decisão de escolha das cultivares promissoras resistentes à doença.

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho visou à caracterização de linhagens de tomateiro de hábito de crescimento determinado resistentes a tospovírus, utilizando caracteres agronômicos e marcadores moleculares associados a genes de resistência à doença.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Experimento de campo

2.1.1. Localização e caracterização da área do experimento

O experimento a campo foi conduzido em área experimental do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), situada no município de Piracicaba, estado de São Paulo, a 518 m de altitude, com latitude sul de 22°42’13” e longitude oeste de 47°38’24”.

O clima do município de Piracicaba, segundo a classificação de Koppen, é do tipo Cwa, caracterizado como mesotérmico de inverno seco, em que a temperatura média do mês mais frio é inferior a 18 °C, e a do mês mais quente ultrapassa 22 °C. O total de chuvas do mês mais seco é inferior a 30 mm. Em termos anuais, a precipitação média varia de 1100 a 1300 mm. A estação seca vai de abril a setembro, sendo julho o mês mais seco. Já janeiro e fevereiro são os meses de maior pluviosidade.

Durante os meses de condução do experimento, foram obtidos dados climáticos da base de dados da Estação Meteorológica Automática da Área de Física e Meteorologia da ESALQ para melhor compreensão das variáveis atuantes no campo (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios mensais de temperatura, umidade relativa do ar, precipitação mensal e velocidade do vento. Dados registrados no período do experimento, de junho a outubro de 2016. Piracicaba, ESALQ, 2016.

Meses	Temperatura (°C)			Umidade relativa (%)	Precipitação (mm)	Velocidade do vento (km/h)
	máxima	média	mínima	média	média	média
Junho	23.78	17.37	10.96	79.57	5.70	5.52
Julho	26.95	18.76	10.57	66.68	0.08	7.15
Agosto	27.80	20.07	12.35	67.29	1.46	8.09
Setembro	29.22	21.60	13.95	67.00	0.66	8.66
Outubro	29.94	23.52	17.10	73.16	3.33	9.40

O solo da área experimental é classificado como Terra Roxa Estruturada (Ranzani et al., 1966). As características do solo durante o período de condução do experimento, em sua análise química encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Análise química de solo da área experimental do Departamento de Genética. Piracicaba, ESALQ, 2016.

pH (CaCl ₂)	M.O	P (resina)	K	Ca	Mg	H+Al	Al	Soma de bases	CTC	Sat. Bases	Sat. Al	S (SO ₄)
	g.dm ⁻³	mg.dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³							V%	m%	mg.dm ⁻³
4,8	16	35	1,8	27	11	38	2	40	78	51	5	8

2.1.2. Linhagens testadas

As linhagens de tomateiro que foram utilizadas fazem parte da coleção de germoplasma mantida pelo Prof. Dr. Paulo César Tavares de Melo, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP. No total foram utilizadas 12 linhagens de hábito de crescimento determinado, com dupla aptidão (para os mercados *in natura* e processamento industrial), previamente selecionadas em condições de campo para resistência a tospovírus obtidas através de cruzamentos entre Stevens x IPA-6. Os híbridos foram retrocruzados para IPA-6 e, a partir da geração F₃RC₁ adotou-se o método *Single Seed Descent* (SSD); após seleção de plantas individuais, estas originaram progênes avançadas de cada uma das populações. Os ciclos subsequentes de seleção foram baseados no desempenho das progênes quanto à uniformidade e nível de resistência de campo a tospovírus (Melo, 2017). Como testemunhas foram utilizadas quatro cultivares de polinização aberta, sendo duas reconhecidas como materiais suscetíveis à virose, IPA-6 e Nemadoro, e outras duas, Stevens e TSW-10, resistentes a tospovírus. As linhagens e as cultivares utilizadas no experimento estão relacionadas na Tabela 3.

Deve ser destacado que, para as testemunhas suscetíveis à virose, a cultivar IPA-6 é caracterizada por alta produtividade e frutos firmes, além da resistência aos patógenos *Verticillium albo-atrum* e *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1 e 2; *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* (Giordano et al., 2000b). A cultivar Nemadoro é caracterizada por ser resistente aos nematóides das galhas (*Meloidogyne* spp.) (Boiteux et al., 1993b). Quanto às testemunhas resistentes ao vira-cabeça do tomateiro, a cultivar Stevens é de origem sul-africana e deriva do cruzamento entre *L. esculentum* e *L. peruvianum* (Stevens et al., 1992) sendo portadora do gene *Sw-5* que confere resistência ao TSWV (Zijl et al., 1986); e a cultivar TSW-10 é resistente à todas as espécies de tospovírus registrados no Brasil.

Tabela 3. Relação das linhagens e cultivares comerciais utilizadas no experimento. Piracicaba, ESALQ, 2016.

Código original	Observação
TPN0191	BAG PCT Melo*
TPN0252	BAG PCT Melo
TPN0254	BAG PCT Melo
TPN0193	BAG PCT Melo
TPN0194	BAG PCT Melo
TPN0196	BAG PCT Melo
TPN0202	BAG PCT Melo
TPN0208	BAG PCT Melo
TPN0210	BAG PCT Melo
TPN0214	BAG PCT Melo
TPN0234	BAG PCT Melo
TPN0240	BAG PCT Melo
USP0156	TSW-10
USP0159B	Stevens
TL-02	Nemadoro
USP0030	IPA-6

*Banco Ativo de Germoplasma pertencente ao Prof. Paulo César Tavares de Melo.

2.1.3. Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido em um ciclo, sendo o mesmo iniciado em 25 de abril de 2016, com a semeadura dos materiais em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, contendo substrato comercial a base de fibra de coco para obtenção das mudas. As bandejas foram alocadas e mantidas em ambiente protegido (14 m x 5 m), com pé direito de cinco metros, coberta com filme de polietileno transparente de 150 micras de espessura aditivado contra raios ultravioleta, recoberto com malhas termorrefletoras e as laterais protegidas com telas de polipropileno branco com 30% de sombreamento, pertencente ao Departamento de Genética, localizado em sua área experimental.

Para suprir as necessidades hídricas das mudas adotou-se o sistema de irrigação por aspersão, com frequência de três vezes ao dia e duração de cinco minutos cada.

As mudas, aos 38 dias após semeadura, foram transplantadas no campo que foi previamente preparado, realizado com gradagem, seguido por enxada rotativa e encanteirador.

Cada parcela do experimento foi constituída de 2,4 m, composta por seis plantas por parcela. O espaçamento entre plantas utilizado foi de 0,4 m e 1,6 m entre fileiras. No total, foram seis linhas de cultivo, sendo as quatro centrais, consideradas linhas úteis, e as duas externas, consideradas bordaduras. Em cada linha útil de cultivo do experimento, as seis primeiras plantas

anteriores à primeira parcela útil, foram consideradas como bordadura, assim como as seis plantas finais da linha, posteriores a última parcela útil. Nesse sentido, o experimento foi constituído de 504 plantas totais, sendo 288 plantas úteis, dispostas em três blocos casualizados com três repetições. O croqui da área experimental encontra-se abaixo (Figura 1).

B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
B	8	16	5	13	12	13	7	6	10	16	7	2	B
B	10	3	14	12	3	16	1	9	14	13	4	9	B
B	4	1	15	7	10	8	4	11	12	5	1	11	B
B	11	9	2	6	14	5	15	2	3	8	15	6	B
B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

Figura 1. Croqui da área experimental. Piracicaba, ESALQ, 2016.

No tutoramento das plantas, que foram conduzidas pelo sistema de meia-estaca, foram utilizados moirões de madeira com 2,20 m de altura nas cabeceiras das linhas de plantio e estacas de bambu de 1,50 m a cada três plantas (1,2 m) para melhor condução. À medida que as plantas foram se desenvolvendo, foram passados dois fios de fitilhos na horizontal, abraçando as plantas para evitar que essas tombassem com o peso quando da frutificação, bem como para manter o porte ereto da planta. No total os fios foram passados cinco vezes, espaçados em aproximadamente 20 cm no início do ciclo e então, a cada 10 cm quando as plantas atingiram mais de 50 centímetros de altura, mantendo-as eretas e firmes.

Nas linhas de cultivo, foi instalado sistema de irrigação por gotejamento com gotejadores a cada 20 cm, suprimindo as necessidades de água da cultura, feita em três pulsos de irrigação de 20 minutos durante o dia, programada para irrigar as plantas às seis horas da manhã, meio dia e novamente, às seis horas da tarde.

A adubação de plantio foi realizada em sulcos, com aplicação de 150 g de NPK 4:14:8 por metro linear no sulco. Após o transplantio, entre a primeira e nona semana, período de formação da planta, as adubações de cobertura foram feitas utilizando 30 g de NPK 20:05:20 por planta. Para a fase de frutificação do tomateiro, o protocolo de adubação foi modificado, aplicando-se 15 g de NPK 15:0:30 por metro linear no sulco. Para prevenção de podridão apical nos frutos, foi feita adubação foliar com nitrato de cálcio na fase de frutificação.

Para o manejo de plantas daninhas presentes na área, foram feitas capinas manuais durante todo o período do experimento, inicialmente uma vez por semana para que as mudas se estabelecessem sem competição. Após sombreamento da área, a atividade de capina passou a ser feita a cada quinze dias e, na fase final, apenas quando necessário.

Em relação ao controle de pragas e doenças foi feita a intervenção necessária com produtos recomendados para a cultura, como descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Relação dos produtos de controle aplicados durante o período do experimento. Piracicaba, ESALQ, 2016.

Produto	Dose	Alvo biológico
FOLICUR 200 EC (Bayer S/A)	20 g/100 L de água	Septoriose – <i>Septoria lycopersici</i> Pinta-preta – <i>Alternaria solani</i>
GALBEN-M (FMC)	200 g/100 L água	Requeima – <i>Phytophthora infestans</i>
EVIDENCE 700 WG (Bayer S/A)	200 g/hectare	Tripes – <i>Thrips palmi</i> Pulgão-verde – <i>Myzus persicae</i> Mosca-branca – <i>Bemisia tabaci</i> ; <i>Bemisia tabaci</i> raça B

As colheitas foram feitas conforme o amadurecimento dos frutos, sendo elas realizadas nos dias 22, 26 e 30 de setembro e 04, 10 e 17 de outubro, totalizando seis colheitas para coleta dos dados do experimento.

2.1.4. Caracterização agrônômica das linhagens

As avaliações agrônômicas relacionadas à parte aérea da planta foram realizadas para cada parcela útil do experimento, utilizando-se seis plantas, com base nos caracteres e procedimentos apresentados a seguir:

- Uniformidade de planta (UP): avaliou-se a uniformidade das plantas dentro da parcela atribuindo-se notas de 1 (desuniformes) a 5 (uniformes);
- Vigor da planta (VP): foi considerada a altura da planta e o pegamento de fruto demonstrando vigor. Foi atribuído nota de 1 (baixo vigor) a 5 (alto vigor);
- Altura de planta (AP): atribui-se notas de 1 (planta baixa) a 5 (planta alta);
- Pegamento de fruto (PGF): atribuiu-se nota de 1 (baixo) a 5 (alto) para o número de frutos fixados por racemo;
- Cobertura foliar (CF): foi atribuído nota de 1 a 5, em que nota 1: plantas com enfolhamento mínimo, enfolhamento entre 0 a 20%; nota 2: plantas com poucas folhas, enfolhamento entre 21 a 40%; nota 3: plantas com enfolhamento

intermediário, enfolhamento entre 41 a 60%; nota 4: plantas com enfolhamento bom, enfolhamento 61 a 80%; nota 5: plantas muito enfolhadas enfolhamento acima de 81%.

Para as avaliações dos frutos (Figura 2), de cada parcela, coletou-se separadamente uma amostra contendo dez frutos maduros que foram avaliados individualmente. Para todos os seguintes caracteres, as medições foram tomadas na posição do fruto que resultava na maior medida.

- f) Massa média do fruto (MMF): obtido por meio de pesagem individual utilizando balança eletrônica digital, expressa em gramas;
- g) Comprimento (C), diâmetro equatorial (D) e razão entre comprimento e diâmetro ($R\ C/D$): as medições dos parâmetros C e D foram realizadas com uso de um paquímetro digital, expressos em centímetros, para posterior obtenção do valor de $R\ C/D$, que é resultado da razão entre o comprimento e diâmetro equatorial;
- h) Tamanho da cicatriz peduncular (CP): a medição do tamanho da cicatriz apical do fruto foi realizada com uso de um paquímetro digital, expresso em milímetros;

Figura 2. Pesagem individual dos frutos em balança digital (esquerda); medição individual do comprimento, diâmetro e tamanho da cicatriz peduncular dos frutos por meio paquímetro digital. Piracicaba, ESALQ, 2016.

- i) Forma da base (FB): considerou-se o formato da cicatriz do pistilo por ponto, estrela, reto e irregular (Figura 3), descrito no Descritor do Tomateiro (IPGRI, 1996);

Figura 3. Formato da cicatriz do pistilo descrita por ponto (1), estrela (2), reto (3) e irregular (4) (IPGRI, 1996). Piracicaba, ESALQ, 2016.

- j) Firmeza do fruto (FF): avaliou-se por meio de penetrômetro digital com ponteira de 8 mm, através de duas medições do fruto, expressa em Newton (Figura 4);
- k) Espessura do pericarpo (EP): a medição da espessura do pericarpo foi realizada com uso de um paquímetro digital, expressa em milímetros;
- l) Número de lóculos (NL): avaliou-se visualmente contando o número de lóculos de cada genótipo (Figura 5);

Figura 4. Penetrômetro digital com ponteira de 8 mm utilizado para medir firmeza do fruto (esquerda); valor expresso em Newton (central); frutos após medição da firmeza (direita). Piracicaba, ESALQ, 2016.

Figura 5. Frutos cortados transversalmente para medição, por meio de paquímetro digital, da espessura do pericarpo e contagem do número de lóculos. Piracicaba, ESALQ, 2016.

- m) Produção total (PT): foi obtida pelo somatório das massas de todos os frutos colhidos de cada parcela durante as sucessivas colheitas, expressa em quilogramas;
- n) Número de frutos descartados (NFD): somatório do número de frutos que apresentavam algum tipo de dano tornando-o inviável para a comercialização;
- o) Produção descartada (PD): foi obtida pelo somatório das massas de todos os frutos colhidos que apresentavam algum tipo de dano tornando-o inviável para a comercialização, expressa em quilogramas;
- p) Produção comercial (PC): obtida pela produção total (PT) subtraída da produção descartada (PD), expressa em quilogramas.

2.1.5. Caracterização molecular

As análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Genética Bioquímica de Plantas, pertencente ao Departamento de Genética da ESALQ/USP. Para a extração do DNA genômico do tomateiro, coletaram-se amostras 0,2 g de tecido dos folíolos das plantas. O DNA de cada genótipo foi purificado como descrito por Boiteux et al. (1999), utilizando-se o método CTAB 2X, modificado com passos adicionais de purificação com solventes orgânicos. Após a extração de DNA, foi realizada a *Polymerase Chain Reaction* (PCR), para confirmar a presença da região promotora do gene de resistência *Sw-5* nos diferentes genótipos de tomateiro. Para isso, utilizou-se o par de *primers Sw-5-2* (F = 5' AATTAGGTCTCTGAAGCCCATCT 3'; R = 5' TTCCGCATCAGCCAATAGTGT 3') conforme protocolo descrito por Dianese et al. (2010).

Para a amplificação do fragmento marcador, utilizaram-se 50 ng de DNA total, 1 µL de tampão 10X para PCR (Invitrogen), 0,3 µL de MgCl₂ 50 mM, 0,2 µL de mix de dNTP 10 mM, 1,5 µL de cada *primer* 10 µM, 0,2 unidades de Taq DNA polimerase 100 U/mL (Invitrogen) e água para volume final de 10 µL. As reações foram realizadas em termociclador GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) conforme as seguintes etapas: desnaturação a 94 °C, por 2 minutos; 29 ciclos compostos por 94 °C por 30 segundos, 50 °C por 1 minuto e 72 °C por trinta segundos; e extensão final a 72 °C por 5 minutos. O produto das amplificações foi separado em gel agarose 1,5 %, em tampão TBE, sendo a coloração com SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen) 1 µL/100 mL de gel. A visualização das bandas foi realizada com auxílio de transiluminador UV ImageMaster® VDS (Pharmacia Biotech).

2.2. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, para fins de melhor controle de variações ambientais da área experimental, contendo três repetições.

Os resultados obtidos dos componentes de produção bem como das características qualitativas dos frutos foram submetidos à análise de variância. Para comparação das médias, os dados foram avaliados por meio do programa estatístico ASSISTAT, versão 7.7 (Silva & Azevedo, 2002). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracteres relacionados à parte aérea do tomateiro

Os resultados da análise de variância para os caracteres uniformidade de planta (UP), vigor de planta (VP), altura de planta (AP), pegamento de fruto (PGF) e cobertura foliar (CF), com os valores quadrados médios e suas respectivas significâncias, bem como os coeficientes de variação, estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5. Quadrados médios (QM) e coeficiente de variação (CV%) da análise de variância para uniformidade de planta (UP), vigor de planta (VP), altura de planta (AP), pegamento de fruto (PGF) e cobertura foliar (CF). Piracicaba, ESALQ, 2016.

	GL	QM				
		UP	VP	AP	PGF	CF
Blocos	2	0,14120 ns	0,14988 ns	0,11583 ns	0,14655 ns	0,06896 ns
Tratamentos	15	0,81481**	2,09965**	1,36000**	0,95150**	2,00576**
Resíduo	30	0,16343	0,32396	0,40917	0,16803	0,21785
CV%		9,45	15,36	18,1	10,04	12,45

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Para todos os caracteres relacionados à parte aérea do tomateiro foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos (Tabela 6), discriminadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, de modo que os genótipos de tomateiro apresentaram comportamento distinto em relação às avaliações da parte aérea estudadas neste trabalho.

Tabela 6. Uniformidade de planta (UP), vigor de planta (VP), altura de planta (AP), pegamento de fruto (PGF) e cobertura foliar (CF). Piracicaba, ESALQ, 2016.

Genótipos	UP		VP		AP		PGF		CF	
TPN0191	4,33	ab	3,67	abcd	3,33	ab	4,00	abcd	3,00	cd
TPN0252	4,00	ab	2,67	cd	3,33	ab	4,33	abc	3,00	cd
TPN0254	4,00	ab	3,00	bcd	2,33	b	3,67	bcd	2,67	d
TPN0193	4,33	ab	3,67	abcd	3,67	ab	4,67	ab	4,00	abcd
TPN0194	5,00	a	3,67	abcd	3,33	ab	5,00	a	4,67	ab
TPN0196	3,67	b	3,33	abcd	3,33	ab	4,00	abcd	3,00	cd
TPN0202	4,00	ab	4,67	ab	3,67	ab	4,33	abc	4,67	ab
TPN0208	5,00	a	3,67	abcd	3,33	ab	4,00	abcd	3,67	abcd
TPN0210	4,33	ab	4,00	abc	4,00	ab	4,67	ab	4,00	abcd
TPN0214	4,33	ab	3,33	abcd	3,33	ab	4,00	abcd	3,33	bcd
TPN0234	4,00	ab	4,67	ab	4,00	ab	3,67	bcd	4,33	abc
TPN0240	4,44	ab	4,94	a	4,53	a	4,99	a	4,97	a
TSW-10	5,00	a	4,00	abc	3,67	ab	3,00	d	4,00	abcd
Stevens	5,00	a	5,00	a	5,00	a	3,67	bcd	5,00	a
Nemadoro	3,33	b	3,00	bcd	3,33	ab	3,33	cd	2,67	d
IPA-6	3,67	b	2,00	d	2,33	b	4,00	abcd	3,00	cd
DMS	1,23		1,73		1,95		1,25		1,42	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para o caractere uniformidade de planta, de acordo com os resultados observados na Tabela 6, os genótipos TPN0194, TPN0208, TSW-10 e Stevens diferiram estatisticamente dos genótipos TPN0196, Nemadoro e IPA-6, uma vez que as médias das notas de avaliação se apresentaram superiores, justificadas pela uniformidade das plantas na parcela. Já os genótipos TPN0196, Nemadoro e IPA-6, que apresentaram notas inferiores na avaliação, diferiram estatisticamente em razão da desuniformidade das plantas na parcela.

Em relação ao vigor das plantas, as médias variaram de 2,0 a 5,0, para os genótipos IPA-6 e Stevens, respectivamente, sendo que o genótipo IPA-6 apresentou o menor valor, enquanto que os genótipos TPN0240 e Stevens diferiram estatisticamente dos genótipos TPN0252, TPN0254, Nemadoro e IPA-6 por apresentarem os maiores valores de vigor de planta.

Quanto à altura das plantas, as médias variaram de 2,33 a 5,0, para os genótipos TPN0254 e Stevens, respectivamente. Sendo que os genótipos TPN0240 e Stevens atingiram as maiores alturas numéricas entre todos os genótipos avaliados.

Nesse sentido, em programas de melhoramento genético para tomateiro de hábito de crescimento determinado, a uniformidade, vigor, altura e cobertura foliar das plantas na parcela destacam-se como características extremamente importantes que devem ser levadas em consideração.

Deve ser destacado que, quando não há uniformidade entre as plantas avaliadas, observa-se a ocorrência de plantas em diferentes estádios fenológicos. A desuniformidade de vigor, altura e cobertura foliar entre as plantas em uma mesma lavoura dificultam os tratos culturais, fitossanitários e, principalmente, o início e o método adequado de colheita, resultando em perda de produtividade, acarretando em menor retorno econômico ao produtor.

Carvalho et al. (2003) avaliando o desempenho de famílias e híbridos comerciais de tomateiro para processamento industrial, caracterizaram a uniformidade das plantas das parcelas do experimento em boa (B), regular (R) e ruim (Ru) quanto à cobertura foliar e altura de planta. Ao fim da pesquisa, os autores evidenciaram que três híbridos comerciais obtiveram posição de destaque, uma vez que se mostraram adequados para o tipo industrial devido o hábito de crescimento determinado, porte de planta pequeno e excelente uniformidade de plantas dentro da parcela. Tais resultados corroboram os dados observados na Tabela 6 para os genótipos TPN0194 e TPN0208, que apresentaram uniformidade das plantas nas parcelas.

Quanto ao caractere cobertura foliar, para os genótipos TPN0240 e Stevens observou-se que esses diferiram estatisticamente dos genótipos TPN0191, TPN0252, TPN0254, TPN0196, TPN0214, Nemadoro e IPA-6, devido exibirem notas superiores na escala de avaliação evidenciando maior cobertura foliar, como pode ser observado na Tabela 6. As médias para esse

caractere variaram de 5,0 para o genótipo Stevens e 2,67, para os genótipos TPN0252 e Nemadoro, que se mostraram inferiores aos demais genótipos por originar plantas pouco enfolhadas. Segundo Figueiredo (2013) o enfolhamento das plantas de tomate é uma característica de extrema importância para a produção de frutos com alta qualidade industrial. Assim, quanto maior a densidade de folhas, maior será a proteção dos frutos contra a radiação solar. Em pesquisa com o objetivo de determinar genitores e combinações híbridas mais promissoras de tomateiro industrial, o mesmo autor classificou a cobertura foliar das plantas em uma escala de notas em que 1 indicava enfolhamento médio entre 1 a 20% enquanto que a nota 5, o enfolhamento das plantas era maior que 80%. A nota média de enfolhamento dos genótipos avaliados foi de 3,29, sendo 4,77 a maior e 1,63, a menor nota. No trabalho não foi observada nenhuma nota média igual a 5,0 entre os genótipos, mas, de acordo com o autor, alguns genótipos se aproximaram deste valor, indicando bom enfolhamento das plantas.

Assim como os atributos discutidos anteriormente, o pegamento de fruto, por afetar diretamente a produção final, também se enquadra como característica relevante para a cultura. Os resultados obtidos para esse caractere encontram-se na Tabela 6. A média entre os genótipos variou de 3,0 para a cultivar TSW-10 e 5,0 para a linhagem TPN0194. Conforme Melo et al. (2016), para a maximização de pegamento de fruto, a temperatura e a umidade são variáveis que afetam o tomateiro. A faixa ótima de temperatura diurna é de 19 a 24 °C e a noturna de 14 a 17 °C. Já para a umidade relativa, a faixa ótima oscila entre 60 a 80%. Entretanto, temperaturas noturnas abaixo de 10 °C e superiores a 20 °C afetam a frutificação, devido o desenvolvimento de óvulos e a mobilidade dos grãos de pólen ser afetada ocasionando aborto de botões florais. Sob temperaturas superiores a 25 °C e inferiores a 12 °C a fecundação é deficiente ou nula; e em umidade relativa muito elevada, dificulta a fecundação devido o pólen ficar compactado, resultando no abortamento de parte das flores. Por outro lado, umidade relativa muito baixa dificulta a fixação do pólen ao estigma da flor, reduzindo o índice de pegamento do fruto.

O período de florescimento e polinização dos frutos do presente estudo se deu no mês de agosto que, por sua vez, apresentou temperatura média de 12,35 °C (Tabela 1), no entanto, houve dias em que as temperaturas mínimas atingiram valores abaixo de 10 °C. O mesmo observou-se para a umidade relativa, em que a média foi de 67,29%, porém, a mínima atingiu 50%. Nesse sentido, torna-se evidente que os resultados obtidos para o caractere pegamento de fruto foram fortemente influenciados por essas variáveis. Contudo, tal suposição não deve ser generalizada, uma vez que genótipos de tomateiro, quando submetidos a temperaturas elevadas, por exemplo, respondem de maneira diferenciada quanto à intensidade do abortamento dos frutos (Rudick et al., 1977; Shelby et al., 1978; Pereira, 1986; Dane et al., 1991; Abdul-Baki e Stommel, 1995).

Quanto aos valores obtidos para as cultivares Nemadoro e IPA-6, merece destaque que, quando da avaliação desses caracteres, com as plantas já adultas (85 dias após transplante), por ser as cultivares testemunhas do experimento e, portanto, suscetíveis à tospovirose, as plantas das parcelas desses materiais já se encontravam comprometidas pela doença (Figura 6). German et al. (1992) corroboram com os resultados desfavoráveis obtidos para essas cultivares ao evidenciar que o vira-cabeça do tomateiro causa mosaico, arroxamento ou bronzeamento nas folhas, nanismo, deformação foliar, necrose severa das hastes e das folhas, e, muito frequentemente, morte da planta. Tais sintomas são semelhantes aos encontrados por Lourenção et al. (1999) que, ao avaliar a resistência a tospovírus de linhagens avançadas do programa de melhoramento de tomateiro do Instituto Agrônômico (IAC), utilizaram a cultivar IPA-6 como testemunha suscetível a doença. Na primeira avaliação aos 45 dias do transplante, IPA-6 apresentava 57,2% de infecção; passados 35 dias, na avaliação final, a cultivar atingiu 100% de infecção e tinha a maioria das plantas mortas. Nesse sentido, torna-se válido evidenciar que os demais genótipos do presente trabalho, portadores do gene *Su-5*, não foram infectados pela virose, e, portanto, os resultados obtidos para esses caracteres não foram influenciados pelos sintomas descritos anteriormente.

Figura 6. Parcela do experimento de genótipo portador do gene *Su-5* (esquerda) e parcela de genótipo suscetível a tospovirose (direita) quando da avaliação dos caracteres relacionados à parte aérea do tomateiro realizada aos 85 dias após transplante das mudas no campo. Piracicaba, ESALQ, 2016.

De modo geral, o uso de híbridos F1 de tomate em sistema convencional propicia aumentos potenciais na produção de até 40%, maturação precoce, maior uniformidade, maior vigor inicial e de desenvolvimento, melhor qualidade, resistência a doenças e capacidade de

adaptação mais ampla (Melo et al., 1998). Sendo assim, é extremamente importante a obtenção e manutenção de linhagens e populações que apresentem características de plantas desejáveis aos melhoristas como níveis variáveis de resistência às principais pragas e doenças da cultura do tomateiro, bem como características de frutos que atendam às exigências do mercado consumidor constituindo-se, portanto, germoplasma de valor para melhoramento genético do tomateiro.

3.2. Caracteres relacionados ao fruto

Os resultados da análise de variância para os caracteres massa média do fruto (MMF), comprimento (C), diâmetro (D) e razão do comprimento e diâmetro (R C/D) do fruto, tamanho da cicatriz peduncular (CP), forma da base (FB), espessura do pericarpo (EP), firmeza do fruto (FF) e número de lóculos (NL), com os valores quadrados médios e suas respectivas significâncias, bem como os coeficientes de variação, estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7. Quadrados médios (QM) e coeficiente de variação (CV%) da análise de variância para massa média do fruto (MMF), comprimento (C) e diâmetro (D) de fruto, razão comprimento e diâmetro de fruto (R C/D), tamanho da cicatriz peduncular (CP), forma da base do fruto (FB), espessura do pericarpo (EP), firmeza do fruto (FF) e número de lóculos do fruto (NL). Piracicaba, ESALQ, 2016.

	GL	QM								
		MMF	C	D	R C/D	CP	FB	EP	FF	NL
Blocos	2	29,17940ns	0,02708ns	0,00100ns	0,00108ns	0,12337ns	0,00397ns	0,28086ns	5,96466ns	0,07608ns
Tratamentos	15	1661,1098**	0,79280**	0,86633**	0,05755**	5,41172**	1,36655**	0,22639 ns	117,05542**	0,86364**
Resíduo	30	96,85446	0,05403	0,04477	0,00155	0,28275	0,01396	0,15447	6,05789	0,03674
CV%		9,60	3,88	3,85	3,57	6,22	9,33	5,33	5,86	7,03

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Para todos os caracteres relacionados ao fruto, exceto espessura do pericarpo, foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos (Tabela 8), discriminadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, de modo que os genótipos de tomateiro apresentaram comportamento distinto em relação às avaliações relacionadas ao fruto estudadas neste trabalho.

Tabela 8. Massa média do fruto (MMF) expresso em gramas, comprimento (C) e diâmetro (D) de fruto expressos em centímetros, razão comprimento e diâmetro de fruto (R C/D), tamanho da cicatriz peduncular (CP) expresso em milímetros, forma da base do fruto (FB), espessura do pericarpo (EP) expressa em milímetros, firmeza do fruto (FF) expressa em Newton e número de lóculos do fruto (NL). Piracicaba, ESALQ, 2016.

Genótipos	MMF		C		D		C/D		CP		FB		EP		FF		NL	
TPN0191	101,71	c	6,30	bcd	5,32	cde	1,18	bc	7,70	cd	1,00	c	7,38	a	49,59	ab	2,33	defg
TPN0252	87,16	c	5,30	efg	5,34	cde	0,99	ef	8,05	cd	1,00	c	7,49	a	51,60	a	2,73	cdefg
TPN0254	95,15	c	5,94	cdef	5,29	cde	1,13	bcd	7,91	cd	1,00	c	7,51	a	44,48	abcde	2,30	efg
TPN0193	104,48	c	6,79	ab	5,17	de	1,32	a	7,79	cd	1,00	c	7,70	a	45,30	abcde	2,43	cdefg
TPN0194	86,75	c	5,65	defg	5,23	cde	1,08	cde	7,61	cd	1,00	c	7,16	a	38,26	efg	2,40	cdefg
TPN0196	99,03	c	6,29	bcd	5,29	cde	1,20	bc	7,82	cd	1,00	c	7,36	a	40,27	cdefg	2,27	fg
TPN0202	108,26	bc	7,03	a	5,27	cde	1,34	a	8,24	cd	1,00	c	7,37	a	45,80	abcd	2,50	cdefg
TPN0208	81,51	c	5,19	g	5,24	cde	0,99	ef	8,11	cd	1,00	c	8,03	a	43,90	bcdef	2,97	bc
TPN0210	101,99	c	5,24	fg	5,81	bc	0,91	f	8,89	c	1,17	c	7,14	a	39,77	defg	2,87	bcde
TPN0214	103,70	c	5,90	cdef	5,67	cd	1,04	de	9,02	c	1,00	c	7,54	a	41,02	cdefg	2,80	bcdef
TPN0234	89,51	c	5,90	cdef	5,22	cde	1,14	bcd	7,23	d	1,00	c	7,48	a	43,39	bcdef	2,60	cdefg
TPN0240	85,60	c	5,86	cdefg	5,25	cde	1,12	bcd	8,52	cd	1,00	c	6,98	a	43,60	bcdef	2,91	bcd
TSW-10	176,28	a	6,23	bcd	7,08	a	0,89	f	12,50	a	3,27	a	7,05	a	25,56	h	4,37	a
Stevens	134,99	b	5,84	cdefg	6,41	b	0,92	f	10,86	b	2,67	b	7,27	a	35,14	g	3,37	b
Nemadoro	84,94	c	6,00	cde	5,02	e	1,20	bc	7,93	cd	1,00	c	7,02	a	36,90	fg	2,20	g
IPA-6	98,75	c	6,36	abc	5,23	cde	1,22	ab	8,51	cd	1,17	c	7,52	a	47,47	abc	2,60	cdefg
DMS	29,94		0,71		0,64		0,12		1,62		0,36		1,20		7,49		0,58	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao caractere massa média do fruto, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, foram observadas diferenças significativas entre as linhagens, o que demonstra que há variabilidade genética entre os genótipos estudados. Os valores obtidos para a massa média dos frutos variou de 81,51 g fruto⁻¹ para o genótipo TPN0208 e 176,28 g fruto⁻¹ para a cultivar TSW-10, evidenciando diferença de 53,76% de massa entre esses genótipos. As maiores médias foram observadas para as cultivares TSW-10 e Stevens, com 176,28 g fruto⁻¹ e 134,99 g fruto⁻¹, respectivamente, fato justificável pela característica varietal de frutos pluriloculares e, portanto, de maior calibre. Resultados semelhantes foram observados por Souza et al. (2001) para tomates pluriloculares que apresentaram valores de massa média do fruto de 196 g fruto⁻¹.

Em relação aos frutos de formato piriforme, apresentados pelo genótipo TPN0202, este apresentou média numérica superior das demais, com 108,26 g fruto⁻¹, porém, inferior a cultivar TSW-10. Resultados similares foram descritos por Resende & Costa (2000) que avaliaram frutos do híbrido Hypeel 108 (piriforme) e obtiveram 101,54 g fruto⁻¹, mas observaram que as cultivares mais produtivas produziram frutos com baixo valor de massa média e maior número de frutos por planta. O mesmo foi verificado no presente trabalho para o genótipo TPN0208 que apresentou o menor valor para o caractere massa média do fruto, porém elevado número de frutos comerciais (Figura 7). Entretanto, merece registro destacar que o fruto não deve possuir

diâmetro inferior a 3 cm, o que acarretaria na diminuição do rendimento no processo de colheita (Giordano et al., 2000a).

Figura 7. Gráfico de combinação dos resultados dos caracteres número de frutos comerciais (NFC) e massa média do fruto (MMF). Piracicaba, ESALQ, 2016.

Para os atributos comprimento e diâmetro do fruto, foi verificado que as médias variaram de 5,19 cm para o genótipo TPN0208 e 7,03 cm para o genótipo TPN0202 (comprimento), e 5,02 cm para a cultivar Nemadoro e 7,08 cm para a cultivar TSW-10 (diâmetro) de acordo com os resultados apresentados na Tabela 8. Ademais, foi possível notar que as cultivares TSW-10 e Stevens, com médias de 7,08 e 6,41 cm, respectivamente, diferenciaram-se estatisticamente em relação aos demais genótipos e entre si, no entanto, embora diferindo tamanho, tal fato é justificado por serem classificados como frutos de formato redondo, inseridos nos grupos Salada ou Caqui, caracterizados por frutos pluriloculares, formato globular achatado, com diâmetro transversal maior que o diâmetro longitudinal. Para frutos oblongos, estes são inseridos nos grupos Saladete ou Santa Cruz, que se caracterizam por frutos alongados, com diâmetro transversal de 3 a 5 cm, cor vermelha intensa, bi ou triloculares (Alvarenga et al., 2013).

Quanto à razão entre o comprimento e o diâmetro, que se traduz no formato do fruto, de acordo com a Tabela 8, as médias variaram de 0,89 para a cultivar TSW-1013 e 1,34 para a linhagem TPN0202. Os genótipos TPN0210, TSW-10 e Stevens diferiram estatisticamente das demais linhagens por apresentar valores mais inferiores a 1. Esse resultado indica frutos redondos (Figura 8), devido o diâmetro ter se mostrado maior que o comprimento. Já para os genótipos que apresentaram valores superiores a 1, observou-se frutos de formato oblongos ou piriformes (Figura 8), em que o comprimento do fruto se mostrou maior que o diâmetro.

Figura 8. Formato dos frutos classificados em piriforme (esquerda); redondo (centro) e oblongo (direita), representados pelos genótipos TPN0202, TPN0210 e TPN0234, respectivamente.

Quanto ao caractere forma da base (cicatriz do pistilo), verificou-se que as médias diferiram estatisticamente apenas para as cultivares TSW-10 e Stevens, que diferiram entre si. Esse fato se justifica, pois, a cultivar TSW-10 apresentou forma da base do tipo irregular e a cultivar Stevens, do tipo estrela, conforme descrito na Figura 3. Deve ser destacado que, além das outras características que influenciam na qualidade dos frutos, o formato da cicatriz pistilo também deve ser levado em consideração. Segundo Pérez (2005) os atributos externos do fruto que podem ser facilmente percebidos, como a cicatriz do pistilo, determinam a aceitação inicial pelo consumidor, interferindo na sua decisão de compra.

Em relação ao caractere tamanho da cicatriz peduncular, as médias variaram de 7,23 mm para o genótipo TPN0234 e 12,50 mm para a cultivar TSW-10, sendo que essa última diferiu estatisticamente dos demais genótipos por apresentar resultado superior. No entanto, de acordo com Leal & Mizubuti (1975), a maior redução de massa dos frutos de tomateiro está relacionada ao maior tamanho de cicatriz peduncular, sendo que esse decréscimo de massa, baseado na perda de água dos frutos, ocorre devido alta taxa de respiração do tomateiro verificada pela cicatriz peduncular. Nesse sentido, Sobreira et al. (2009), ao estudarem a pós-colheita de tomate tipo salada, observaram que o menor diâmetro da cicatriz do pedúnculo correlacionou-se com a maior resistência na pós-colheita, devido à redução da perda de água.

Quanto à espessura do pericarpo, notou-se que as médias variaram de 6,98 mm para a linhagem TPN0240 e 8,03 mm para a linhagem TPN0208. No entanto, as médias obtidas não diferiram estatisticamente entre si, apresentando homogeneidade entre os genótipos para esse caractere. Mesmo não diferindo entre os resultados, os genótipos estudados apresentaram valores

superiores aos encontrados por Souza et al. (2011) que, ao avaliar a espessura do pericarpo de diferentes genótipos de tomateiros pertencentes ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFRR, encontraram valores de 6,47 e 6,22 mm. Já Barrett et al. (1998), trabalhando com cultivares de tomate para processamento, verificaram espessuras médias do pericarpo entre 5,5 e 8,2 mm para tomates maduros. De acordo com Kumari & Sharma (2011), frutos com pericarpos mais espessos são capazes de resistir mais ao transporte à longa distância, e permanecerem mais firmes por um período mais longo, conferindo, portanto, maior durabilidade ao fruto.

Para o atributo firmeza do fruto, as médias variaram de 25,53 N para a cultivar TSW-10 e 51,60 N para o genótipo TPN0252. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, para a cultivar TSW-10 verificou-se diferença significativa das demais, ao apresentar o menor resultado, já que, quando comparado com o genótipo TPN0252, que se destacou como mais firme, se apresentou 50,46% menos firme quando submetido à leitura do penetrômetro digital. O amolecimento ou perda de firmeza do fruto resulta da solubilização das substâncias pécicas da parede celular pela ação da pectinametilesterase e poligalacturonase, cujas atividades estão aumentadas no início do amadurecimento e na senescência (Vilas Boas et al., 2000). Ademais, a firmeza do fruto está relacionada à nutrição da planta, disponibilidade de água no solo, estágio de maturação e características genéticas do fruto, que por sua vez, determinam a resistência da epiderme, textura do pericarpo, tecido da placenta e da estrutura interna do fruto (Wien, 1997; Suslow & Cantwell, 2003), além do tamanho da cicatriz peduncular. Essa última, como visto anteriormente, por facilitar perda de água, contribui também para tornar os frutos de tomates menos consistentes, justificando uma das causas do baixo resultado obtido no presente trabalho para as cultivares TSW-10 e Stevens em relação a esse caractere.

Quanto ao atributo número de lóculos, conforme a Tabela 8, as médias variaram de 2,20 para a cultivar Nemadoro e 4,37 para a cultivar TSW-10. Nota-se que a testemunha comercial Nemadoro diferiu estaticamente dos demais genótipos por apresentar menor média. Já para a testemunha comercial TSW-10, ocorreu o inverso, apresentando maior média entre os genótipos. Tais resultados são justificados em razão do fruto apresentar mais ou menos lóculos. No caso da cultivar Nemadoro, como característica intrínseca genética do fruto, esse, de forma geral, se caracteriza por ser bilocular. Já a cultivar TSW-10, se caracteriza por ser plurilocular, apresentando quatro lóculos ou mais (Figura 9).

Figura 9. Frutos pluriloculares da cultivar TSW-10 (esquerda) e frutos biloculares da cultivar Nemadoro (direita). Piracicaba, ESALQ, 2016.

Diante dos resultados obtidos para os caracteres que se relacionam ao formato do fruto, deve ser ressaltado que, a domesticação do tomateiro proporcionou o aumento no tamanho dos seus frutos, além de expressiva variação no seu formato (Tanksley, 2004).

3.3. Caracteres relacionados à produção

Os resultados da análise de variância para os caracteres produção total (PT) expressa em quilogramas, número total de frutos (NTF), produção descartada (PD) expressa em quilogramas, número de frutos descartados (NFD), produção comercial (PC) expressa em quilogramas, número de frutos comerciais (NFC), com os valores quadrados médios e suas respectivas significâncias, bem como os coeficientes de variação, estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 9. Quadrados médios (QM) e coeficiente de variação (CV%) da análise de variância para produção total (PT), número total de frutos (NTF), produção descartada (PD), número de frutos descartados (NFD), produção comercial (PC), número de frutos comerciais (NFC). Piracicaba, ESALQ, 2016.

	GL	QM					
		PT	NTF	PD	NFD	PC	NFC
Blocos	2	3466709,05748 ns	736,12239 ns	234063,04814 ns	148,64396 ns	1575573,05093ns	1372,68250 ns
Tratamentos	15	25291552,8303**	10538.15576**	1219498,70607 ns	1347,38243**	25356907,8977**	10606,34083**
Resíduo	30	5613393,22303	1063,11292	1175018,27025	337,85951	4645661,80975	1416,70917
CV%		14,53	11,64	27,27	21,78	17,20	19,76

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Para todos os caracteres relacionados à produção, exceto produção descartada, foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos (Tabela 10), discriminadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, de modo que os genótipos de tomateiro apresentaram comportamento distinto.

Tabela 10. Produção total (PT), número total de frutos (NTF), produção descartada (PD), número de frutos descartados (NFD), produção comercial (PC), número de frutos comerciais (NFC). Valores de massa expressos em quilogramas. Piracicaba, ESALQ, 2016.

Genótipos	PT		NTF		PD		NFD		PC		NFC	
TPN0191	17,75	a	280,33	bcde	4,79	a	91,00	ab	12,96	a	189,33	abcde
TPN0252	16,32	ab	329,67	abc	2,64	a	75,67	ab	13,68	a	254,00	abc
TPN0254	15,70	ab	296,33	abcd	3,48	a	82,33	ab	12,22	a	214,00	abcd
TPN0193	18,02	a	298,33	abcd	3,29	a	72,00	ab	14,73	a	226,33	abcd
TPN0194	15,15	ab	297,33	abcd	4,28	a	90,67	ab	12,25	a	175,67	bcde
TPN0196	16,12	ab	244,33	cdef	4,34	a	71,33	ab	11,78	ab	173,00	bcde
TPN0202	18,24	a	274,00	bcde	4,36	a	86,67	ab	13,88	a	187,33	abcde
TPN0208	18,03	a	393,00	a	3,52	a	91,67	ab	14,52	a	301,33	a
TPN0210	16,02	ab	278,92	bcde	3,52	a	71,00	ab	12,51	a	191,67	abcde
TPN0214	18,83	a	348,00	ab	3,20	a	85,33	ab	15,63	a	262,67	ab
TPN0234	17,42	a	318,67	abcd	5,00	a	111,33	a	12,42	a	207,33	abcd
TPN0240	18,09	a	320,00	abcd	4,33	a	97,37	ab	13,76	a	222,80	abcd
TSW-10	17,27	a	162,33	f	3,95	a	41,67	b	13,32	a	120,67	de
Stevens	18,97	a	194,00	ef	4,18	a	49,33	b	14,79	a	144,67	cde
Nemadoro	9,46	b	226,28	def	4,50	a	116,00	a	5,62	b	85,33	e
IPA-6	9,44	b	221,72	def	4,22	a	117,00	a	5,22	b	91,67	e
DMS	7,21		99,21		3,30		55,93		6,56		114,52	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados da análise de variância para os caracteres produção total (PT ha⁻¹), produção comercial (PC ha⁻¹), produção descartada (PD ha⁻¹), expressos em toneladas por hectare, com os valores quadrados médios e suas respectivas significâncias, bem como os coeficientes de variação, estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11. Quadrados médios (QM) e coeficiente de variação (CV%) da análise de variância para produção total (PT ha⁻¹), produção comercial (PC ha⁻¹), produção descartada (PD ha⁻¹). Piracicaba, ESALQ, 2016.

	GL	QM		
		PT ha-1	PC ha-1	PD ha-1
Blocos	2	24,01446 ns	12,15719 ns	1,99989 ns
Tratamentos	15	159,68194**	195,65513**	11,07588 ns
Resíduo	30	35,45802	35,84615	10,21758
CV%		12,92	17,2	28,35

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Para todos os caracteres relacionados à produção, expressos em toneladas por hectare, exceto produção descartada que não apresentou diferença significativa entre os genótipos, para os demais, foram observadas diferenças significativas entre as médias dos tratamentos (Tabela 12), discriminadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 12. Produção total (PT ha⁻¹), produção comercial (PC ha⁻¹), produção descartada (PD ha⁻¹). Valores expressos em toneladas por hectare. Piracicaba, ESALQ, 2016.

Genótipos	PT ha-1	PC ha-1	PD ha-1
TPN0191	49,31 a	36,00 a	13,30 a
TPN0252	45,34 abc	38,00 a	7,34 a
TPN0254	43,61 abc	33,94 a	9,67 a
TPN0193	50,06 a	40,92 a	9,15 a
TPN0194	47,27 ab	34,02 a	13,24 a
TPN0196	44,77 abc	32,72 ab	12,05 a
TPN0202	50,67 a	38,56 a	12,11 a
TPN0208	50,09 a	40,32 a	9,77 a
TPN0210	47,37 ab	37,06 a	10,31 a
TPN0214	52,30 a	43,41 a	8,89 a
TPN0234	48,40 a	34,50 a	13,90 a
TPN0240	50,26 a	38,24 a	12,02 a
TSW-10	47,97 a	36,99 a	10,98 a
Stevens	52,69 a	41,09 a	11,60 a
Nemadoro	29,27 bc	15,62 b	13,65 a
IPA-6	27,85 c	15,42 b	12,43 a
DMS	18,12	18,22	9,73

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para o caractere produção total dos frutos, expresso em quilogramas, de acordo com a Tabela 10, verificou-se que as médias variaram de 18,97 kg para a cultivar Stevens e 9,44 kg para a cultivar IPA-6. Ainda, é possível observar que os resultados se agruparam em três grupos: de valores superiores (TPN0191, TPN0193, TPN0202, TPN0208, TPN0214, TPN0234, TPN0240, TSW-10, Stevens), medianos (TPN0252, TPN0254, TPN0194, TPN0196) e inferiores (Nemadoro e IPA-6). As cultivares Nemadoro e IPA-6, quando comparadas com a cultivar Stevens, apresentaram perdas de 9,51 kg (50,13%) e 9,53 kg (50,24%), respectivamente. Esse fato é justificável uma vez que a cultivar Stevens é portadora do gene *Su-5*, e, portanto, resistente ao vira-cabeça do tomateiro, no entanto, as cultivares Nemadoro e IPA-6, por não carregarem esse gene, nas condições desse estudo, elas mostraram-se fortemente afetadas pela doença. Para esse mesmo caractere, quando expresso em toneladas por hectare (Tabela 12), observou-se que o comportamento dos genótipos basicamente se manteve, sendo possível verificar que as médias

variaram de 52,69 t ha⁻¹ para a cultivar Stevens e 27,85 t ha⁻¹ para a cultivar IPA-6. Peixoto et al. (1999), em pesquisa como objetivo avaliar cultivares de tomate para processamento em diferentes condições edafoclimáticas do estado de Goiás, obtiveram resultados de produção das cultivares Nemadoro e IPA-6 superiores as encontradas nesse trabalho, sendo, 27,60 e 35,93 t ha⁻¹, respectivamente. Nesse sentido, tais resultados estão de acordo com a premissa de que, quando infectadas pelo tospovírus, essas cultivares tem o seu potencial produtivo diminuído, reduzindo drasticamente a produção e qualidade dos frutos, acarretando em prejuízo para o produtor. Em relação às linhagens experimentais, notou-se que os valores obtidos para produção total se assemelham aos obtidos pelas linhagens comerciais resistentes, não sendo afetadas pela doença, devido presença do gene *Su-5*. No entanto, dos 796,21 kg totais de frutos produzidos, para as 288 plantas de tomateiros cultivadas, observou-se perda de 24,47%, que resultou do somatório das condições adversas ocorridas durante experimento, presença e ataque de pragas e doenças, além da própria perda ocasionada pela tospovirose nas cultivares suscetíveis, como visto anteriormente.

Quanto ao caractere número de frutos não comerciais, ou seja, número de frutos que de alguma forma estavam danificados por sintomas de doenças, pragas, distúrbios fisiológicos e/ou danos mecânicos, as médias variaram de 117,0 para a cultivar IPA-6 e 41,67 para a cultivar TSW-10, sendo que, dos 13.450 frutos produzidos, 30,86% desse montante foi classificado como frutos descartados. De acordo com os resultados, notou-se que as médias se agruparam em três grupos. Para os genótipos TPN0234, Nemadoro e IPA-6, verificou-se que estes foram significativamente superiores aos demais por apresentar elevados valores de frutos danificados. Tal fato se justifica, no caso das cultivares Nemadoro e IPA-6, pela presença da tospovirose infectando a planta, visível nos frutos através de lesões irregulares, deprimidas e secas quando verdes e, manchas amarelas concêntricas, quando maduros. Já em relação ao genótipo TPN0234, o elevado resultado obtido provavelmente ocorreu devido comportamento tardio do genótipo. Durante a condução do experimento, notou-se que, por ocasião da primeira e segunda colheita, esse genótipo apresentava seus frutos imaturos e, diferentemente dos demais, ainda exibia frutos em processo de amadurecimento na sexta colheita. Sendo assim, por permanecer mais tempo na planta, os frutos ficaram mais expostos às pragas e doenças, além das condições ambientais adversas, elevando assim, o número de frutos descartados.

Para o caractere massa de frutos não comerciais, ou seja, produção descartada, as médias variaram de 2,64 kg para o genótipo TPN0252 e 5,00 kg para o genótipo TPN0234. No entanto, conforme os resultados apresentados na Tabela 10 verificou-se que não houve diferença estatística entre eles. O mesmo se observou quando os valores foram expressos em toneladas por

hectare (Tabela 12), com as médias variando de 13,90 t ha⁻¹ para o genótipo TPN0234 e 7,34 t ha⁻¹ para o genótipo TPN0252.

Para o atributo número de frutos comerciais, verificou-se que o genótipo TPN0208 apresentou resultado numérico superior em relação aos demais genótipos por apresentar média elevada de 301,33 frutos comerciais, frente as cultivares Nemadoro e IPA-6 (85,33 e 91,67 frutos, respectivamente) que apresentaram as menores médias, devido plantas afetadas pela tospovirose. Já em relação à média elevada do genótipo TPN0208, esta é justificada pelos frutos de massa média inferior, como visto na Tabela 8, sendo que, quando comparado com a cultivar Nemadoro, que apresentou a menor média, tem-se que a produção de frutos do genótipo TPN0208 foi 71,68% superior durante o ciclo de cultivo.

Quanto ao caractere produção comercial, as médias variaram de 15,63 kg para o genótipo TPN0214 e 5,22 kg para a cultivar IPA-6, sendo que esse último, assim como a Nemadoro, diferiu estatisticamente dos demais genótipos, com exceção do genótipo TPN0196, por apresentar média inferior. Quando expressos em toneladas por hectare, notou-se que as médias variaram de 43,41 t ha⁻¹ para o genótipo TPN0214 e 15,42 t ha⁻¹ para a cultivar IPA-6. Avaliando produção de tomate do segmento Santa Cruz, Wamser et al. (2007) reportaram média de produção de frutos não comercializáveis de 14,7 t ha⁻¹. Entretanto, além dos fatores usuais de perda que a cultura do tomateiro enfrenta, no caso da cultivar Nemadoro que apresentou perda de 68,27% de produção de frutos comerciais quando comparado com o genótipo TPN0214, é válido destacar que a tospovirose influenciou negativamente o resultado apresentado por esse. De acordo com King (2011), os tospovírus causam elevadas perdas anuais de produção, tornando-se responsáveis por grandes danos econômicos à cultura (Pozzer et al. 1996, Bezerra et al. 1999). No caso do presente estudo, verificou-se que, dos 13.450 frutos de tomates produzidos, 233 deles foram afetados pelo tospovírus, resultando em perda de 1,73% dos frutos, evidenciando, portanto, baixa porcentagem de perda, no entanto, ressaltando a importância do uso de cultivares resistentes as doenças limitantes da cultura, como o vira-cabeça do tomateiro.

3.4. Caracterização molecular

Com a genotipagem do marcador *S_w-5-2* (Dianese et al., 2010), em todos os genótipos utilizados no presente estudo (linhagens e cultivares comerciais), foram observados dois padrões de bandas de DNA (Figura 10). O primeiro grupo apresentou amplicon entre 550 pb e 600 pb que foi exibido pelas testemunhas comerciais resistentes, TSW-10 e Stevens, assim como por todas as linhagens avaliadas. Quanto ao segundo grupo, esse apresentou amplicon de,

aproximadamente, 400 pb que foi exibido pelas testemunhas comerciais suscetíveis à doença, Nemadoro e IPA-6.

Figura 10. Gel de agarose ilustrando os padrões de amplicons obtidos nos ensaios de PCR utilizando o par de *primers* 'Sw-5-2'. M: Marcador 1 kb Ladder, 1- TPN0191; 2- TPN0252; 3- TPN0254; 4- TPN0193; 5- TPN0194; 6- TPN0196; 7- TPN0202; 8- TPN0208; 9- TPN0210; 10- TPN0214; 11- TPN0234; 12- TPN0240; 13- TSW10; 14- Stevens; 15- Nemadoro e 16- IPA-6. Piracicaba, ESALQ, 2016.

De acordo com os resultados obtidos a partir da caracterização molecular dos genótipos, foi possível observar que as linhagens utilizadas no presente estudo carregam o gene *Sw-5*, o qual deve ter sido o principal responsável pela resistência a tospovírus em campo. Considerando que todas as linhagens, incluindo a TSW-10, foram derivadas de cruzamentos com a cultivar Stevens, já era esperado que todas as bandas das plantas resistentes ficassem alinhadas com a banda correspondente ao amplicon da cultivar Stevens. As bandas das plantas resistentes mostraram massa molecular de pouco mais de aproximadamente 550 pb, concordando com os resultados obtidos por Dianese et al. (2010), ao analisar perfil de amplificação da cultivar Stevens que apresentou reação de resistência ao isolado de TSWV após inoculação mecânica.

Por outro lado, as cultivares Nemadoro e IPA-6, susceptíveis à tospovírus, apresentaram bandas na faixa de 400 pb, sendo diferentes daquelas presentes nas plantas resistentes. Dessa forma torna-se evidente, que o marcador molecular utilizado foi eficiente para determinar a presença ou ausência do gene *Sw-5* nas plantas. Merece registro o fato de que o marcador em questão é do tipo codominante e poderia indicar a presença de heterozigotos. Contudo, foram encontradas somente bandas únicas, confirmando a homozigosidade do gene *Sw-5* nas linhagens avaliadas.

Enfim, tem-se que a seleção dessas linhagens em campo foi eficiente para fixar o gene *Sw-5* de resistência à tospovírus. Sendo assim, com base na análise de marcadores, pode-se inferir que todas as linhagens avaliadas possuem esse gene de resistência em estado homozigoto, corroborando a resistência ao vira-cabeça do tomateiro observada em campo.

Nesse sentido, para desenvolver e aplicar estratégias de controle para tospovirose, é necessário ter a disposição métodos de detecção rápidos, sensíveis e específicos (Debreczeni, 2015). Portanto, o uso de marcadores moleculares serve como um facilitador ao trabalho do

melhorista, colaborando com a seleção de genótipos, o que permite o aumento gradual da disponibilização de cultivares resistentes ao vira-cabeça do tomateiro.

4. CONCLUSÃO

A caracterização agronômica realizada em condições de campo corrobora os resultados da análise molecular, indicando a resistência a tospovírus nas linhagens avaliadas e, portanto, essas podem ser recomendadas para utilização como genitoras no desenvolvimento de novas cultivares de polinização aberta ou híbridos.

REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, AA; STOMMEL, JR. 1995. Pollen viability and fruit set of tomato genotypes under optimum and high-temperature regimes. *HortScience* 30(1): 115-117.
- ALVARENGA, MAR. 2013. *Tomate: Produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia*. Lavras: UFLA. 455p.
- ALVARENGA, MAR; MELO, PCT; SHIRAHIGE, FH. 2013. Cultivares de tomate de mesa. In: ALVARENGA, MAR. *Tomate: Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia*. Lavras: Editora Universitária de Lavras. p. 39-62.
- ARAGÃO, FA; RIBEIRO, CSC; CASALI, VWD; GIORDANO, LDB. 2002. Cultivo de embriões de tomate in vitro visando a introgressão de genes de *Lycopersicon peruvianum* em *L. esculentum*. *Horticultura brasileira* 20: 605-610.
- ARAMBURU, J; MARTI, M. 2003. The occurrence in north-east Spain of a variant of Tomato spotted wilt virus (TSWV) that breaks resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum*) containing the *Sw-5* gene. *Plant Pathology* 52: 407.
- ARAÚJO, M; DE ÁVILA, A; CUPERTINO, F; MALUF, W. 1983. *Lycopersicon hirsutum* nova fonte de resistência ao vírus do vira-cabeça (TSWV). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. *Resumos...* Rio de Janeiro: SOB. p. 164.
- BAI, Y; LINDHOUT, P. 2007. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? *Annals of Botany* 100: 1085-1094.
- BARRETT, DM; GARCIA, E; WAYNE, JE. 1998. Textural modification of processing tomatoes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38(3): 173-258.
- BELKHADIR, Y; SUBRAMANIAM, R; DANGL, JL. 2004. Plant disease resistance protein signaling: NBS-LRR proteins and their partners. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 391-399.
- BERGUER, PH; ADAMNS, MJ; BARNETT, OW; BRUNT, AA; HAMMOND, J; HILL, JH; JORDAN, RL; KASHIWAZAKI, S; RYBICKI, EP; SPENCE, N; STENGER, DC; OHKI, ST; UYEDA, I; VAN ZAAZEN, A; VALKONEN, JP; VETTEN, HJ. 2005. *Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Family Potyviridae*. In: FAUQUET, CM; MAYO, MA; MAANILOFF, J; DESSELBERGER, U; BALL, LA. San Diego: Elsevier Academic Press.
- BEZERRA, I; RESENDE, R; POZZER, L; NAGATA, T; KORMELINK, R; DE AVILA, A. 1999. Increase of tospoviral diversity in Brazil with the identification of two new tospovirus species, one from chrysanthemum and one from zucchini. *Phytopathology* 89: 823-830.
- BOITEUX, L; GIORDANO, LB. 1993. Genetic basis of resistance against two Tospovirus species in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Euphytica* v:71 151-154.

- BOITEUX, L.; GIORDANO, LB; DE ÁVILA, A; SANTOS, JRM. 1993. TSW 10: Uma linhagem de tomate com resistência a três espécies de Tospovirus. *Horticultura Brasileira* 11: 163-164.
- BOITEUX, LS; FONSECA, MEN; SIMON, PW. 1999. Effects of plant tissue and DNA purification method on RAPD-based genetic fingerprinting analysis in carrot. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 124(1): 32-38.
- BOITEUX, L; FONSECA, M; GIORDANO, LB; MELO, PCT. 2012. Melhoramento Genético. In: CLEMENTE, F; BOITEUX, L. *Produção de Tomate para Processamento Industrial*. Brasília: EMBRAPA.
- BRITTLERBANK, C. 1919. Tomato diseases. *Journal of the Department of Agriculture in Victoria* 17: 1348-1352.
- BROMMONSCHENKEL, SH; FRARY, A; FRARY, A; TANKSLEY, SD. 2000. The broad-spectrum tospovirus resistance gene *Sw-5* of tomato is a homolog of the root-knot nematode resistance gene *Mi*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 1130-1138.
- CARVALHO, JOM; LUZ, JMQ; JULIATTI, FC; MELO, LC; TEODORO, REF; LIMA, LML. 2003. Desempenho de famílias e híbridos comerciais de tomateiro para processamento industrial com irrigação por gotejamento. *Horticultura Brasileira* 21(3): 525-533.
- CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. Normas de classificação do tomate. 2016, 27 de maio. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2015/07/tomate.pdf>>.
- CHEN, CC; CHIU, RJ. A tospovirus infecting peanut in Taiwan. 1996. *Acta Horticulturae* 431: 57-67.
- CHO, JJ; CUSTER, DM; BROMMONSCHENKEL, SH; TANKSLEY, SD. 1996. Conventional breeding: host-plant resistance and the use of molecular markers to develop resistance to tomato spotted wilt virus in vegetables. *Acta Horticulturae* 431: 367-378.
- COLARICCIO, A; EIRAS, M; CHAVES, ALR; LOURENÇÃO, AL; MELO, AMT; SIQUEIRA, WJ. 2000. Detecção do “Chrysanthemum stem necrosis virus” em tomateiro no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica* 25: 252-254.
- COLARICCIO, A; EIRAS, M; CHAVES, ALR; ROGERO, P; CHAGAS, CM. 2001. Diversidade de tospovírus em olerícolas no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica* 27: 177-182.
- CRESCENZI, A; FANIGLIULO, A; VIGGIANO, A. 2013. Resistance breaking tomato spotted wilt virus isolates on resistant tomato varieties in Italy. In: 4TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TOMATO DISEASES AND THE 28TH U.S ANNUAL TOMATO DISEASE WORKSHOP.

- DANE, F; HUNTER, AG; CHAMBLISS, OL. 1991. Fruit set, pollen fertility, and combining ability of selected tomato genotypes under high-temperature field conditions. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116(5): 906-910.
- DE ÁVILA, A; HAAN, PD; KITAJIMA, E; KORMELINK, R; RESENDE, R; GOLDBACH, R; PETERS, D. 1992. Characterization of a distinct isolate of tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Impatiens* sp. in the Netherlands. *Journal of Phytopathology* 134: 133-151.
- DE ÁVILA, AC. 1993. Vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV): organização do genoma, taxonomia, diagnose e controle. *Horticultura Brasileira*, 11: 179-183.
- DE ÁVILA, AC; POZZER, L; BEZERRA, I; KORMELINK, R; PRINS, M; PETERS, D; NAGATA, T; KITAJIMA, E; RESENDE, R. 1998. Diversity of tospoviruses in Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TOSPOVIRUSES AND THRIPS IN FLORAL AND VEGETABLE CROPS, 4., 1998, Wageningen. *Abstracts...* Wageningen. p. 32-34.
- DEBRECZENI, DE. 2015. *Caracterización de aislados del virus del bronceado del tomate (TSWV) que superan las resistencias de los genes Sw-5 en tomate y Tsw en pimiento. Identificación de una fuente de tolerancia en pimiento*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia. 110p (Tese de doutorado).
- DIANESE, EC; FONSECA, MEN; GOLDBACH, R; KORMELINK, R; INOUE-NAGATA, AK; RESENDE, RO; BOITEUX, LS. 2010. Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the *Sw-5* (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Molecular Breeding* 25: 33-142.
- DIANESE, EC; FONSECA, MEN; INOUE-NAGATA, AK; RESENDE, RO; BOITEUX, LS. 2011. Search in *Solanum* (section *Lycopersicon*) germplasm for sources of broad-spectrum resistance to four Tospovirus species. *Euphytica*, 180: 307-319.
- DIAZ-PENDON, JA; TRUNIGER, V; NIETO, C; GARCIA-MAS, J; BENDAHDANE, A; ARANDA, MA. 2004. Advances in understanding recessive resistance to plant viruses. *Molecular Plant Pathology* 5: 223-233.
- DÍEZ, M; ROSELLÓ, S; JORDÁ, C; LACASA, A; COSTA, J; NUEZ, F. 1995. Agronomic behaviour of resistant tomato cvs. and lines to TSWV and influence of inoculation methods. *Acta Horticulturae* 402: 527-532.
- FAOSTAT - The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. 2016, 02 de abril. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>.
- FIGUEIREDO, AST. 2013. *Capacidade de combinação e divergência genética de linhagens de tomateiro com aptidão industrial*. Guarapuava: Universidade Estadual do Centro-Oeste (Dissertação de mestrado).
- FINLAY, K. 1953. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. *Australian journal of biological sciences* 6: 153-163.

- FRANCKI, RIB; HATTA, T. Tomato spotted wilt virus. 1981. In: KURSTAK, E. Handbook of plant virus infections: comparative diagnosis. Amsterdam: Elsevier/NorthHolland Biomedical Press. p.491-512.
- GERMAN, TL; ULLMAN, DE; MOYER, JW. 1992. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. *Annual review of phytopathology* 30: 315-348.
- GIORDANO, LB; RIBEIRO, CS. 2000a. Origem, botânica e composição química do fruto. In: SILVA, JBC; GIORDANO, LB. Tomate para processamento industrial. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. p. 12-17.
- GIORDANO, LB; SILVA, JBC; BARBOSA, V. 2000b. Escolha de cultivares e plantio. In: SILVA, JBC; GIORDANO, LB. (Org.) Tomate para processamento industrial. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia p. 36-59.
- GOLDBACH, R; PETERS, D. 1994. Possible causes of the emergence of tospovirus diseases. In: SEMINARS IN VIROLOGY. Elsevier. p. 113-120.
- GORDILLO, LF; STEVENS, MR; MILLARD, MA; GEARY, B. 2008. Screening two *Lycopersicon peruvianum* collections for resistance to Tomato spotted wilt virus. *Plant Disease* 92: 694-704.
- HOLMES, FO. 1948. Resistance to spotted wilt of tomato. *Phytopathology* 38: 467-473.
- ICTV - INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. 2016, 15 de setembro. Virus Taxonomy. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. 2016, 25 de março. Disponível em: [ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201502.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201502.pdf).
- IPGRI - International Plant Genetic Resources Institute 1996. Descriptors for Tomato (*Lycopersicon* spp.). 2016, 15 de agosto. Disponível em: http://www.biodiversityinternational.org/uploads/tx_news/Descriptors_for_tomato__Lycopersicon_spp.__286.pdf.
- KAWOKA, Y. 2004. *Biology of negative stranded RNA viruses: the power of reverse genetics*. New York: Springer Verlag. p. 347.
- KING, AM. 2011. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* (Vol. 9). Elsevier.

- KORMELINK, R; KITAJIMA, EW. 1991. The nonstructural protein (NSs) encoded by the ambisense S RNA segment of Tomato spotted wilt virus is associated with fibrous structures in infected plant cells. *Virology* 181: 459-468.
- KUMARI, S; SHARMA, MK. 2011. Exploitation of heterosis for yield and its contributing traits in tomato, *Solanum lycopersicum* L. *International Journal of Farm Sciences* 1(2): 45-55.
- KUROZAWA, C; PAVAN, MA. 2005. *Doenças do tomateiro* (*Lycopersicum esculentum*). In: Manual de Fitopatologia Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas. KIMATI, H; AMORIM, L; REZENDE, JAM; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, LEA. São Paulo: Ceres. p. 607-626.
- LARRY, R; JOANNE, L. 2007. Genetic resources of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) and wild relatives. In: RAZDAN, MK; MATTOO, AK. *Genetic improvement of solanaceous crops*. Enfield: Science Publisher. p. 25-75.
- LAU, D. 2001. *Análise de fatores que influenciam a resistência a tospovírus conferida pelo gene Sn-5 em tomateiro e tabaco*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa (Dissertação mestrado).
- LAW, MD; MOYER, JW. 1990. A tomato spotted wilt-like virus with a serologically distinct N protein. *Journal of General Virology* 71: 933-938.
- LE MAY, N; BOULOY, M. 2012. Antiviral escape strategies developed by bunyaviruses pathogenic for humans. *Frontiers in bioscience* 4: 1065-77.
- LEAL, NR; MIZUBUTI, A. 1975. Características e conservação natural pós-colheita de frutos de híbridos entre a introdução 'alcobaça' e alguns cultivares de tomate. *Experientiae* 19: 239-257.
- LOURENÇÃO, AL; NAGAI, H; SIQUEIRA, WJ; USBERTI FILHO, JA; MELO, A. 1997. Seleção de tomateiros resistentes a tospovírus. *Bragantia* 56: 21-31.
- LOURENÇÃO, AL; NAGAI, H; SIQUEIRA, WJ; MELLO, A; USBERTI FILHO, JA; FONTE, L; MELO, PCT. 1999. Resistência de linhagens avançadas de tomateiro a tospovírus. *Bragantia* 58(2): 293-303.
- MARTIN, GB; BOGDANOVE, AJ; SESSA, G. 2003. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annual review of plant biology* 54: 23-61.
- MELO, PCT; MIRANDA, JEC; COSTA, CP. 1998. Possibilidades do uso de híbridos F1 de tomate. *Horticultura Brasileira* 6: 4-6.
- MELO, PCT. 2007. Produção de sementes de tomate para mesa. In: CURSO SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE HORTALIÇAS, 7. *Palestras...* Brasília: Embrapa Hortaliças (CD-ROM).

- MELO, PCT. 2014. Desafios e avanços da tomaticultura de mesa em condições tropicais e subtropicais brasileiras. In: 53 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. *Palestras...* Palmas.
- MELO, PCT; NASCIMENTO, WM; FREITAS, RA. 2016. Produção de sementes de tomate. In: CURSO SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE HORTALIÇAS. *Palestras...* Brasília: Embrapa Hortaliças (CD-ROM).
- MELO, PCT. 2017. *Desenvolvimento tecnológico para o cultivo do tomateiro de mesa em condições agroecológicas tropicais e subtropicais*. Piracicaba: Universidade de São Paulo (Tese livre docência). Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/livredocencia/11/tde-30012017-150140/pt-br.php>.
- MINAMI, K; HAAG, HP. 1989. *O tomateiro*. Campinas: Fundação Cargill. 397p.
- MOUND, LA. 1996. The Thysanoptera vector species of Tospoviruses. *Acta Horticulturae* 431: 298-307.
- MOURA, AP; MICHEREFF FILHO, M; GUIMARÃES, JA; LIZ, RS. 2014. *Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial*. Brasília: Embrapa Hortaliças.
- MOYER, JW. 1999. Tospoviruses (Bunyaviridae). In: WEBSTER, R; GRANOFF, A. *Encyclopedia of Virology* (eds). London: Academic Press. p. 1803-1807.
- NAGATA, T; BOITEUX, L; IIZUKA, N; DUSI, A. 1993. Identification of phenotypic variation of tospovirus isolates in Brazil based on serological analysis and differential host response. *Fitopatologia Brasileira* 18: 425-430.
- NAGATA, T; DE ÁVILA, AC; MELO, PCT; BARBOSA, CJ; JULIATTI, FC. 1995. Occurrence of different tospoviruses species in six states of Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 20: 90-95.
- NAGATA, T; ALMEIDA, A; RESENDE, RDO; DEÁVILA, A. 2004. The competence of four thrips species to transmit and replicate four tospoviruses. *Plant Pathology* 53: 136-140.
- NAIKA, S; JEUDE, JLJ; GOFFAU, M; HILMI, M; DAM, B. 2016. A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização. Disponível em: <www.anancy.org/documents/file_pt/17-p-2006-screen.pdf>. Acessado em: 14 de fevereiro de 2016.
- ONOHAMA, SS; REIFSCHNEIDER, FJB; MOITA, AW; SOUZA, GS. 2010. Atributos de hortaliças sob a ótica de consumidores: estudo de caso do pimentão no Distrito Federal. *Horticultura Brasileira* 28: 124-132.
- PEIXOTO, N; MENDONÇA, JLD; SILVA, JBCD; BARBEDO, AS. 1999. Yield of processing tomato cultivars in Goiás State, Brazil. *Horticultura Brasileira* 17(1): 54-57.
- PEREIRA, AS. 1986. Tolerância ao calor em tomateiro. *Horticultura Brasileira* 4(1): 66.

- PEREIRA-CARVALHO, RDC; TOBAR, L; DIANESE, EDC; FONSECA-BOITEUX, MDN; BOITEUX, L. 2014. *Melhoramento genético do tomateiro para resistência a doenças de etiologia viral: avanços e perspectivas*. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1009855/1/RAPP2014Melhoramentotomatevirus.EstherFonseca.pdf>. Acessado em: 15 de agosto de 2016.
- PÉREZ, A. 2005. *Evaluación cuantitativa de cultivares de tomate y su selección según el criterio de los consumidores*. Mayabeque: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (Tese de doutorado).
- PETERS, D. 1998. An Updated List of Plant Species Susceptible to Tospoviruses and Thrips, Recent Progress: 4TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TOSPOVIRUSES AND THRIPS IN FLORAL AND VEGETABLE CROPS. Wageningen. p. 109-111.
- PICOLI, EAT. 2000. *Morfogênese in vitro e transformação genética de berinjela (Solanum melongena L. cv. Embú) mediada por Agrobacterium tumefaciens*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa (Dissertação mestrado).
- POZZER, L; RESENDE, RO; LIMA, MI; KITAJIMA, EW; GIORDANO, LB; AVILA, AC. 1996. Tospovirus, uma visão atualizada. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 4: 95-148.
- PRINS, M; GOLDBACH, R. 1998. The emerging problem of tospovirus infection and nonconventional methods of control. *Trends in microbiology* 6: 31-35.
- RANZANI, G; FREIRE, O; KINJO, T. 1966. *Carta de solos do município de Piracicaba*. Piracicaba: ESALQ/Centro de Estudos de Solos. 86 p.
- RESENDE, GM; COSTA, ND. 2000. Produtividade de tomate industrial no Vale do São Francisco. *Horticultura Brasileira*, 18(2): 126-129.
- RESENDE, RDO; POZZER, L; NAGATA, T; BEZERRA, I; LIMA, M; DE BRITO GIORDANO, L; KITAJIMA, E; DE ÁVILA, A. 1995. New tospoviruses found in Brazil. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops* 431: 78-89.
- RICK, CM. 1982. The potencial of exotic germplasm for tomato improvement. In: VASIL, IK; SCOWCROT, WR; FREY, HJ. *Plant improvement and somatic cell genetics*. New York: Academic. p.478-495.
- ROOSSINCK, MJ. 1994. Mechanisms of plant virus evolution. *Annual Review of Phytopathology* 35: 191-209.
- ROSELLÓ, S; DÍEZ, M; LACASA, A; JORDÁ, C; NUEZ, F. 1997. Testing resistance to TSWV introgressed from *Lycopersicon peruvianum* by artificial transmission techniques. *Euphytica* 98: 93-98.
- ROSELLÓ, S; SOLER, S; DIEZ, MJ; RAMBLA, JL; RICHARTE, C; NUEZ, F. 1999. New sources for high resistance of Tomato spotted wilt virus from *Lycopersicon peruvianum*. *Plant Breeding* 118: 425-429.

- RUDICK, J; ZAMSKI, E; REGEV, Y. 1977. Genotypic variation for sensitivity to high temperature in the tomato: pollination and fruit set. *Botanical Gazette* 138(4): 448-452.
- SAMUEL, G; BALD, JG; PITTMAN, HA. 1930. Investigations on “spotted wilt” of tomatoes. *Council for Scientific and Industrial Research Bulletin* 44: 64. 1930.
- SANTOS FFB; RIBEIRO A; SIQUEIRA WJ; MELO AMT. 2011. Desempenho agronômico de híbridos F1 de tomate de mesa. *Horticultura Brasileira* 29: 304-310.
- SCHOLTHOF, KBG; ADKINS, S; CZOSNEK, H; PALUKAITIS, P; JACQUOT, E; HOHN, T; HOHN, B; SAUNDERS, K; CANDRESSE, T; AHLQUIST, P. 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology* 12: 938-954.
- SCOTT, JW; STEVENS, MR; OLSON, SM. 2005. An alternative source of resistance to Tomato spotted wilt virus. *Tomato Genetics Cooperative Report* 55: 40-41.
- SHELBY, RA; GREENLEAF, WH; PETERSON, CM. 1978. Comparative floral fertility in heat tolerant and heat sensitive tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 103(6): 778-780.
- SILVA, FAZ; AZEVEDO, CAV. 2002. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais* 4(1): 71-78.
- SOBREIRA, FM; SOBREIRA, FM; FIALHO, GS; SÁNCHEZ, CFB; MATTA, FP. 2009. Análise de trilha em pós-colheita de tomate tipo salada. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 62(1): 4983-4988.
- SOUZA, AA; GRIGIO, ML; NASCIMENTO, CR; SILVA, ADCD; REGO, ER; REGO, MM. 2011. Caracterização química e física de frutos de diferentes acessos de tomateiro em casa de vegetação. *Revista Agro@mbiente On-line* 5: 113-118.
- SOUZA, JC; MALUF, WR; SOUZA SOBRINHO, F; GOMES, LAA; MORETTO, P; LICURSI, V. 2001. Características de produção e conservação pós-colheita de frutos de tomateiros híbridos portadores do alelo “alcobaça”. *Ciência e Agrotecnologia* 25: 503-509.
- SPASSOVA, MI; PRINS, TW; FOLKERTSMA, RT; KLEIN-LANKHORST, RM; HILLE, J; GOLDBACH, RW; PRINS, M. 2001. The tomato gene Sw5 is a member of the coiled coil, nucleotide binding, leucine-rich repeat class of plant resistance genes and confers resistance to TSWV in tobacco. *Molecular Breeding* 7: 151-161.
- SPOONER DM; PERALTA IE; KNAPP S. 2005. Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes *Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) *Wettst. Táxon* 54: 43-61.

- STEVENS, MR; SCOTT, S; GERGERICH, R. 1992. Inheritance of a gene for resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica* 59: 9-17.
- STEVENS, MR; SCOTT, S; GERGERICH, R. 1994. Evaluation of seven *Lycopersicon* species for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV). *Euphytica* 80: 79-84.
- STEVENS, MR; LAMB, EM; RHOADS, DD. 1995. Mapping the Sw- 5 locus for tomato spotted wilt virus resistance in tomatoes using RAPD and RFLP analyses. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 451-456.
- STEVENS, MR; HEINY, DK; RHOADS, DD; GRIFFITHS, PD; SCOTT, JW. 1996. A linkage map of the tomato spotted wilt virus resistance gene Sw-5 using near isogenic lines and an interspecific cross. *Acta Horticulturae* 431: 385-392.
- SUSLOW, TV; CANTWELL, M. 2003. Tomato: (jitomate). *Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha*. Davis: University of California. 5p.
- SUZUKI, DT; GRIFFITHS, AJF; MILLER, JH; LEWONTIN, RC. 1992. *Introdução à genética*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 663p.
- TANKSLEY SD. 2004. The genetic, developmental, and molecular basis of fruit size and shape variation in tomato. *The plant cell* 16: 181-189.
- THOMPSON, G; VAN ZIJL, J. 1995. Control of tomato spotted wilt virus in tomatoes in South Africa. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops* 431: 379-384.
- TOKESHI, H; CARVALHO, PCT. 1980. Doenças do tomateiro - *Lycopersicon esculentum* Mill. In: GALLI, F. Manual de Fitopatologia - *Doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Ceres p. 511-552.
- TSOMPANA, M. 2004. *Molecular evolution and population genetics of Tomato spotted wilt virus (TSWV)*. Raleigh: North Carolina State University (Ph.D. dissertation).
- ULLMAN, DE; WHITFIELD, AE; GERMAN, T. 2005. Thrips and tospoviruses come of age. Mapping determinants of insect transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 102: 4931-4932.
- VAN DE WETERING, F; GOLDBACH, R; PETERS, D. 1996. Tomato spotted wilt tospovirus ingestion by first instar larvae of *Frankliniella occidentalis* is a prerequisite for transmission. *Phytopathology* 86: 900-905.
- VAN REGENMORTEL, MHV; FAUQUET, CM; BISHOP, DHL; CASTENS, E; ESTES, MK; LEMON, S; MANIOFF, J; MAYO, JA; MCGEOCH, DJ; PRINGLE, CR; WICKNER, R. 2000. Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. New York: Academic Press. 1121p.

- VILAS BOAS, E; CHITARRA, AB; MALUF, WR.; CHITARRA, M. 2000. Modificações texturais de tomates heterozigotos no loco alcobaça. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(7): 1447.
- WALPITA, P; FLICK, R. 2005. Reverse genetics of negative-stranded RNA viruses: A global perspective. *Fems Microbiology Letters* 244(1): 9-18.
- WAMSER, AF; MUELLER, S; SANTOS, JP; BECKER, WF. 2007. Produção de tomate em função do espaçamento entre plantas e do número de cachos por haste no tutoramento vertical com fitilho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. *Anais...* Brasília: SOB. p. 25.
- WEBB, S; TSAI, J; MITCHELL, F. 1998. Bionomics of *Frankliniella bispinosa* and its transmission of tomato spotted wilt virus. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TOSPOVIRUSES AND THRIPS IN FLORAL AND VEGETABLE CROPS. Wageningen: *Abstracts....* p. 67.
- WIEN, H. C. 1997. *The physiology of vegetable crops*. New York: Labi Publishing. 662p.
- WIJKAMP, I; ALMARZA, N; GOLDBACH, R; PETERS, D. 1995. Distinct levels of specificity in thrips transmission of tospoviruses. *Phytopathology* 85: 1069-1074.
- WILLIAMS, L; LAMBERTINI, PL; SHOHARA, K; BIDERBOST, E. 2001. Occurrence and geographical distribution of tospovirus species infecting tomato crops in Argentina. *Plant Disease* 85: 1227-1229.
- ZERBINI, FM. 2006. Manejo de viroses: um desafio para o produtor e para o pesquisador. *Fitopatologia Brasileira* 31: suplemento.
- ZIJL, JJB. van; BOSCH, SE; COETZEE, CPJ. 1986. Breeding tomatoes for processing in South Africa. *Acta Horticulturae* 194: 69-75.