MATEUS CHEDIAK

CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E METABÓLICA DA ANTIBIOSE DE ESPÉCIES DO TOMATEIRO A *Tuta absoluta* E IMPACTO DESTAS ESPÉCIES NO PREDADOR *Blaptostethus pallescens*

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

C514c
2013

Chediak, Mateus, 1980-
Caracterização biológica e metabólica da antibiose de espécies do tomateiro a *Tuta absoluta* e impacto destas espécies no predador *Blaptostethus pallescens* / Mateus Chediak. - Viçosa, MG, 2013.
x, 73 f. : il. ; 29 cm.

Orientador : Derly José Henriques da Silva.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 67-73.

1. Tomate - Resistência a doença e pragas - Aspectos genéticos. 2. Tomate - Melhoramento genético. 3. Traça-do-tomateiro - Controle biológico. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 635.64297

MATEUS CHEDIAK

CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E METABÓLICA DA ANTIBIOSE DE ESPÉCIES DO TOMATEIRO A *Tuta absoluta* E IMPACTO DESTAS ESPÉCIES NO PREDADOR *Blaptostethus pallescens*

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 17 de agosto de 2013.

Carlos Nick Gomes

Júlio Cláudio Martins

Adriano Nunes Nesi
(Coorientador)

Marcelo Coutinho Picanço
(Coorientador)

Derly José Henriques da Silva
(Orientador)

O Freunde, nicht diese Töne!
Sondern laßt uns angenehmere
anstimmen und freudenvollere.
Freude! Freude!

Ludwig van Beethoven

AGRADECIMENTOS

À universidade federal de viçosa e aos programas de pós-graduação em Fitotecnia e Entomologia pela oportunidade de realização deste curso e confecção desta tese.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos e recursos.

Ao meu orientador Professor Derly José Henriques da Silva pela participação em minha formação e orientação.

Aos co-orientadores Adriano Nunes Nesi e Marcelo Coutinho Picanço pela indispensável ajuda, convívio e amizade.

A todos os amigos dos Laboratórios de Manejo Integrado de Pragas e do Núcleo de Estudos em Olericultura, pela amizade a agradável convívio. Em especial aos que me ajudaram na realização deste trabalho. Aos funcionários da horta que sempre estiveram dispostos a ajudar no que for preciso.

Aos meus pais José Marcio Chediak e Mara Silva Costa Chediak pela educação, confiança, amor, companheirismo e tudo mais. Me faltam palavras para descrever a gratidão que tenho por vocês.

Aos meus irmãos Virgílio e Cecília pelo carinho e convivência além da grande amizade e parceria. Ao meus queridos sobrinhos Guilherme e Júlio que vieram pra alegrar ainda mais a nossa família.

Ao meu sogro Eli e querida sogra Naira (*in memorian*) por tudo o que fizeram e ainda fazem por nós, mesmo que longe.

A minha esposa Vanessa pelo amor, amizade, companheirismo, compreensão e confiança demonstrados durante estes anos de convivência. Sou eternamente grato por tudo que passamos que passaremos juntos.

Ao meu querido bacuri Johann Guedes Chediak, que sempre esteve carinhosamente do meu lado em todos os momentos, um especial agradecimento a você que sempre alegra meus dias.

E finalmente, a todos que poderiam estar nesta lista de agradecimento mas que por algum motivo ficaram de fora, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

MATEUS CHEDIAK, filho de José Marcio Chediak e Mara Silva Costa Chediak, nasceu em Curitiba, Paraná, em 25 de abril de 1980.

Concluiu o ensino médio em 1998 no Colégio Nobel, em Maringá, Paraná e, em e 1999 ingressou no curso de Matemática pela UNIS – MG, em Varginha. Em 2002 ingressou no curso de Agronomia pela UNINCOR – Universidade Vale do Rio Verde onde estudou um ano ate realizar a transferência Universidade Federal de Viçosa em 2003. Durante a graduação de estagiou no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do DBA/UFV entre os anos de 2004 e 2007 sob orientação do Prof. Marcelo Coutinho Picanço, onde desenvolveu vários trabalhos com manejo integrado pragas de hortaliças, grandes culturas, fruteiras e ornamentais. Nesse período foi bolsista de Iniciação Científica pelo CNPq e pela EMBRAPA (PNP&D/CAFÉ).

Em agosto de 2007, ingressou no curso de Mestrado em Fitotecnia na UFV, curso que concluiu em julho de 2009, sendo então aceito para cursar doutorado em Fitotecnia nesta mesma instituição, finalizando seu doutorado em agosto de 2013.

ÍNDICE

RESUMO..... vii

ABSTRACT ix

INTRODUÇÃO..... 1

MATERIAL E MÉTODOS..... 7

Condições experimentais..... 7

Criação de *T. absoluta* e *B. pallescens*..... 8

Análise de sobrevivência..... 9

Tabela de vida de *T. absoluta*..... 10

Atividade dos genótipos sob o predador *B. pallescens*..... 15

Caracterização química da resistência..... 18

RESULTADOS..... 22

Análise de sobrevivência..... 22

Tabela de vida..... 26

Atividade dos genótipos sob o predador *B. pallescens*..... 42

Caracterização química da resistência..... 52

DISCUSSÃO..... 60

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 66

LITERATURA CITADA..... 67

RESUMO

CHEDIAK, Mateus, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2013. **Caracterização biológica e metabólica da antibiose de espécies do tomateiro a** *Tuta absoluta* **e impacto destas espécies no predador** *Blaptostethus pallescens***.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Coorientadores: Marcelo Coutinho Picanço, Adriano Nunes Nesi.

A traça do tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) é praga chave desta cultura. Esta praga é responsável por danos significativos pelo ataque à cultura, pelo custo de seu controle. O desenvolvimento de plantas com resistência a pragas é um processo difícil e que se iniciar identificando genótipos resistentes e caracterizando esta resistência. Apesar de serem descritos genótipos resistentes à traça do tomateiro, nenhum trabalho descreve a atividade destes genótipos na biologia desta praga bem como na modificação do comportamento de inimigos naturais quando em contato com estas plantas. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar genótipos resistentes à *T. absoluta,* determinar a atividade desta resistência no predador *B. pallescens* (Hemiptera: Anthocoridae) e caracterizar os metabólitos presentes e contrastantes entre os genótipos. Para isso foram confeccionadas tabelas de esperança de vida e tabela de fertilidade para *T. absoluta* em três genótipos reconhecidamente resistentes (BGH – 674, PI – 134417 e PI – 127826) bem como nos cruzamentos entre BGH – 674 com PI – 134417 e com PI – 127826. Foram estudadas as modificações no comportamento do predador de *B. pallecens*. A caracterização metabólica foi realizada utilizando análise de perfil metabólico e foram identificados e quantificados. Foi observada uma redução da sobrevivência de *T. absoluta* nas plantas de PI-134417, PI-127826 e nas plantas resultantes do

cruzamento destas plantas com BGH-674. Estas plantas foram responsáveis por uma elevada mortalidade de lagartas de *T. absoluta* principalmente nos primeiros ínstares. Estas plantas foram responsáveis também pela redução na reprodução de adultos e fitness de larvas que obtiveram um menor peso quando empuparam. Nos testes comportamentais pode-se observar que nas plantas de PI-134417 e PI-127826 o predador *B. pallescens* diminuiu sua atividade de caminhamento quando comparado com a testemunha Santa Clara como quando comparado com o BGH-674. Já no teste de livre escolha de alimentação o predador *B. pallescens* diminuíram a alimentação de ovos de *T. absoluta* apenas nos testes pareados com Santa Clara. As avaliação químicas resultaram na identificação de 102 compostos sendo que apenas a Arabinose, Ácido cítrico, Ácido eicosatetraenoico, Ácido heptadecanoico, Hexadecano, Octacosano, Ácido octadecanoico, Sacarose e Ácido tetracosanoico se correlacionaram com a mortalidade real (100qx) de lagartas de *T. absoluta*. Estes metabólitos compuseram os dados para construção do diagrama da análise de componentes principais juntamente com a Fertilidade específica, Peso de pupas, Razão infinitesimal de aumento, Mortalidade real e número de insetos na planta. Dentre estes compostos apenas a Arabinose, Ácido cítrico, Ácido eicosatetraenoico, Ácido heptadecanoico, Hexadecano e Ocatecano se correlacionaram significativamente com um ou mais compostos da tabela de vida de *T. absoluta.* Portanto estes compostos podem estar envolvidos na resistência encontrada nas plantas de PI-134417 e PI-127826.

ABSTRACT

CHEDIAK, Mateus, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2013. **Metabolic and biological characterization of antibiosis species of tomato to** *Tuta absoluta* **and impact of these species on predator** *Blaptostethus pallescens***.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-advisers: Marcelo Coutinho Picanço, Adriano Nunes Nesi.

The tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) is key pest of this crop . This pest is responsible for significant damage to the crop by the attack, at the cost of their control . The development of pest resistance in plants is a difficult process and to begin identifying and characterizing resistant genotypes this resistance . Despite being described genotypes resistant to the tomato leafminer , no study describes the activity of these genotypes in the biology of this pest as well as the modification of the behavior of natural enemies when in contact with these plants . The objective of this work was to identify genotypes resistant *T. absolute*, determine the activity of this predator resistance in *Blaptostethus pallescens* (Hemiptera: Anthocoridae) and characterize the metabolites present and contrasting between genotypes. To this were made tables of life expectancy and fertility table for *T. absolute* in three known genotypes resistant (BGH - 674 , PI - and PI 134417 - 127826) and in crosses between BGH - 674 PI - and PI 134417 - 127826 . We studied the changes in the behavior of the predator *B. pallecens*. The characterization was performed using metabolic analysis and metabolic profile were identified and quantified . It was observed a reduction in the survival of *T. absolute* in plants of PI- 134417 , PI- 127826 and plants resulting from crossing these plants with BGH -674 . These plants were responsible for a high mortality of larvae of *T. absolute* especially in the early instars . These plants were also responsible for the reduction in reproductive fitness of adults and larvae that had a smaller weight when empuparam. In behavioral tests it can be seen that in plants PI 134417 and PI – 127826, *B. pallescens* pathway decreased their activity when compared with control Santa Clara

as compared to the BGH -674 . Already in a free choice test feeding the predator *B. pallescens* decreased feeding eggs of *T. absolute* only in the tests paired with Santa Clara . The assessment resulted in the identification of chemical compounds 102 and only the Arabinose , Citric acid , eicosatetraenoic acid , heptadecanoic acid , Hexadecane , octacosane , octadecanoic acid , Sucrose and tetracosanoic acid correlated with the actual mortality (100qx) of larvae of *T. absolute*. These metabolites comprised the data for building the diagram of the principal component analysis along with specific Fertility, pupal weight , ratio of population increase , mortality and real number of insects on the plant . Among these compounds only arabinose, citric acid, eicosatetraenoic acid , heptadecanoic acid , Hexadecane and Ocatecano significantly correlated with one or more compounds of the life table *T. absolute*. Therefore these compounds can be involved in resistance found in plants PI- PI- 134417 and 127826 .

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro comercial (*Solanum lycopersicum* L.) é uma planta pertencente à família Solanaceae que tem como centro de variabilidade genética o litoral do pacífico e hoje possui grande importância no Brasil e no mundo. O tomateiro possui alto valor devido às características nutricionais e farmacêuticas dos frutos (Agarwal *et al.*, 2001; Rao, 2004) e pelo valor comercial do seu cultivo. Os frutos desta planta são utilizados na alimentação humana e são nutricionalmente ricos contendo diversos nutrientes como as vitaminas do complexo A e B além de minerais importantes como fósforo e potássio. As características farmacêuticas importantes do fruto de tomate consistem basicamente do seu elevado teor de licopeno. Este carotenoide é importante pois exerce ação antioxidante (Valero, 2011), além de ser utilizado em diversos ramos da farmacologia como oncologia (Linda *et al.*, 2002; Lu *et al.*, 2011), cardiologia (Collins *et al.*, 2004), urologia (Gupta & Kumar, 2003), endocrinologia (Mackinnon *et al.*, 2011).

Entre as principais pragas desta cultura está a traça do tomateiro, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera, Gelechiidae). A traça do tomateiro foi constatada no Brasil no início da década de 80 (De Moraes & Normanha Filho, 1982) sendo encontrada hoje em todas as regiões produtoras de tomate (Souza & Reis, 1992). No ano de 2006 esta praga foi encontrada na Espanha de onde se dispersou para a maioria dos países da Europa (Desneux *et al.*, 2011) e região mediterrânea da África (Garcia-Marí & Vercher, 2010). No Brasil, a traça do tomateiro é considerada uma das pragas mais importantes nesta cultura e apesar de atacar preferencialmente o tomateiro ela pode ocorre também em

outras plantas como *Solanum tuberosum*, *S. americanum* e *S. aculeatissimu*. Esta praga compromete seriamente a produtividade devido à sua alta capacidade destrutiva acarretando perdas importantes na produção e consequentes impactos econômicos, ambientais e sociais.

A traça do tomateiro possui alta capacidade de danificar a planta hospedeira este pode se alimentar em folhas, meristemas apicais e frutos. Por este motivo os produtores de tomate realizam várias aplicações com inseticidas a cada ciclo da cultura, o que aumenta o custo de produção e consequentemente os prejuízos ambientais, ao consumidor e ao produtor. Já foram relatadas até três aplicações semanais de inseticidas ao longo de todo o ciclo da cultura, chegando ao extremo de 36 aplicações durante uma única safra (Leite, G. D. L. *et al.*, 1998; Picanço *et al.*, 1997; Picanço *et al.*, 1998; Picanço *et al.*, 2000). Esta elevada quantidade de aplicações ainda é utilizada, o que ajuda a promover uma pressão de seleção sob os insetos reduzindo a eficiência de controle pelos inseticidas (Guedes *et al.*, 1994; Siqueira *et al.*, 2001). Esta falha de controle já é relatada em alguns trabalhos (Salazar & Araya, 2001; Siqueira *et al.*, 2001; Liettii *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2011) e levam os produtores a aumentar o número de aplicações com inseticidas para obter o sucesso no controle de pragas.

Diante destas vantagens, estudos são realizados visando identificar fontes resistência do tomateiro aos insetos praga desta cultura. Esses estudos ocorrem tanto com espécies silvestres de tomateiro (e.g. *Lycopersicon hirsutum, Lycopersicon peruvianum* e *Lycopersicon pennellii*) como plantas oriundas de bancos de germoplasma (Leite, *et al.*, 1998; Ecole *et al.*, 1999; Suinaga *et al.*, 1999; Ecole *et al.*, 2000; Ecole *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2001; Azevedo *et al.*, 2003; Suinaga *et al.*, 2004). Normalmente plantas silvestres possuem um padrão de resistência diferenciado devido aos compostos químicos presentes em seus tecidos. Por isso uma das etapas importantes deste estudo consiste em identificar os compostos químicos do tomateiro relacionados com a incidência de pragas.

As principais substâncias químicas relacionadas com a resistência de plantas são metabólitos secundários. Estas substâncias podem exercer função de proteção às plantas e podem agir influenciando o comportamento ou alterando a biologia dos mesmos (Dent, 1991; Resende *et al.*, 2008). Entre os

fatores que afetam o comportamento dos insetos têm-se os compostos atraentes, os arrestantes, os estimulantes e/ou deterrentes. Determinados compostos da planta podem também atuar nos processos fisiológicos dos insetos como na muda, comunicação, reprodução ou mesmo causar intoxicações. A gama de respostas desencadeadas por estas substâncias sobre os insetos são variadas e complexas (Eigenbrode *et al.*, 1994; Liedl *et al.*, 1995) e podem ser responsáveis pela resistência de determinada planta. Em plantas de tomate as folhas possuem compostos como glicoalcalóides e compostos fenólicos que podem apresentar importante papel na suscetibilidade dos tomateiros a insetos-praga (Elliger *et al.*, 1980; Isman & Duffey, 1982; Kennedy, 2003). O principal glicoalcalóide envolvido neste processo é a alfa-tomatina, encontrada em diversas espécies de solanáceas incluindo *L. esculentum* (Juvik & Stevens, 1982).

No processo de obtenção de variedades resistentes às pragas é de fundamental importância se conhecer os mecanismos relacionados com a defesa. São três estes mecanismos, antixenose, antibiose e tolerância (Painter, 1951; Leite, *et al.*, 1998; Ecole *et al.*, 1999). A antixenose é o mecanismo pelo qual o inseto evita determinado hospedeiro, sendo também conhecido como não-preferência (Painter, 1951). O termo antixenose tem sido preferido por sua maior abrangência e pelo fato de centrar foco na planta, à semelhança dos demais mecanismos e ao contrário do termo não-preferência. Antixenose significa que a planta é refratária a “visitantes”, ou seja, os insetos que por ventura tentem colonizá-la (seja para alimentação, oviposição, ou abrigo) tendem a preferir outra planta. Este tipo de resistência pode ocorrer devido a características químicas ou morfológicas dependendo dos fatores causadores da mesma.

Neste tipo de resistência, quando duas plantas oferecem igualdade de condições para a colonização de um determinado inseto, aquela que for menos preferida pelo fitófago é dita como resistente por antixenose. Esta menor utilização pode ocorrer devido a uma menor alimentação, reprodução ou abrigo. Na antixenose se reduz a colonização inicial do inseto praga e sua adaptação frente à resistência da planta, porém este tipo de resistência é a mais difícil de ser obtida (Panda & Khush, 1995).

Uma das causas da menor alimentação do inseto praga pode ocorrer devido à produção de substâncias de elevado peso molecular e, portanto, não voláteis. Estas substâncias podem ser impalatáveis aos fitófagos os quais iniciam a alimentação, porém esta é cessada brevemente. A antixenose pode ocorrer em diversos graus e alguns autores consideram que um elevado grau de antixenose pode ser compreendido como antibiose. Isto ocorre, pois indivíduos alimentando-se exageradamente menos podem apresentar alterações em sua biologia, dando a falsa impressão de antibiose. Resistência por não preferência é encontrada em alguns acessos de tomate, como nos estudos realizados por (Oliveira *et al.*, 2009) onde se estudou a resistência de 57 acessos objetivando identificar fontes de resistência à traça do tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick). Neste trabalho os autores avaliaram o tamanho e número de injúrias feitas por larvas de *T. absoluta* e concluíram que entre os acessos estudados, alguns se mostraram diferentes quanto ao nível de antixenose. Entre os tratamentos, o BGH – 674 e BGH – 1497 expressaram um grau de antixenose muito alto e não houve minas nas folhas destes tratamentos.

Já na antibiose os insetos se alimentam de plantas resistentes e sofrem ação deletéria após a alimentação. Nesta resistência o inseto se estabelece normalmente na planta, porém ao se alimentar este sofre efeitos letais ou subletais negativos em sua biologia, prejudicando seu crescimento, desenvolvimento, reprodução ou sobrevivência. Os principais sintomas de antibiose observados mediante o ataque de um fitófago são a morte de larvas, crescimento anormal, dificuldade de empupar, dificuldade de emergir da pupa, adultos mal formados e problemas de fecundidade e fertilidade. Estas interferências no seu processo metabólico normal e, consequentemente na biologia são as características básicas da antibiose. Existem inúmeros compostos do metabolismo secundário que podem ser importantes na resistência de plantas por antibiose.

Os quatro grupos principais de compostos químicos envolvidos na resistência de plantas a artrópodes são os compostos contendo nitrogênio (alcalóides e aminoácidos proteicos), glicosídeos cianogênicos, terpenóides (terpenos e cardenolides) e fenóis (que incluem taninos, ligninas e poliacetatos). Alguns destes compostos são encontrados em uma ampla gama de espécies vegetais como os alcaloides, compostos fenólicos, flavonoides e tanino. Outros

compostos como os glucosinolatos são encontrados em um grupo mais restrito de plantas como as crucíferas. Alguns metabólitos como os cianogênicos, glicosídeos e precursores do ácido cianídrico são considerados como compostos tóxicos de defesa das plantas.

A resistência por antibiose é muito estudada, provavelmente pela facilidade de se mensurar os resultados e selecionar variedades com este tipo de resistência. Contrariamente à antixenose, na resistência por antibiose estão relacionados poucos genes na planta, o que corresponde a poucos genes no inseto. Esta característica favorece a quebra da resistência pelo fato de que a mutação de apenas um gene em um indivíduo pode promover a resistência de uma população.

Em plantas de tomate silvestres (*Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*, *L. hirsutum* f. *hirsutum, L. typicum,* e *L. pennellii*) são identificados vários compostos do metabolismo secundários do tomateiro como metilcetonas (2-tridecanona, 2-undecanona, 2-dodecanone, 2-pentadecanona), hidrocarbonetos e sesquiterpeno (zingibereno e curcumeno), e glicolipídeos ésteres (açúcares), respectivamente que são descritos como responsáveis por conferir a estas plantas resistência a insetos e ácaros praga. Folhas destes tomateiros selvagens possuem tricomas glandulares do tipo IV e VI os quais produzem exsudatos compostos por 2-undecanona e 2-tridecanona e que possuem ação inseticida e acaricida podendo causar mortalidade de até 80% de insetos imaturos (Antonious *et al.*, 2001).

Outros fatores, que não os químicos tóxicos estão presentes em plantas influenciando a herbivoria e agindo como antibióticos. Dentre estes fatores pode-se listar o baixo valor nutricional das plantas, a dureza dos tecidos que são responsáveis pela menor disponibilidade ou qualidade de material vegetal como fonte de alimento. A composição da parede celular rica em fibras ligninas e sílica podem afetar o inseto a nível nutricional e físico. Este tipo de antibiose possui menor importância devido ao fato de que estas características podem diminuir a qualidade do fruto de tomate e, consequentemente, diminuir o valor comercial dos frutos.

A resistência das plantas pelo mecanismo de tolerância é a habilidade da planta em retomar seu crescimento, reprodução ou ainda reparar a injúria causada pelo inseto fitófago após sua ação. Esta resistência pode ocorrer devido a dois fatores, fatores intrínsecos e fatores extrínsecos. Os fatores intrínsecos são aqueles que dependem basicamente de aspectos relacionado à fisiologia da planta como perfilhamento e compensação. Já os fatores extrínsecos de tolerância da planta atacada são os fatores de defesa da planta que estão relacionados à condições ambientais e nutricionais da planta.

Durante o processo de domesticação de plantas ocorre a perda de genes que conferem resistência. Por este motivo em sementes comercializadas a gama de genes que conferiam alguma resistência é relativamente baixa tornando necessária a busca destes genes em locais onde a variabilidade genética permaneça alta. Portanto, o objetivo deste trabalho é estudar a resistência dos tomates silvestres PI – 134427 e PI – 127826 (*Solanum habrochaites)* e do genótipo mantido pelo Banco de Germoplasma de Hortaliças (BGH – 674) à *T. absoluta* por meio de tabelas de vida biológica além de estudar as características químicas presentes e correlacionadas com esta resistência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condições experimentais

Este estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Entomologia e nos Laboratórios de Manejo Integrado de Pragas, Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas e Laboratório de Feromônio e Comportamento de Insetos, todos na Universidade Federal de Viçosa (UFV). O material vegetal estudado foi obtido no Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV. Os insetos utilizados no estudo foram obtidos de criações mantidas no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas segundo metodologia proposta por Galdino et al (2012).

O material vegetal escolhido foram os acessos de *Lycopersicon hirsutum* PI – 134417 e PI – 127826 e acesso de *Solanum lycopersicum* BGH – 674 como genótipos resistentes (referência destas resistências). Como testemunha foi utilizado a variedade Santa Clara, de *Solanum lycopersicum*. Para identificar a possibilidade de transferência das características estudadas entre as espécies de tomate estudadas, foram realizados cruzamentos entre o acesso BGH – 674 com os acessos PI – 134417 e PI – 127826 segundo metodologia proposta por (Borém, 2009).

Para a realização deste estudo, as sementes das plantas a serem estudadas foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido com 128 células (BP 128/60) contendo substrato comercial. Em cada célula foram adicionadas três sementes de cada genótipo permanecendo esta bandeja em

casa de vegetação sob condições ambientais. As bandejas foram irrigadas diariamente até 35 dias após a emergência quando as mudas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade de oito litros contendo terra e esterco de boi curtido na proporção de 3:1. O solo utilizado foi proveniente do horizonte B de um latossolo vermelho-amarelo distrófico. As plantas foram conduzidas de acordo com Silva & Vale (2007) com uma haste e tutoradas com fitilho de maneira vertical. Os experimentos foram montados durante a fase vegetativa das plantas quando elas possuíam 10 folhas completamente expandidas.

2.2 Criação de *T. absoluta* e *B. pallescens*

Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos de uma única criação mantida no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da UFV. Esta criação foi iniciada com insetos coletados em cultivos comerciais de tomate em Viçosa – MG e mantidas em laboratório. Nestas criações foram utilizados os procedimentos descritos por Galdino et al (2012).

A criação de *T. absoluta* foi conduzida em quatro gaiolas cúbicas com 50cm de aresta de madeira e cobertas com organza para permitir o fluxo de ar dentro da mesma sem a saída dos insetos. Para iniciar a população, foram coletadas folhas de tomate contendo lagartas de *T. absoluta* em lavouras comerciais em Viçosa – MG. Estas folhas tiveram os pecíolos envoltos por algodão hidrofóbico e inseridos em vidro de cor âmbar contendo água para a manutenção de sua turgidez. Os vidros com as folhas permaneceram na gaiola de lagartas até os insetos chegarem na fase de pupa. Ao completarem este processo as pupas foram transferidas para a gaiola de emersão de adultos. Por fim, os adultos emergidos nesta gaiola foram transferidos para a gaiola de oviposição, onde permaneceram até finalizarem a fase adulta. Nesta gaiola as folhas foram trocadas diariamente por folhas novas para a oviposição e adicionou-se algodão umedecido em solução de mel a 10% em seu interior para a alimentação dos adultos. As folhas retiradas da gaiola de oviposição foram transferidas para a gaiola de ovos e lagartas iniciais.

Durante o ciclo as larvas foram alimentadas diariamente com folhas de tomate da cultivar Santa Clara conduzida em casa de vegetação e sem a

aplicação de pesticidas. Estas plantas foram conduzidas em vasos de 5 litros contendo terra e esterco de boi curtido na proporção de 3:1. Estas plantas permaneceram em casa de vegetação devidamente teladas com organza para evitar a entrada de insetos. Os tratos culturais necessários (adubação, amarrio, irrigação, desbrota e eliminação de folhas com pragas e/ou doenças) foram realizados semanalmente.

A criação de *B. pallescens* foi conduzida segundo Pereira (2013). Esta iniciou pela coleta de adultos deste predador em cultivos comerciais de tomate em Viçosa – MG. Estes adultos foram separados em grupos de 20 indivíduos e mantidos em potes de polipropileno com 750 ml de volume cada. Dentro de cada pote foi disponibilizado papel filtro picado para oviposição dos adultos e um pedaço de algodão umedecido com água. Os potes foram recobertos com organza para evitar a fuga dos insetos. Todos os potes foram mantidos em sala de criação climatizada à temperatura de 26 ± 2 ºC, umidade relativa de 75 ± 5% e fotofase de 14 horas. A cada dois dias os insetos foram alimentados com ovos de *Anagasta kuehniella* e os indivíduos que alcançaram a fase adulta foram transferidos para novos potes para oviposição.

2.3 Análise de sobrevivência

Para a realização deste estudo, larvas de primeiro ínstar foram colocadas sob folhas de cada genótipo para se alimentar durante todo o estádio larval. Diariamente foram contados os números de insetos vivos e mortos em cada planta. As avaliações perduraram durante todo o ciclo de vida do inseto até o último dia de oviposição ou quando todos os insetos morreram. Insetos que não se movimentaram durante a fase larval ou pupal quando estimulados com um pincel foram considerados mortos. Todos os tratamentos foram montados e avaliados simultaneamente sob as mesmas condições seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado sendo cada lagarta considerada uma repetição. A parcela experimental foi representada por uma planta.

Os dados de sobrevivência/mortalidade foram analisados utilizando o PROC LIFETEST do programa SAS (Sas.Institute, 2004) através do teste Log-Rank. Esta comparação foi realizada entre todos os tratamentos, por haver

diferença entre as curvas de sobrevivência nesta avaliação os dados foram submetidos às mesmas análises porém com os tratamentos pareados individualmente com a testemunha (Santa Clara). As curvas de sobrevivência foram estimadas através do estimador de Kaplan-Meier gerados a partir da proporção de indivíduos sobreviventes desde o início até ao fim do experimento. As curvas de sobrevivência e os tempos letais médios foram comparados usando análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey utilizando o PROC GLM do programa SAS (Sas.Institute, 2004). Os resultados dos bioensaios de tempo e mortalidade foram submetidos a análise de sobrevivência. Com esta análise foi possível estimar os tempos letais médios (TL_{50}) bem como o quartil superior, quartil inferior (TL_{75} e TL_{25} respectivamente), os intervalos de confiança (intervalo fiducial IF_{95}) e o tempo letal para 50% da população. Estes dados foram demonstrados num gráfico *Box plot*.

2.4 Tabela de vida biológica de *T. absoluta*

A condução dos experimentos para a coleta de dados e confecção das tabelas de vida de *T. absoluta* ocorreu simultaneamente em casa de vegetação e no laboratório. Durante os experimentos as condições permaneceram constantes com temperatura de 25 ± 2ºC, umidade relativa de 75 ± 5% e fotofase de 12 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições, cada repetição foi representada por uma planta de tomate cada repetição pertencente ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV.

Para a avaliação da atividade dos genótipos sob o desenvolvimento de *T. absoluta* utilizou-se larvas de primeiro ínstar. Para evitar que as larvas se alimentassem antes do experimento, ovos de *T. absoluta* provenientes de um único dia de oviposição foram separados em placas de petri e mantidos sob papel filtro até a eclosão das lagartas. No dia da eclosão foram transferidas quatro lagartas por folha de tomate em quatro folhas de cada planta, totalizando 16 lagartas por planta e 96 lagartas por genótipo. Diariamente foi avaliado o ínstar de cada lagarta e a mortalidade de cada lagarta em cada instar até o início da fase de pré-pupa. As pré-pupas foram retiradas das plantas e individualizadas em potes de acrílico de 10mL identificados contendo dentro papel filtro e levadas ao laboratório para a avaliação durante a fase de pupa e adulta.

Quando finalizado o processo de pupação, cada pupa foi sexada segundo Coelho & França (1987) e pesada individualmente em Balança Analítica Shimadzu modelo AUW-220D. Foi avaliada diariamente a mortalidade das pupas com o auxílio de um pincel. Após completados dez dias sem a emersão dos adultos, as pupas remanescentes foram consideradas mortas. Os adultos foram liberados no dia da emersão das pupas em uma gaiola de criação devidamente limpa. Dentro da gaiola foi disponibilizada uma folha de tomate para oviposição e um chumaço de algodão embebido com solução de mel diluído a 10% em água para alimentação dos adultos. As folhas foram trocadas diariamente e os ovos contabilizados e acompanhados até o fim da eclosão das lagartas. Os dados coletados foram utilizados para a elaboração das tabelas de vida e cálculo dos parâmetros destas tabelas.

As tabelas de esperança de vida foram calculadas com parâmetros relacionados à longevidade e mortalidade dos insetos em determinado tratamento experimental. Inicialmente, para cada data (*x*) contabilizou-se o número de indivíduos vivos (L_x), número de indivíduos mortos (d_x), perfil de sobrevivência (l_x) e a probabilidade de sobrevivência (g_x) em cada idade com as fórmulas:

$$L_x = \text{número de insetos encontrados vivos no tempo } x$$

$$d_x = \text{número de insetos encontrados mortos no tempo } x$$

$$l_x = \frac{S_x}{S_0}$$

$$g_x = \frac{l_{x+1}}{l_x}$$

onde S_x é o número de indivíduos sobreviventes no tempo x e S_0 é o número de indivíduos iniciais.

Com os dados coletados nos experimentos montados na casa de vegetação e a mortalidade de pupas observadas no laboratório foram calculadas as mortalidades ocorridas em cada idade. Estas mortalidades foram calculadas pelas fórmulas:

$$100_{qx} = \left(\frac{d_x}{L_x}\right) \times 100$$

$$100_{rx} = \frac{d_x}{l_0}$$

onde 100_{qx} (%) corresponde a mortalidade que aparentemente ocorreu em cada idade. Já a mortalidade real ou acumulativa 100_{rx} (%) representa a mortalidade real ou acumulativa que ocorreu em cada estádio do ciclo de vida ou a mortalidade de cada fator dentro de cada estádio do ciclo de vida.

Para verificar a existência de diferenças nas mortalidades entre os indivíduos utilizou-se uma análise de regressão. Para esta análise, os dados da Mortalidade Real (100_{rx}) foram logaritimizadas com a fórmula:

$$k = -\log 100_{rx}$$

Após estes cálculos identificou-se qual genótipo é responsável pela maior mortalidade em cada estágio do ciclo de vida de *T. absoluta* segundo metodologia adaptada de Varley *et al.* (1973). As mortalidades em cada genótipo de cada estádio de vida de *T. absoluta* foram comparadas pela inclinação das curvas de regressão seguindo metodologia adaptada de Varley *et al.* (1973).

Para um mesmo estádio, quando a curva de regressão referente a mortalidade apresentou maior inclinação da reta (α) a p<0,05, este genótipo foi considerado como responsável pela maior mortalidade.

As pupas que não morreram durante o ciclo foram pesadas para mensurar a atividade desta resistência no fitness de *T. absoluta*. Cada pupa foi pesada individualmente em Balança Analítica Shimadzu modelo AUW-220D. Por atenderem os pressupostos da ANOVA, os pesos das pupas foram analisados pelo teste Tykey (p<0,05).

A elaboração das tabelas de fertilidade e de esperança de vida de *T. absoluta* foram elaboradas segundo Silveira Neto *et al.* (1976) utilizando dados coletados em casa de vegetação e no laboratório.

Para realizar a estimação da variação de cada parâmetro estudados em cada tratamento utilizou-se a metodologia Jackknife para tabelas de vida proposta por Maia *et al.* (2000). Os dados das seis plantas foram agrupados em seis conjuntos de cinco plantas, sendo cada grupo composto por uma combinação única de cinco plantas. De posse destes dados foi determinada a atividade de cada genótipo em parâmetros relacionados à reprodução de *T. absoluta.* Estes parâmetros compuseram a tabela de fertilidade de *T. absoluta*. Para isso, inicialmente calculou-se a Taxa Líquida de Reprodução (R_0). Esta taxa permite estimar a capacidade de reposição de uma determinada população, à medida que leva em consideração a mortalidade de fêmeas. Este parâmetro relaciona o tamanho inicial da geração de fêmeas (idade zero) com o número de descendentes fêmeas vivas e é calculada pela fórmula:

$$R_0 = \sum [l_x b_x]$$

Onde b_x é o número de ovos produzidos por fêmea em cada idade.

Com as avaliações da oviposição diária e número de adultos fêmeas emergidas a cada dia, foi calculado o perfil de fecundidade (m_x) para cada população através da fórmula:

$$m_x = \frac{número\ de\ ovos}{número\ de\ fêmeas}$$

Estes parâmetros foram utilizados para auxiliar na estimativa dos demais cálculos necessários para a confecção da tabela de fertilidade de *T. absoluta.* Inicialmente foi calculado o tempo necessário para que uma geração (*G1*) de origem a uma segunda geração (*G2*) através da fórmula:

$$G = \frac{\sum(l_x m_x\, x)}{\sum(l_x m_x)}$$

Ambos parâmetros relacionam características de fertilidade como a sobrevivência e oviposição (R_0) e tempo de desenvolvimento de uma geração (*G*) de maneira isolada. Um parâmetro importante e que relaciona características de fertilidade e tempo é a Razão Infinitesimal de Aumento Populacional (r_m). Este parâmetro é calculado pela fórmula:

$$r_m = \frac{\ln(R_0)}{G}$$

Este cálculo é utilizado na estimativa do tempo necessário para que uma população de pragas duplique seu tamanho (T_d) pela fórmula:

$$T_d = \frac{(\ln 2)}{r_m}$$

Estes parâmetros compuseram a Tabela de Fertilidade de *T. absoluta*.

2.5 Atividade dos genótipos sob o predador *Blaptostethus pallescens*

Para determinar a atividade da resistência presente nos genótipos PI – 134417, PI – 127826 (*Solanum habrochaites*) e BGH – 674 (*Solanum lycopersicum*) sob *B. pallescens* foram realizados testes comportamentais. Para isso, foram montados bioensaios comportamentais com e sem escolha (placa inteira e meia placa respectivamente) seguindo metodologia adaptada de (Guedes *et al.*, 2008; Guedes *et al.*, 2009). Os testes comportamentais foram montados sob o delineamento experimental inteiramente casualizado com vinte repetições.

Para se determinar a preferência de *B. pallescens* entre os genótipos estudados, foram montados dois bioensaios em arenas com escolha. Inicialmente foi realizado um teste com escolha para quantificar a preferência de *B. pallescens* entre os genótipos estudados bem como a diferença no comportamento do percevejo quando há a possibilidade de escolha. Este estudo foi realizado em arenas montadas em cano de PVC de 1,5'' de diâmetro interno e 2cm de altura fixados em placa de isopor. As paredes internas foram revestidas com Teflon PTFE (DuPont, Wilmington, DE, EUA), para impedir a fuga dos insetos. O fundo da arena foi igualmente preenchido com um folíolo de cada um dos tratamentos experimentais (PI – 134417, PI – 127826, BGH – 674 e a variedade Santa Clara). Os folíolos foram cortados em formato de meia lua e depositados no fundo da arena. Os tratamentos seguiram o esquema abaixo, de modo a abranger todos os pares de genótipo possíveis.

Tabela 1: Esquema dos pares de tratamentos utilizados nos experimentos de livre escolha.

Experimento	Genótipo 1		Genótipo 2
1	BGH – 674	X	Santa Clara
2	PI – 134417	X	PI – 127826
3	Santa Clara	X	PI – 134417
4	Santa Clara	X	PI – 127826
5	BGH – 674	X	PI – 134417
6	BGH – 674	X	PI – 127826

Após a montagem da arena, um adulto do percevejo predador *B. pallescens* foi liberado ao centro da placa e a arena foi fechada com Plástico Filme de PVC. Após este procedimento foram avaliados durante dez minutos o tempo que o percevejo permaneceu parado, caminhando lentamente, caminhando com velocidade normal, caminhando rapidamente, executando o Grooming, voando e o tempo total em cada um dos genótipos. Foram avaliados também a frequência em que o percevejo iniciou cada comportamento. Por não atender os pressupostos da ANOVA, os tempos de cada comportamento foram comparados pelo teste de Friedman ($p<0,05$) e os dados de frequência foram analisados pelo teste Chi quadrado ($p<0,05$).

Posteriormente ao teste comportamental foi realizado um teste com livre escolha de alimentação. Para este teste folhas de cada genótipo foram cortadas, seus pecíolos envoltos em algodão hidrofóbico e imersos em vidro de cor âmbar contendo água. Estas folhas foram postas em gaiolas contendo adultos de *T. absoluta* durante 24 horas para oviposição. Após este período os filíolos foram identificados e os ovos presentes nas faces adaxial e abaxial foram contados. Separou-se os folíolos de cada genótipo em conjuntos com um número de ovos semelhantes. Os folíolos de um mesmo conjunto diferiam entre sí por até vinte ovos. Estes folíolos foram utilizados para a montagem dos bioensaios de livre escolha de alimentação.

As arenas para o bioensaio de alimentação foram montadas em placa de petri de 15cm de diâmetro e 1cm de altura. As paredes internas foram revestidas com Teflon PTFE (DuPont, Wilmington, DE, EUA), para impedir a fuga dos

insetos. Nesta placa foram disponibilizados dois folíolos de cada tratamento experimental (PI – 134417, PI – 127826, BGH – 674 e a variedade Santa Clara). Para manter os tricomas intactos não foram retirados os ovos presentes nos folíolos e cada folíolo teve seu pecíolo envolto em algodão hidrofílico umedecido com agua. Cada arena foi montada com folíolos de um mesmo conjunto, mantendo assim uma diferença máxima de vinte ovos entre todos os folíolos de uma mesma arena. Os pares de genótipos que compuseram este experimento foram os mesmos acima descritos.

Após a montagem da arena, um adulto do percevejo predador *B. pallescens* em jejum de 24 horas foi liberado ao centro da placa e a arena foi fechada com Plástico Filme de PVC. Após este procedimento as arenas foram deixadas em condições de criação (temperatura de 26 ± 2 ºC, umidade relativa de 75 ± 5% e fotofase de 14 horas) porém sem a adição de ovos de *A. kuehniella*. Após 24 horas os adultos dos percevejos foram retirados e foram contados os ovos predados e ovos não predados em cada face dos folíolos. Foram considerados predados os ovos que apresentavam apenas o córion sob as folhas.

Para avaliar o teste de livre escolha de alimentação comparou-se o número de ovos predados e não predados entre os folíolos de cada genótipo. Por não atenderem à normalidade, a avaliação da predação de ovos foi realizada pelo teste de Friedman. Inicialmente foi comparada a predação de ovos pertencentes a conjuntos de folíolos com diferentes números de ovos iniciais. Por não haver diferença da predação de ovos entre estes folíolos ($p<0,05$), comparou-se o número de ovos predados entre cada folíolos dos pares de genótipos.

Após a comparação do comportamento de *B. pallescens* entre os genótipos realizou-se o teste sem escolha. Este estudo foi realizado em arenas montadas em cano de PVC de 1,5'' de diâmetro interno e 2cm de altura fixados em placa de isopor. As paredes internas foram revestidas com Teflon PTFE (DuPont, Wilmington, DE, EUA), para impedir a fuga dos insetos. O fundo da arena foi completamente preenchido com folíolo de um único tratamento. Os tratamentos que compuseram este bioensaio foram o PI – 134417, PI – 127826, BGH – 674 e a variedade Santa Clara.

Após a montagem da arena, um adulto do percevejo predador *B. pallescens* foi liberado ao centro da placa e a arena foi fechada com Plástico Filme de PVC. Após este procedimento foram avaliados durante dez minutos o tempo que o percevejo permaneceu parado, caminhando lentamente, caminhando com velocidade normal, caminhando rapidamente, executando o Grooming, voando e o tempo total em cada um dos comportamentos. Foram avaliados também a frequência em que o percevejo iniciou cada comportamento. Por não atender os pressupostos da ANOVA, os tempos de cada comportamento foram comparados pelo teste de Friedman ($p<0,05$) e os dados de frequência foram analisados pelo teste Chi quadrado ($p<0,05$).

As análises estatísticas realizadas nos testes comportamentais foram realizados o software estatístico (Sas.Institute, 2004). Para testar a normalidade utilizou-se o procedimento PROC UNIVARIATE opção DATA= NORMALTEST verificada a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os testes de Friedman foram realizados pelo procedimento PROC FREQ, opção CMH2 SCORES=RANK NOPRINT. O teste Chi quadrado foi realizado pelo procedimento PROC FREQ opção CHISQ TESTP.

2.6 Caracterização química da resistência

Para identificação dos compostos químicos presentes nos genótipos de tomate, foram avaliadas folhas de cada genótipo durante o ataque de *T. absoluta.* Todas as plantas foram conduzidas sob mesmas condições, em casa de vegetação do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Entomologia da UFV. Os procedimentos necessários para a extração, concentração e derivatização dos metabólitos foram realizados no Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas do Departamento de Fisiologia Vegetal da UFV. As corridas em CGMS para a foi realizada no Laboratório de Semioqímicos e Feromônios de Insetos do Departamento de Entomologia da UFV. A identificação e quantificação dos compostos foram realizados pelo software *ChromaTOF chromatography processing and mass spectral deconvolution* (LECO Instrumente) no Núcleo de Análise Biomoléculas (NuBioMol) do Centro de Ciências Agrárias da UFV.

As plantas utilizadas para a caracterização química da resistência foram as mesmas utilizadas em todo o processo de confecção das tabelas de vida. Para evitar a perda de parcelas da tabela de vida foram utilizadas folhas diferentes na caracterização química. A infestação com lagartas foi realizada seguindo o mesmo procedimento da infestação da tabela de vida sendo transferidas 4 lagartas de primeiro ínstar em 4 folíolos diferentes de uma mesma folha para contemplar todas as coletas. Foram realizadas três coletas nos genótipos Santa Clara, BGH – 674, PI – 134417 e as plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e BGH – 674 com PI – 127826. Estas coletas ocorreram imediatamente antes da montagem das tabelas de vida e com 3 e 7 dias após a montagem das tabelas de vida. Para o genótipo PI – 127826 foram realizadas quatro coletas sendo uma imediatamente antes da montagem das tabelas de vida e as outras com 6, 12 e 24 horas após a montagem das tabelas de vidas.

Com exceção das coletas no genótipo PI – 127826 todas as coletas foram realizadas às 10 horas. As coletas de folhas do genótipo PI – 127826 foram realizadas nos tempos descritos acima independente da hora do dia. Em cada data de coleta, um folíolo de cada folha infestada foi retirado com o auxílio de um estilete e tiveram as nervuras principais e minas de *T. absoluta* retiradas para evitar contaminação. Após este procedimentos o limbo foliar foi envolto por papel alumínio previamente identificado e realizou-se o quenching metabólico das folhas utilizando nitrogênio líquido. Após a coleta de todo material, as folhas foram congeladas em freezer à -80ºC para posterior processamento e avaliação.

Após todas as coletas os folíolos foram macerados com auxílio de cadinho e almofariz previamente resfriado com nitrogênio líquido. Foram pesados entre 30 e 80 mg de cada amostra macerada e armazenadas em ependorf imersos em nitrogênio líquido. Em cada ependorf foi adicionado 1,5mL de uma mistura de água Milli-Q, Metanol (≥99.9%, para UV/HPLC) e clorofórmio (para UV/HPLC) na proporção de 1:2,5:1 e 60 µL de ribitol. Após a adição desta mistura as amostras foram agitadas por meia hora em themomix e posteriormente centrifugadas à 7000rpm por 10 minutos à 4ºC. Após a centrifugação, 1mL do sobrenadante foi transferido para um novo ependorf, foram adicionados 750µL de água Milli-Q e novamente centrifugados por 15 minutos à 12000rpm e 4ºC.

Uma alíquota de 50µL do sobrenadante deste tubo foi transferido à um novo ependorf e a amostra foi seca em centrifugado à vácuo para a derivatização.

A derivatização com uma reação de metoxyaminação adicionando 40µL de Methoxyamino hydrochlorido em cada ependorf e misturados em thermomix à 37ºC por duas horas. Após este período adicionou-se 70µL de MSTFA e 1,4µL de FAME e os ependorfs foram agitados em thermomix à 37ºC por meia hora. Os compostos foram derivatizados e injetados em cromatógrafo da Shimatzu modelo GCMS-QP2010 Ultra seguindo o protocolo adaptado de Lisec *et al.* (2006) descrito abaixo:

Parâmetros do injetor: Foi injetado 1µL de cada amostra a 230ºC em modo splitless com fluxo de gás hélio a 2 mL min^{-1}. Taxa de fluxo mantida constante.

Parâmetro do cromatógrafo: Coluna capilar de 30m modelo MDN-35. O programa de temperatura em isotérmica durante 2min a 80ºC, seguido de uma rampa de 15ºC x min^{-1} até 330ºC, e mantendo a essa temperatura durante a corrida.

Parâmetros do espectrômetro de massa: A fonte de íons foi definida à 250ºC e a faixa de massa rastreável foi definida entre 70m/z e 600m/z a 20 varreduras por segundo.

Após as corridas os cromatogramas foram exportados na extensão CDF para serem analisados pelo programa ChromaTOF. Neste programa foi realizada a identificação dos metabólitos com base na comparação do índice de retenção, massa e cromatograma das amostras com bibliotecas internas (Fiehn-library1, Fiehn-library2, EINST_MSRI_136 e MSSEARCH).

Os dados fornecidos pelo ChromaTOF foram corrigidos para a massa específica de cada metabólito. Após a correção realizou-se a exportação destes dados para o formato XLS. Foram exportados do CromaTOF os dados de tempo de retenção de cada pico (s), similaridade do pico com o composto da biblioteca, área relativa e altura relativa de cada pico. Foram utilizados apenas os dados

com similaridade acima de 600, em uma escala de 0 – 1000. Para a análise foram utilizados os dados corrigidos de área de cada pico.

Em cada cromatograma foi feita a correção dos valores da área e da altura de cada pico referente a cada composto. O valor relativo da área (VR_a) foi obtida pela fórmula:

$$VR_a = \frac{A_{pc}}{\sum A_n}$$

onde:

A_{pc} é a área do pico do composto de interesse

A_n é a área de todos os compostos

O valor relativo da área de cada composto foi utilizado na análise estatística. Para evitar perdas de parcelas, as análises estatísticas foram feitas apenas com os compostos identificados em todas as repetições de todos os tratamentos. Estes compostos foram inicialmente submetidos à uma análise de correlação com o número de insetos mortos em cada planta, mortalidade real ($100r_x$), peso de pupa macho e fêmea, fertilidade específica (m_x), razão infinitesimal de aumento (r_m). Os compostos que correlacionaram significativamente com pelo menos um destes parâmetros foram utilizados na análise PCA.

Os compostos selecionados e os parâmetros selecionados acima foram submetidos à análise PCA utilizando o software XLSTAT. Para determinar a associação entre os compostos e os parâmetros da tabela de vida de *T. absoluta* foi utilizado PCA com correlação de Spearman ($p<0,05$). Foi realizado o Biplot dos vetores das correlações e os dados das coordenadas dos três primeiros eixos foram plotados.

3. RESULTADOS

3.1 Análise de sobrevivência

Foram observadas diferenças significativas na sobrevivência de *T. absoluta* entre todos os tratamentos com a testemunha (Teste Log-Rank, χ^2= 309,61; gl=5; p<0,0001). Nas comparações pareadas de cada tratamento com a testemunha foi verificado que apenas o genótipo BGH – 674 não causou mortalidade de *T. absoluta* (Teste Log-Rank; χ^2=1,30; p=0,25) superior à mortalidade em Santa Clara. A mortalidade de *T. absoluta* foi 32,00% nas plantas de Santa Clara, 45,71% em BGH-674, 96,15% no PI-134417 e 100,00% no PI-127826. Nos cruzamentos das plantas as mortalidades de *T. absoluta* foram semelhantes à causada por PI-134417 sendo que em BGH-674 x PI134417 a mortalidade foi de 95,71% e em BGH-674 x PI-127826 foi de 95,1% (Figura 1). A diferença nas sobrevivências de e no tempo para as mortalidades interferem diretamente no tempo letal médio (TL_{50}). Este parâmetro variou entre todos os genótipos estudados e é representado pela mediana do *box plot* (figura 2).

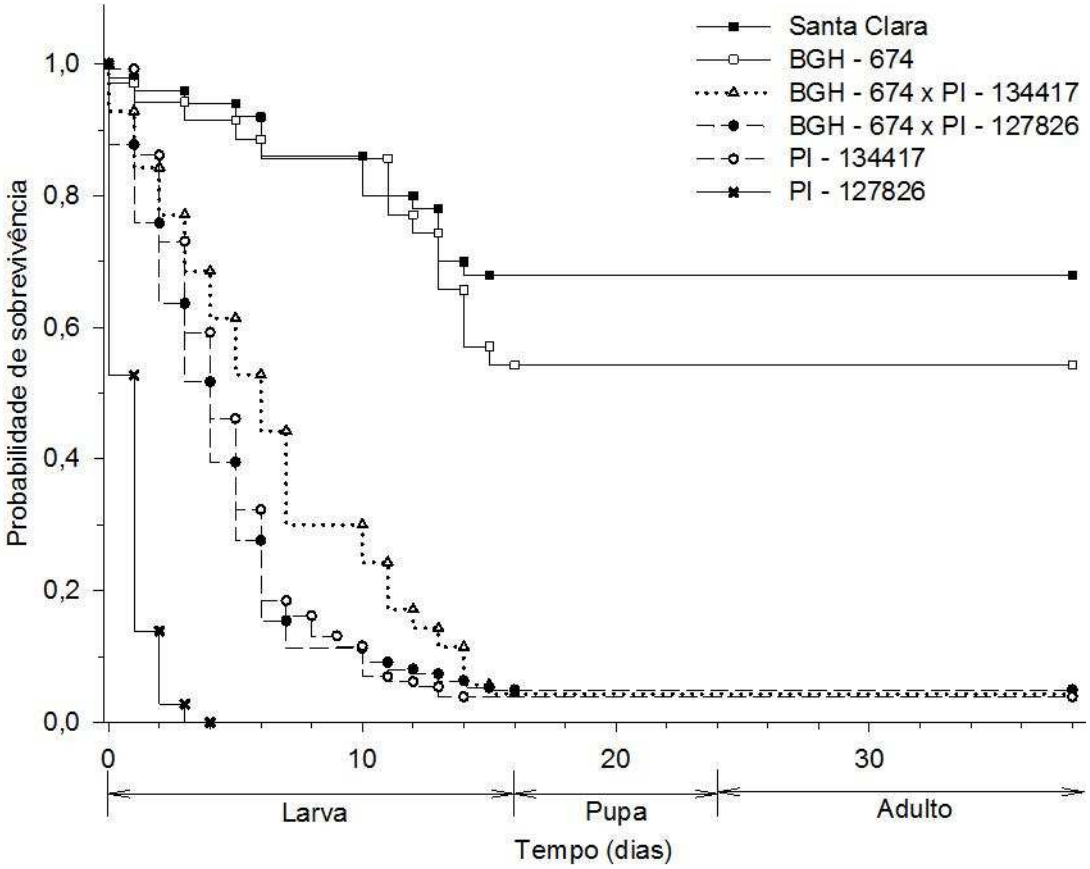

Figura 1 – Curvas de sobrevivência de *Tuta absoluta* desenvolvidas em plantas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI – 127826) e plantas resultantes do cruzamento entreBGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826.

Não foi possível estimar a TL_{50} para *T. absoluta* em Santa Clara e BGH-674 devido as mortalidades nestes genótipos terem sido inferior a 50%. Para ambas populações calculou-se apenas a TL_{25} e os intervalos fiduciais que foram 14 (IF_{95} = 12 – 16 dias) e 13 (IF_{95} 11 – 15 dias) respectivamente (Figura 2). O genótipo PI – 127826 ocasionou mortalidade superior a 25% antes da primeira avaliação, por este motivo não foi possível calcular o TL_{25}. Para este genótipo o TL_{50} foi de um dia (IF_{95} = 1 – 2) e o TL_{75} foi dois dias (IF_{95} = 2 – 3) (Figura 2). Para os outros genótipos foi possível estimar os três tempos letais bem como os intervalos fiduciais. Os tempos letais e os intervalos fiduciais para 25, 50 e 75% dos indivíduos desenvolvidos no genótipo PI – 134417 foram de 3 (IF_{95} = 3 – 4), 5 (IF_{95} = 5 – 6) e 7 (IF_{95} = 6 – 8) dias respectivamente (Figura 2). Para o genótipo BGH – 674 X PI – 134417 os tempos letais e os intervalos fiduciais para 25, 50 e 75% dos indivíduos foram de 4 (IF_{95} = 3 – 5), 7 (IF_{95} = 6 – 10) e 11 (IF_{95} = 10 – 13) dias respectivamente (Figura 2). Para o genótipo BGH – 674 X PI – 127826 os tempos letais e os intervalos fiduciais para 25, 50 e 75% dos indivíduos foram de 3 (IF_{95} = 2 – 3), 5 (IF_{95} = 4 – 5) e 7 (IF_{95} = 6 – 7) dias respectivamente (Figura 2).

Estes cálculos são estimativas do tempo letal para uma determinada porção da população. Para se estimar o tempo letal para metade da população que efetivamente morreu calculou-se o tempo médio letal. Este cálculo permite determinar qual genótipo tem uma ação mais rápida na mortalidade dos indivíduos. Dentre todos os genótipos apenas o tempo médio de mortalidade dos indivíduos no genótipo BGH – 674 (11,12 ± 1,17 dias) se assemelhou ao de Santa Clara (10,31 ± 1,08 dias) pelo teste Chi-quadrado ($p<0,05$).

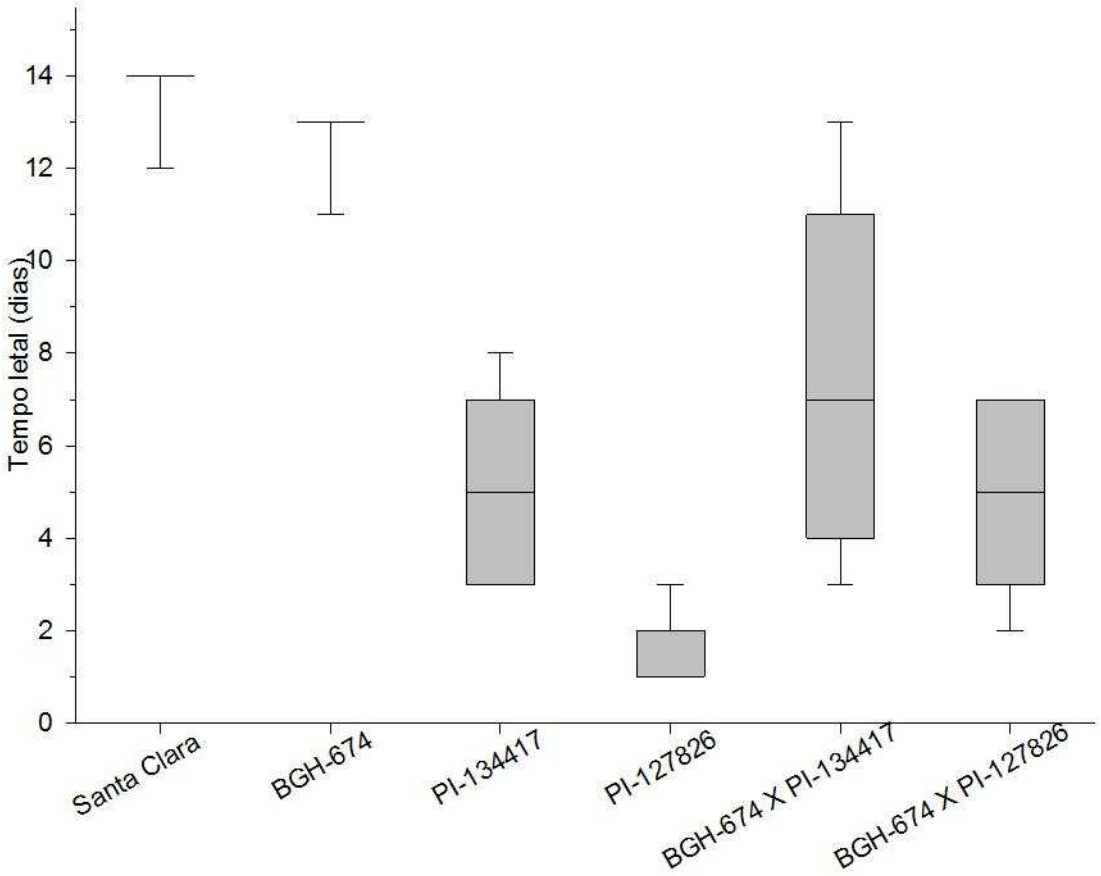

Figura 2 – Tempo letal médio de lagartas e pupas de*T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI – 127826) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*Solanum habrochaites*). Os *box plot* indicam o TL_{50}(mediana) e a dispersão (quartis inferior e superior).

3.2 Tabela de vida

Tabela de esperança de vida: Foram observadas diferenças nos estudos da tabela de fertilidade e esperança de vida de *T. absoluta*. A tabela de esperança de vida mensura parâmetros relacionados ao tempo de vida, mortalidade e sobrevivência de um determinado organismo. Neste trabalho foram estudados os parâmetros Sobrevivência, Mortalidade Real, Mortalidade Aparente e Peso de Pupas. Para estes cálculos foram utilizados dados de fertilidade dos ovos, peso de pupas e sobrevivência de *T. absoluta* desenvolvidas em cada genótipo estudado. Em todos estes parâmetros foram encontradas diferenças os tratamentos estudados. Em nenhum genótipo estudado foi observada mortalidade de adultos até o final do período de oviposição.

Entre todos os genótipos estudados as menores mortalidades ocorreram em plantas de Santa Clara (21,98%) e BGH – 674 (39,20%). Na variedade Santa Clara as mortalidades foram de 4,86% e 17,12% durante as fases de ovos e larvas respectivamente. Não foram observadas mortalidades durante a fase pupal neste genótipo. Em plantas de BGH – 674 as mortalidades foram de 7,94%, 21,00% e 10,26% nas fases de ovos, larvas e pupas, respectivamente. Portanto, um total de 78,02 e 60,80 insetos adultos emergiram cada 100 ovos que iniciaram o ciclo de vida em plantas de Santa Clara e BGH – 674 respectivamente (Figura 3).

Nos dois genótipos de *Solanum habrochaites* estudados (genótipo PI – 134417 e PI – 127826) foram observadas elevadas mortalidades. No genótipo PI – 134417 foi observada mortalidade total de 94,68% durante todo o ciclo de vida de *T. absoluta*. Neste genótipo a maior mortalidade ocorreu durante a fase larval (*100qx* = 75,82%) seguido da mortalidade durante a fase de ovos e pupas (57,03% e 49,22% respectivamente). Para o genótipo PI – 127826 não foi possível mensurar a mortalidade durante a fase de ovos, pupas e adultos pois toda a população morreu durante a fase larval. Portanto, para uma população que inicial de 100 ovos, 5,32 adultos emergiram na fase adulta para PI – 134417 e nenhum indivíduo chegou à fase adulta no PI – 127826. As elevadas mortalidades destes dois genótipos não indicam que eles poderiam compor um programa de melhoramento desta cultura. Para isso estas características devem

ser genéticas e herdáveis após o cruzamento com outras plantas de tomate (Figura 3).

O cruzamento entre os genótipos PI – 134417 e PI – 127826 com o genótipo BGH – 674 resultou em plantas que mantiveram a resistência a *T. absoluta.* No cruzamento com PI – 134417 o resultado foram plantas com resistência que ocasionaram mortalidade de 89,48% durante todo o ciclo. Esta mortalidade foi maior durante a fase de ovos (41,83%) seguida pela mortalidade na fase de larvas (40,34%) e pupas (7,31%). Não foram observadas mortalidades durante a fase adulta. Já no cruzamento com PI – 127826 o resultado foi uma população de plantas resistentes que ocasionaram mortalidade de 97,00% durante todo o ciclo. Esta mortalidade foi maior durante a fase de ovos (63,47%) seguida pela mortalidade na fase de larvas (32,96%) e pupas (0,57%). Não foram observadas mortalidades durante a fase adulta (Figura 3).

Todas as curvas de mortalidade de larvas de *T. absoluta* pelo tempo apresentaram ajuste positivo ($\alpha > 0,00$) e significativo ($p < 0,05$). O coeficiente angular (α) da curva de mortalidade durante a fase larval foi maior para insetos que se desenvolveram no genótipo PI – 127826 ($\alpha = 0,1129$) conforme indicado pelo intervalo de confiança à 95% de significância (Tabela 2). Já o genótipo PI – 134417 e os cruzamentos entre PI – 134417 e PI – 127826 com BGH – 674, apresentaram um coeficiente angular inferiores ao do genótipo PI – 127826. Para estes tratamentos os coeficientes angulares foram 0,0287, 0,0259 e 0,0213 respectivamente. Apesar de inferior ao coeficiente angular de PI – 127826, o coeficiente angular destes genótipos foram superiores aos coeficientes angulares dos tratamentos Santa Clara e BGH – 674. Para estes genótipos de *S. lycopersicum* os coeficientes angulares foram 0,0049 e 0,0048 respectivamente. Portanto, os genótipos de *S. habrochaites* bem como os cruzamento entre *S. habrochaites* com BGH – 674 resultaram em maior mortalidade de lagartas de *T. absoluta.*

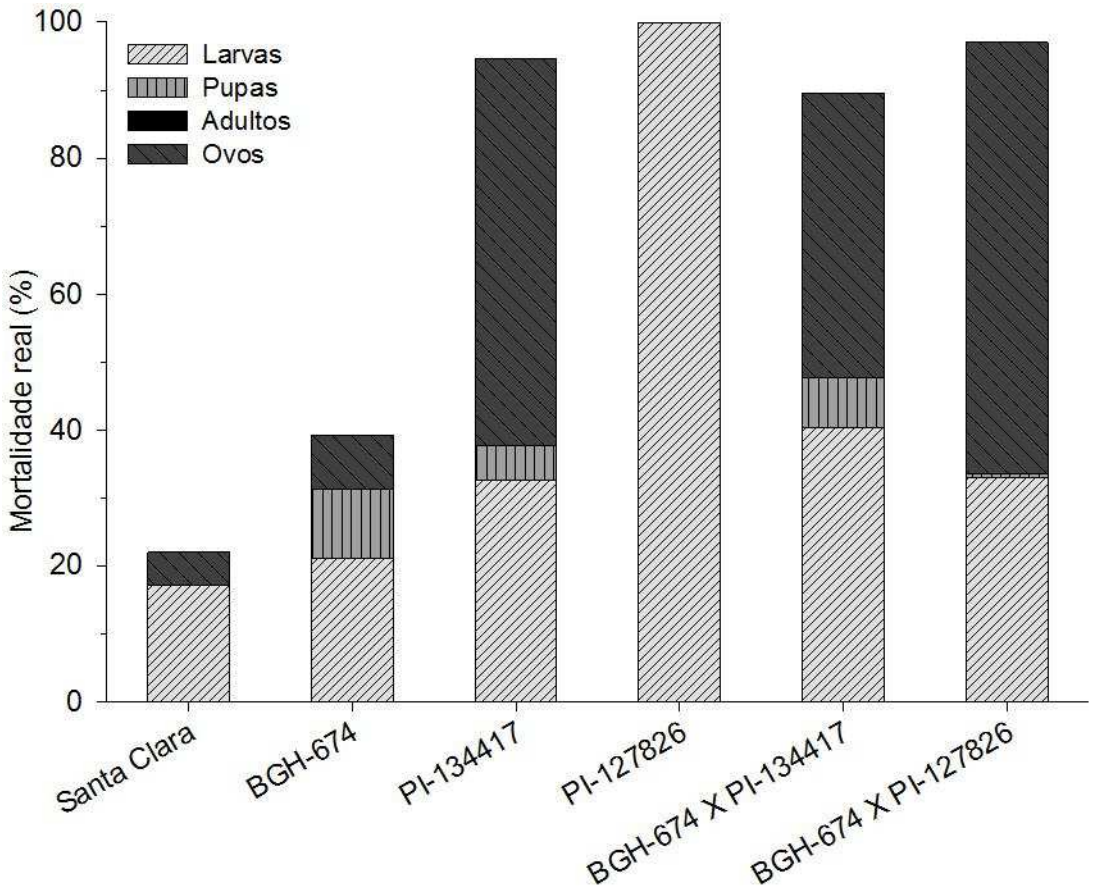

Figura 3 – Mortalidade aparente (*100_{rx}*) de Larvas, pupas, adultos e ovos de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipos PI – 134417 e PI - 127826) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*Solanum habrochaites*).

Tabela 2: Curva das mortalidades de larvas de *Tuta absoluta* em função do tempo de desenvolvimento em plantas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI – 127826) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826.

Genótipo	α	IC_{95}	F	R^2	P
		Larvas			
Santa Clara	0,0049	0,0040-0,0057	158,56	91,84	<0,0001
BGH-674	0,0048	0,0037-0,0059	87,29	86,04	<0,0001
PI-134417	0,0287	0,0245-0,0329	220,21	90,00	<0,0001
PI-127826	0,1129	0,0952-0,1357	189,64	93,09	<0,0001
BGH-674 X PI-134417	0,0259	0,0219-0,0299	195,13	93,27	<0,0001
BGH-674 X PI-127826	0,0213	0,0184-0,0243	240,44	94,48	<0,0001

No cabeçalho: α é inclinação da curva de regressão; IC_{95} é o intervalo de confiança do coeficiente angular da curva a 95% de probabilidade; F é o valor calculado no Teste F; R^2 é o coeficiente de determinação da curva de regressão e p é a significância da curva.

Além da sobrevivência, o fitness é também um parâmetro que quantifica a resistência de plantas a insetos. Dentre os estudos de fitness em populações de insetos, o peso de pupas é bastante utilizado. Esta medida quantifica o quanto um inseto conseguiu acumular a mais de massa corporal durante seu desenvolvimento em comparação com outro inseto sob mesmas condições. Portanto o peso de pupas foi mensurado para as pupas que se formaram em cada tratamento estudado. O peso das pupas que se desenvolveram em plantas de PI-134417 e BGH-674 X PI-134417 (3,04 ± 0,28 e 2,67 ± 0,24 µg) foram inferior ao peso das pupas fêmeas que se desenvolveram em plantas de Santa Clara (4,25 ± 0,15 µg) pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Para todas os demais tratamentos o peso das pupas foram semelhantes ao peso das pupas em Santa Clara. As pupas do tratamento BGH-674, e BGH-674 X PI-127826 atingiram pesos de 4,13µg (± 0,41µg) e 3,41µg (± 0,17µg) (Figura 4).

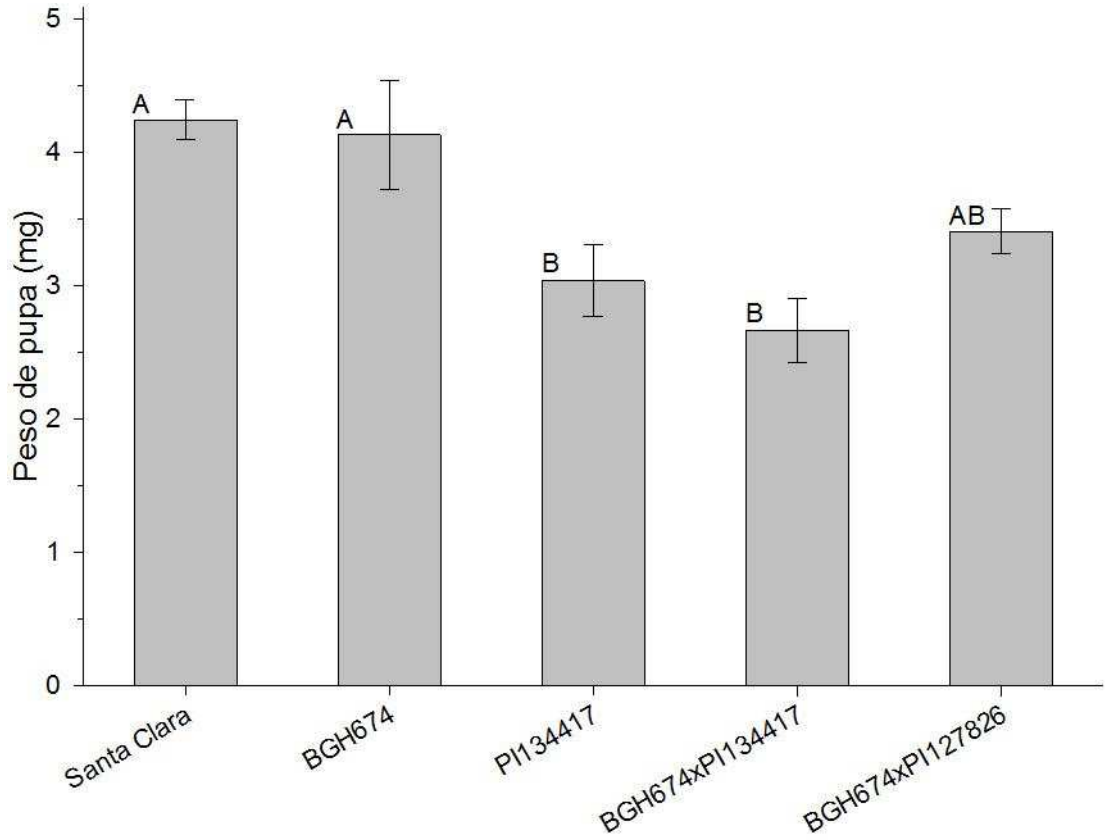

Figura 4 –Peso médio de pupas de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipo PI – 134417) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*Solanum habrochaites*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Tabela de fertilidade de T. absoluta: A mortalidade e o fitness de insetos são medidas importantes na quantificação de plantas resistentes. Estes parâmetros fazem inferências diretas da resistência no próprio indivíduo estudado. Porém o principal efeito de toxinas (sintéticas ou não) em insetos se deve à redução da capacidade de reprodução. Este efeito tem grande importância pois tem ação não apenas no indivíduo, mas sim em população. Para se estudar a atividade destas toxinas em populações de insetos a principal ferramenta é a tabela de fertilidade que possui vários parâmetros que mensuram a capacidade de reprodução, a fertilidade, tempo de desenvolvimento e crescimento populacional.

Entre as populações estudadas, a que obteve maior valor da Taxa Líquida de Reprodução foi a população de BGH-674 (72,24 ± 1,36). Este valor foi superior ao valor da população de Santa Clara onde o valor de fêmeas produzidas por cada fêmea foi de 52,38 (± 0,87). Este valor superior significa que a população de BGH-674 tem o crescimento populacional maior do que a população da testemunha Santa Clara. Todas as outras populações as Taxas Líquidas de Reprodução foram inferiores à população de Santa Clara. Entre todas as populações, as menores Taxas Líquidas de Reprodução foram as de PI-134417 e BGH-674 x PI-127826. Para estas populações os valores de R_0 foram de 1,66 (± 0,13) e 2,07 (± 0,07) respectivamente. A Taxa Líquida de Reprodução da população de BGH-674 x PI-134417 foi baixa, ficando com um valor de 12,78 (± 0,37) (Figura 5). A Taxa Líquida de Reprodução é diretamente relacionada com a sobrevivência e reprodução dos indivíduos da população estudada. Para se mensurar a reprodução pode ser utilizada a fecundidade específica.

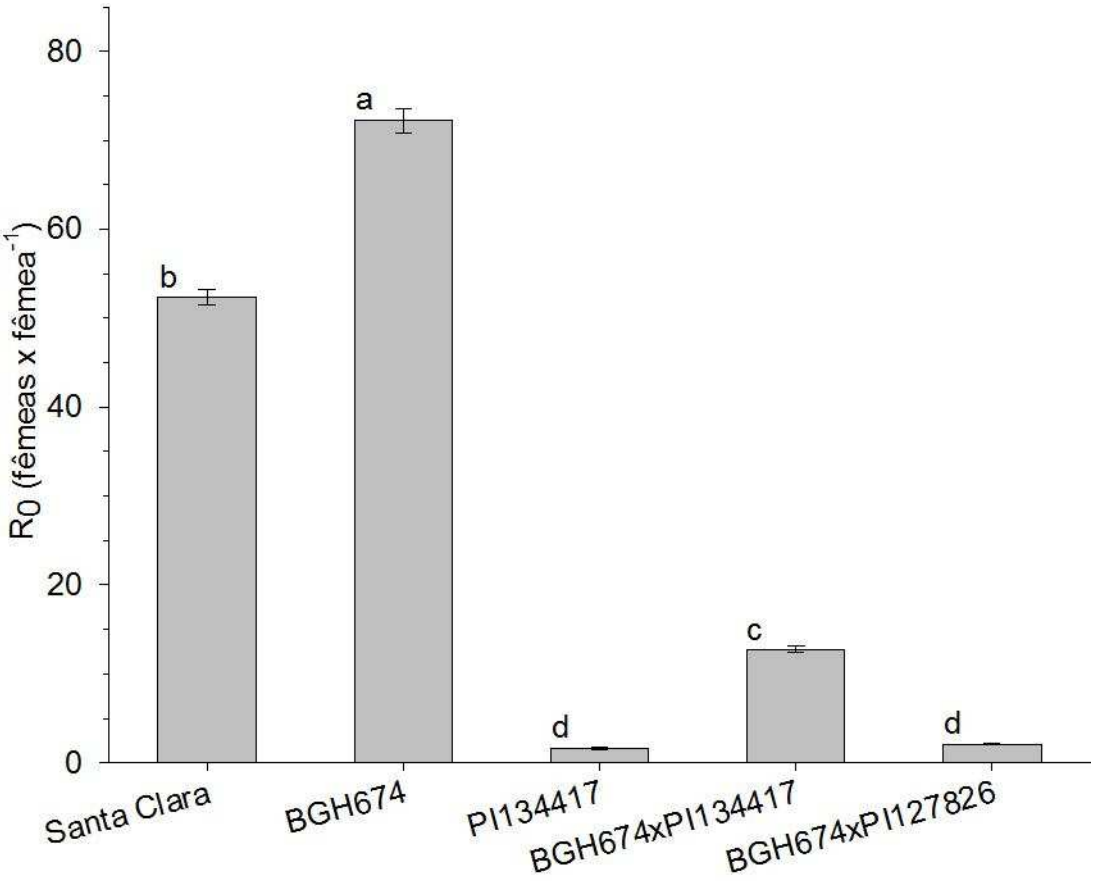

Figura 5 – Taxa líquida de reprodução (R_0) de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *S. lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

A fecundidade específica consiste na média de descendentes fêmeas produzido por uma fêmea durante um pré-determinado período. Para este estudo utilizou-se o período de avaliação que consistiu entre a emersão do primeiro casal até o último dia de oviposição. Entre os tratamentos que compuseram este trabalho a população com maior fertilidade específica foi a de BGH-674. Esta população obteve uma fertilidade específica de 5,9 (± 0,22) fêmeas geradas por cada fêmea adulta fértil a cada dia (Figura 6). As fêmeas desta população ovipositaram durante 9 dias (Figura 7 B) gerando, cada fêmea, uma prole de 119,41 indivíduos, em média.

As populações de Santa Clara e PI-134417 foram as com menor número de descendentes fêmeas geradas por cada fêmea adulta. Ambas obtiveram fertilidade específica de 2,90 (± 0,07) e 3,01 (± 0,69) respectivamente (Figura 6). As fêmeas da população de Santa Clara ovipositaram durante 12 dias, gerando uma prole total de 69,57 indivíduos cada fêmea (Figura 7 A). As fêmeas da população de PI-134417 ovipositaram por um período de apenas seis dias, gerando uma prole de apenas 36,13 indivíduos cada fêmea (Figura 7 E). As fertilidades específicas das populações de BGH-674 x PI-134417 e BGH-674 com PI-127826 foram maiores do que a testemunha Santa Clara. Nestas populações as fêmeas geraram, cada uma, proles de 4,89 (± 0,48) e 3,51 (± 0,23) respectivamente (Figura 6). O período de oviposição da população BGH-674 x PI-134417 foi de 10 dias e cada fêmea gerou uma prole de 127,04 indivíduos (Figura 7 D). A população de BGH-674 x PI-127826 ovipositou durante 12 dias, gerando cada fêmea uma prole de 70,13 indivíduos (Figura 7 C).

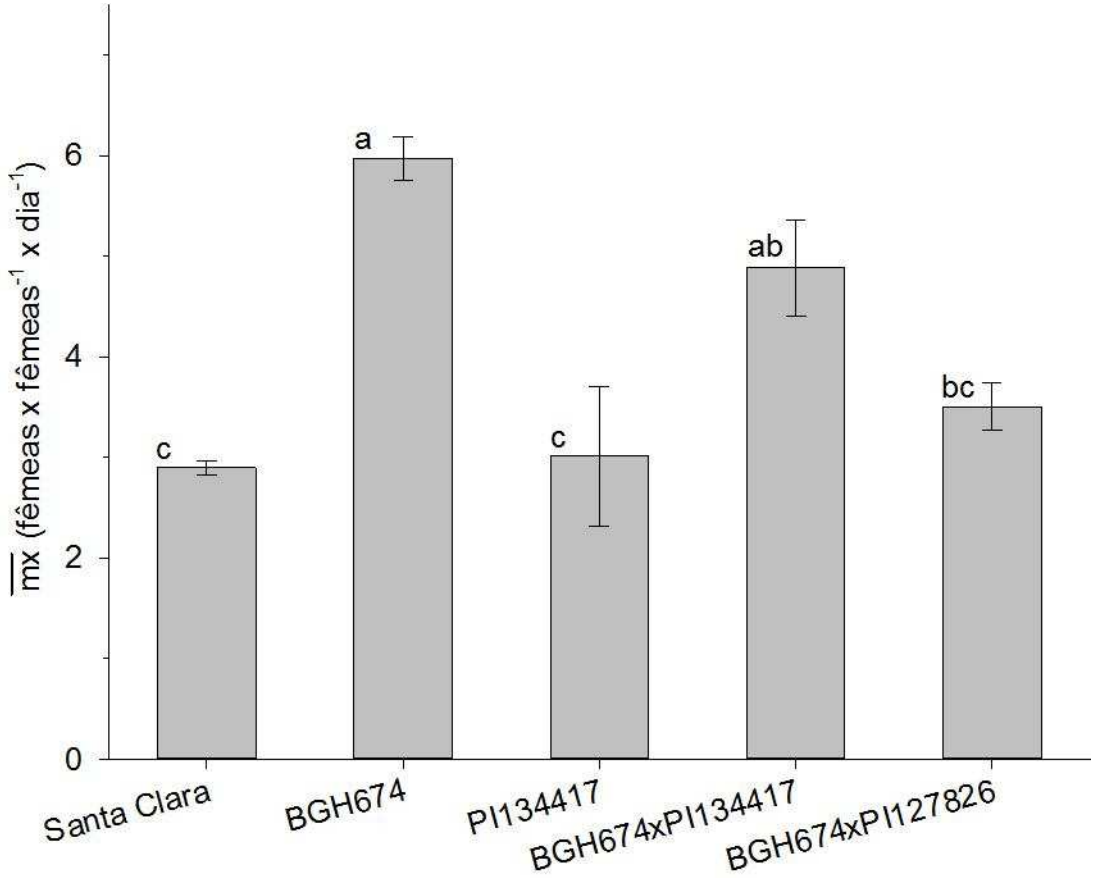

Figura 6 – Fertilidade específica (m_x médio) de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *S. lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

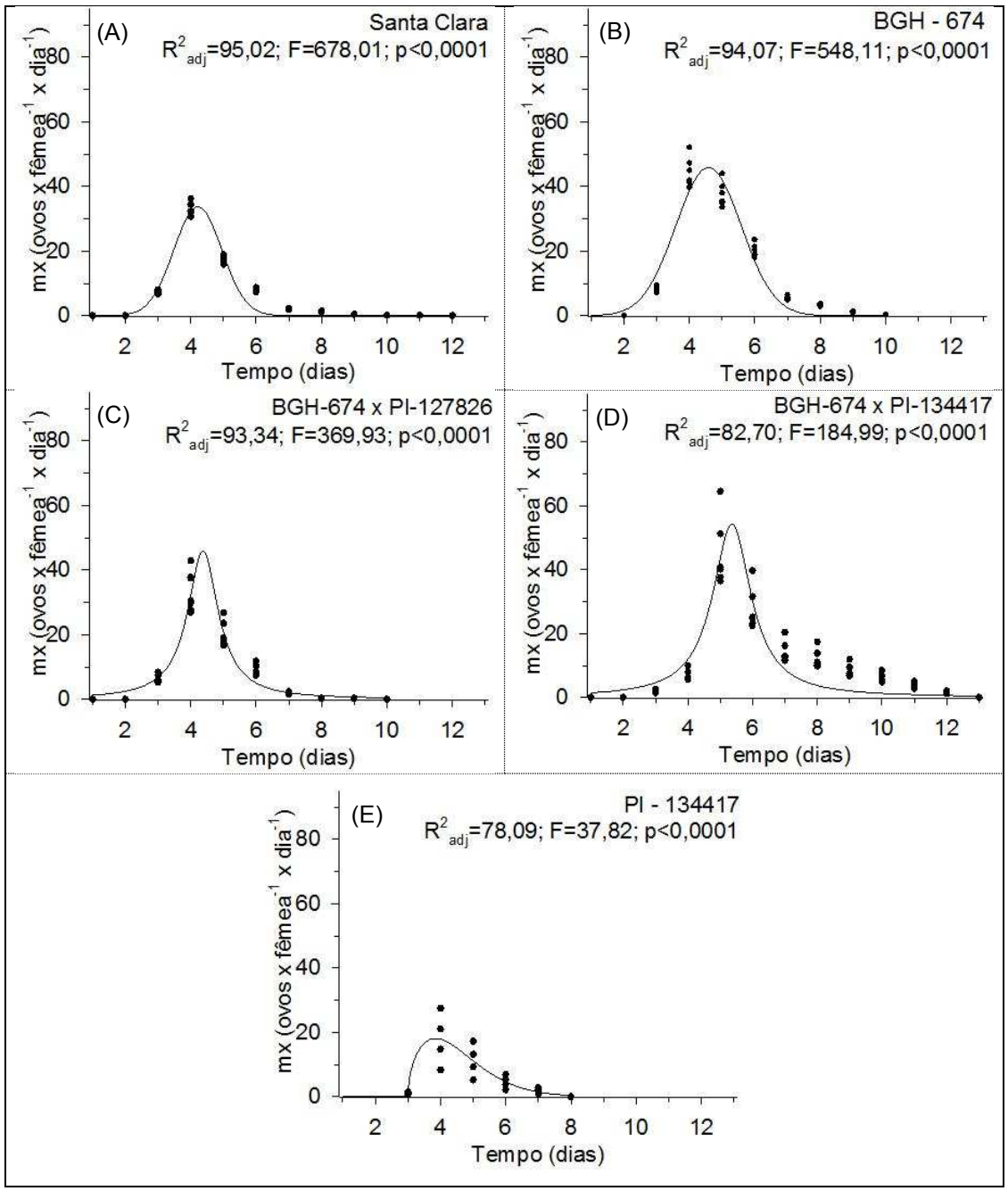

Figura 7 – Perfil de fecundidade (m_x) de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *S. lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Outro parâmetro utilizado para mensurar a resistência de plantas à insetos consiste no tempo de geração. Por definição este parâmetro consiste no tempo necessário para que uma população gere outra população de mesma idade. Dentre todas as populações estudadas não houve diferença entre os tempos de geração. Para os insetos que se desenvolveram em plantas de *Solanum lycopersicum* os tempos de geração foram de 34,58 (± 0,12 dias) e 34,88 (± 0,10 dias) para as populações de Santa Clara e BGH-674 respectivamente (Figura 8). O tempo de geração para os insetos desenvolvidos em plantas de *Solanum habrochaites* (população de PI-134417) foi de 36,37 (± 4,25 dias) (Figura 8). Para as populações resultantes entre o cruzamento de BGH-674 com PI-134417 e PI-127826 os tempos de gerações foram de 36,43 (± 0,38 dias) e 35,03 (± 1,45 dias) respectivamente (Figura 8). Não houve diferença significativa entre os tempos de geração pelo teste Tukey ($p<0,05$).

Outra estimativa importante em estudos de tabela de vida é o Tempo de Duplicação. Este parâmetro consiste no intervalo de tempo necessário para que uma população inicial duplique de tamanho. Para estes parâmetros, as populações de BGH-674 e BGH-674 x PI-134417 não diferiram da população de Santa Clara pelo teste Tukey ($p<0,005$). O Tempo de Duplicação para estas populações foram de 5,65 (± 0,03 dias), 9,91 (± 0,11 dias) e 6,06 (± 0,03 dias) respectivamente (Figura 9). Os Tempos de Duplicação das populações de PI-134417 e BGH-674 x PI-127826 foram superiores ao de Santa Clara sendo que a população de PI-134417 foi a mais elevada. Para esta população o tempo necessário para que uma população duplique de tamanho é de 52,07 (± 8,31) dias (Figura 9). Para a população de BGH-674 x PI-134417 o tempo de duplicação foi de 33,70 (± 1,58 dias).

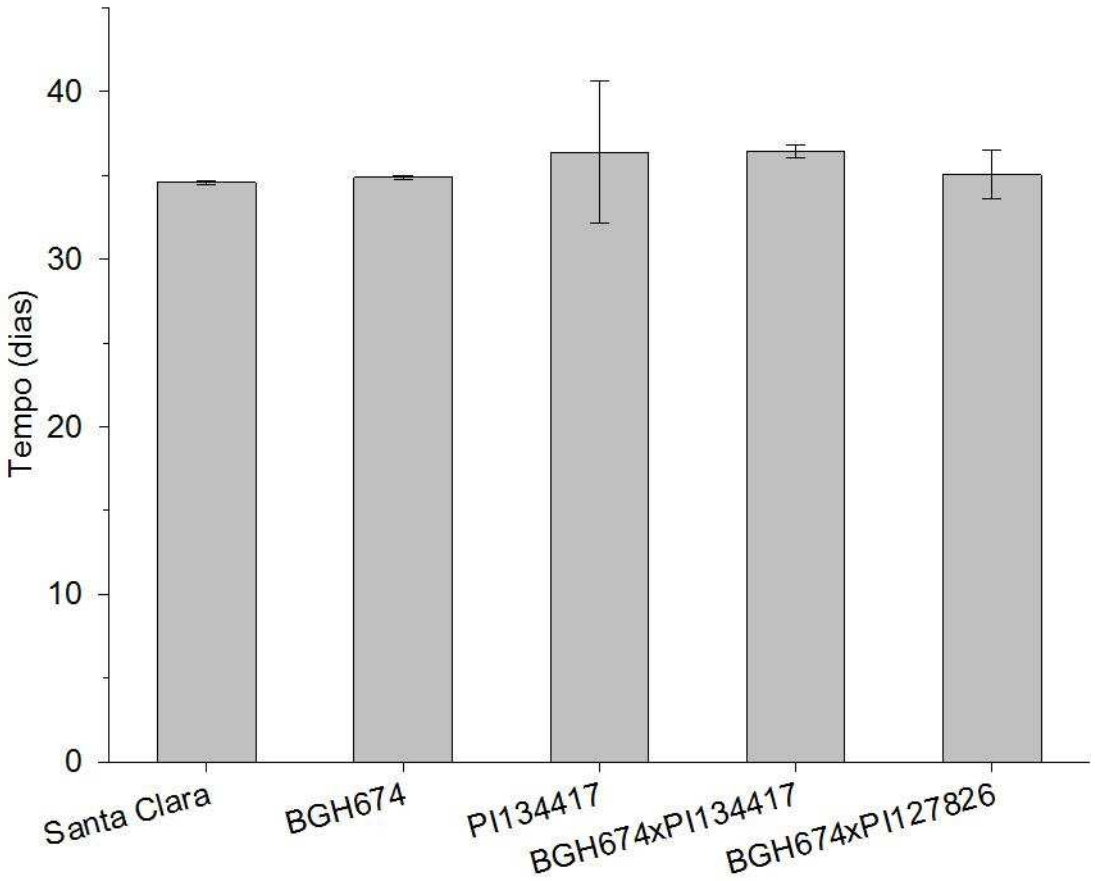

Figura 8 – Tempo de geração (dias) de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *S. lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*).

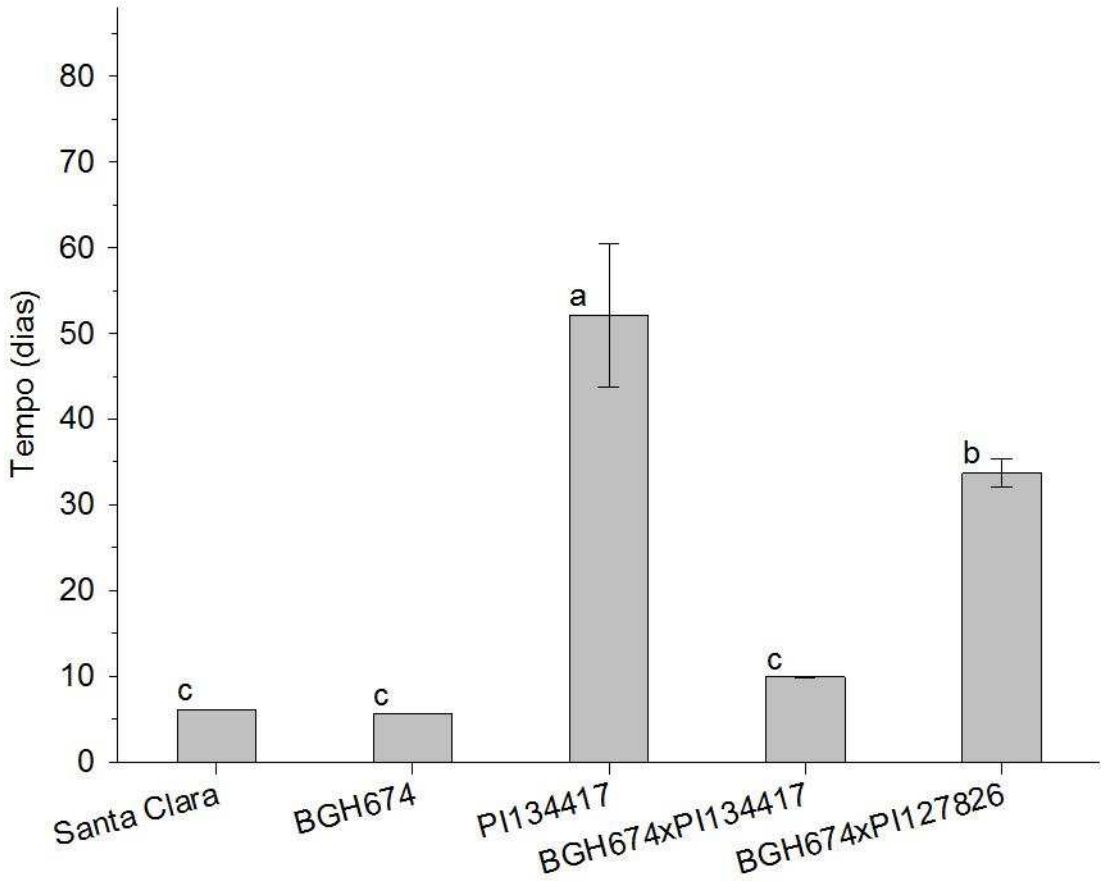

Figura 9 – Tempo médio de duplicação (dias) de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *S. lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Todos os parâmetros estudados são importantes pois mostram como os genótipos atuam pontualmente em cada parâmetro de uma população. Para determinar se um genótipo pode ser considerado resistente a atividade deste deve ser mensurada em conjunto com características de sobrevivência e fertilidade. Para isso foi calculada a Razão Infinitesimal de Aumento Populacional (r_m). Esta taxa determina se uma população vai aumentar exponencialmente ($r_m>0$), permanecer constante ($r_m=0$) ou diminuir até a extinção ($r_m<0$). O r_m da população de Santa Clara foi de 0,1145 (± 0,0005). Entre os tratamentos estudados apenas o r_m da população de BGH-674 (0,1227 ± 0,0006) foi superior ao da população de Santa Clara (Figura 10). As populações com a menor rm foram a PI-134417 e BGH-674 x PI-127826. Para estas populações o valor de rm foi de 0,0144 (± 0,0023) e 0,0209 (± 0,0013) respectivamente (Figura 10). A população de BGH-674 x PI-134417 obteve um valor de rm de 0,0701 (± 0,0008) (Figura 10).

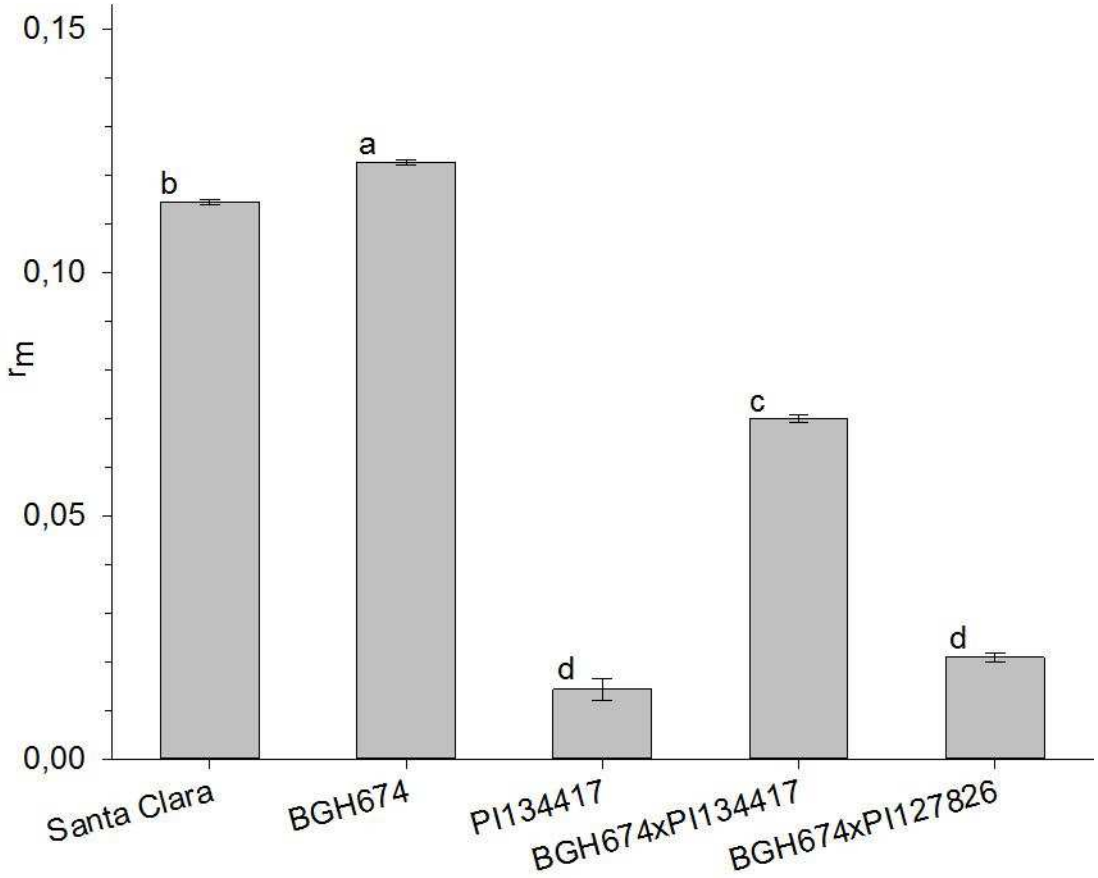

Figura 10 – Razão infinitesimal de aumento populacional (r_m) de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *S. lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

3.3 Atividade dos genótipos sob o predador *B. pallescens*

Além dos estudos da ação de plantas resistentes ao organismo alvo, entender como esta resistência interfere em organismos não alvo é de crucial importância. Para o presente estudo utilizou-se como organismo não alvo modelo o percevejo *Blaptostethus pallescens,* predador reconhecidamente importante de *T. absoluta* (Pereira, 2013). Para identificar possíveis ações da resistência presente nas plantas estudadas em *B. pallescens* realizou-se três experimentos. Os dois primeiros experimentos tiveram como objetivo determinar o efeito dos genótipos estudados no comportamento de *B. pallescens* em um teste com livre escolha e um teste sem livre escolha para o percevejo. Para estes experimentos foi avaliado o tempo de execução e a frequência que o percevejo iniciou cada comportamento. Para comparação do tempo de execução dos comportamentos foi realizado o teste de Friedeman ($p<0,05$) para cada comportamento em cada par de tratamento estudado. Para a comparação da frequência de início de cada comportamento foi realizado o teste Chi-quadrado ($p<0,05$) para cada comportamento em cada par de tratamento estudado.

Inicialmente foi realizado o teste pareado com livre escolha para o percevejo. Quando pareados os genótipos Santa Clara com BGH-674 não houve diferença entre os comportamentos estudados bem como não houve diferença entre as frequência de execução destes comportamentos (Figura 11). Quando comparados os dois genótipos de *S. habrochaites* (PI-134417 e PI-127826), não foram encontradas diferenças significativas entre os comportamentos do percevejo bem como entre as frequências que o percevejo iniciou cada comportamento ($p<0,05$) (Figura 11).

Após a comparação entre os genótipos de mesma espécie, foram comparados de maneira pareada um genótipo de cada espécie. Inicialmente foi realizada a comparação entre os tratamentos Santa Clara com PI-127826. Nesta comparação foram identificadas diferenças significativas pelo teste de Friedman apenas entre o tempo que o percevejo permaneceu parado. Para estes comportamentos os tempos em Santa Clara e PI-1127826 foram de 0,76 e 0,19 minutos ($p=0,05$) respectivamente. A frequência dos comportamentos caminhamento lento e o comportamento total foram diferentes pelo teste Chi-

quadrado (p<0,05). Já a frequência de execução destes comportamentos não diferiram entre si (Figura 12).

Quando comparado o tratamento Santa Clara com PI-134417 foi identificada diferença significativa pelo teste de Friedman em todos os comportamentos avaliados. Para estas comparações os tempos em Santa Clara e PI-134417 foram de 0,58 e 0,10 minutos (p<0,05) para o comportamento parado, 5,36 e 3,92 minutos (p<0,05) para caminhamento, 0,29 e 0,01 minutos (p<0,05) para o grooming e 6,24 e 4,03 minutos (p<0,05) para o comportamento total. Pela análise de frequência foi possível identificar diferenças apenas entre o comportamento de caminhar pelo teste Chi-quadrado (p<0,05). A frequência que o percevejo iniciou o comportamento de caminhar em Santa Clara (F_{ri}=55,2%) foi superior quando comparado com a frequência do mesmo comportamento em PI-134417 (Fri=32,65%). Para todos os outros comportamentos a análise de frequência não identificou diferença (Figura 12).

Quando comparado o tratamento BGH-674 com PI-127826 foi possível identificar diferença significativa pelo teste de Friedman em todos os comportamentos. Para estes comportamentos os tempos em BGH-674 e PI-127826 foram de 0,79 e 0,13 minutos (p=0,05), 5,40 e 3,28 minutos (p<0,05), 0,58 e 0,03 minutos (p<0,05) e 6,78 e 3,45 minutos (p=0,05) respectivamente. A frequência de ficar parado do percevejo no BGH-674 (F_{ri}=6,45%) foi superior quando comparado com a frequência do mesmo comportamento em PI-127826 (Fri=0,36%). A frequência de caminhamento do percevejo no BGH-674 (F_{ri}=52,45%) foi superior quando comparado com a frequência do mesmo comportamento em PI-127826 (Fri=31,05%). A frequência que o percevejo executou o *Grooming* no BGH-674 (F_{ri}=10,39%) foi superior quando comparado com a frequência do mesmo comportamento em PI-127826 (Fri=0,89%). A frequência total dos comportamentos do percevejo no BGH-674 (F_{ri}=66,13%) foi superior quando comparado com a frequência do mesmo comportamento em PI-127826 (Fri=33,87%) (Figura 13).

Quando comparado o tratamento BGH-674 com PI-134417 não foram identificadas diferenças entre nenhum comportamento pelo teste de Friedman bem como não foram identificadas diferenças entre as frequências de execução destes comportamentos (Figura 13).

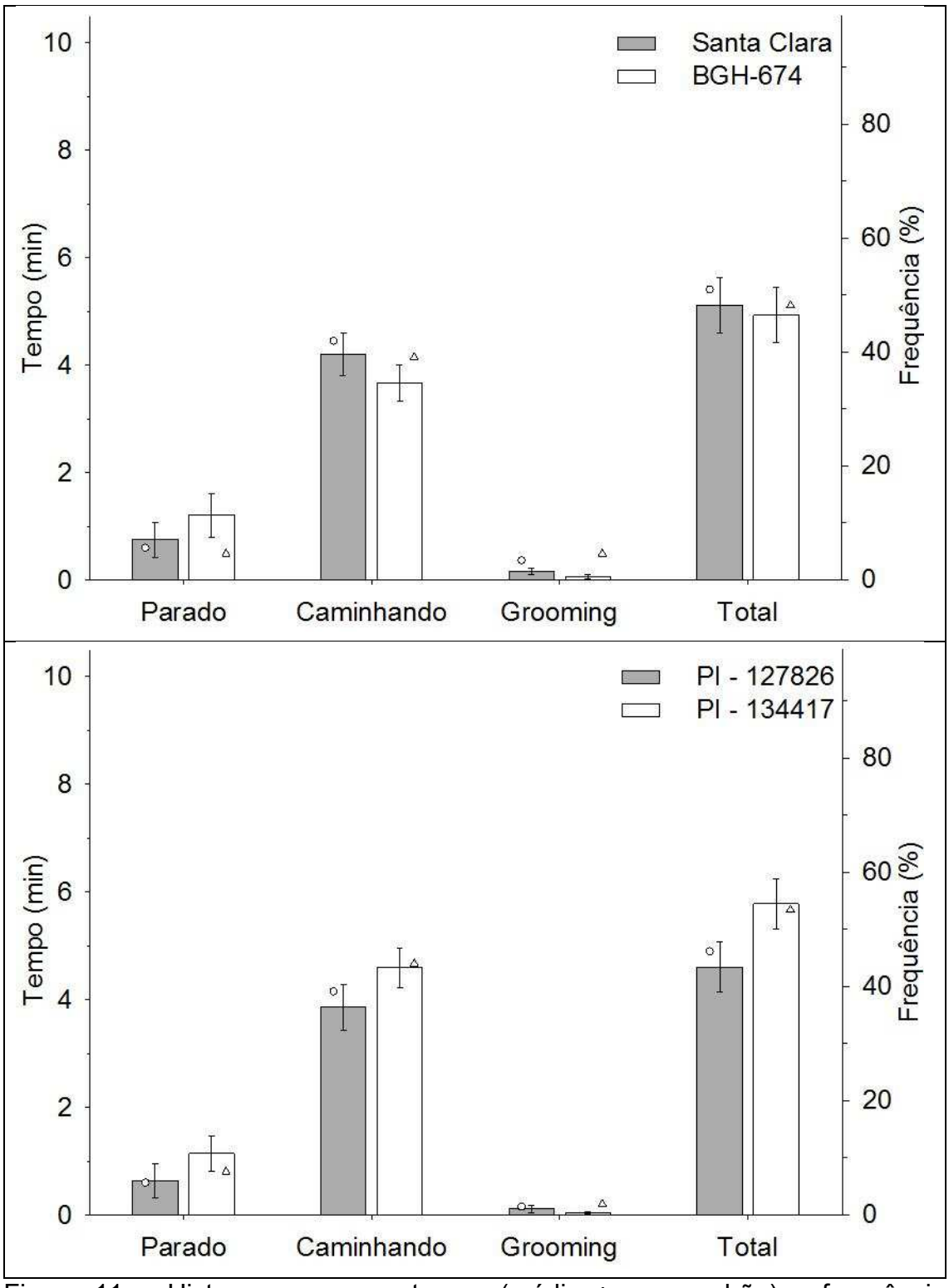

Figura 11 – Histograma com o tempo (média ± erro padrão) e frequência (símbolos - círculos e triângulos) de *B. pallescens* parado, caminhando, executando *grooming* e tempo total em teste de livre escolha entre dois genótipos de tomateiro. Médias seguidas por um asterisco nos histogramas indica diferença significativa do comportamento de *B. pallescens* entre os dois genótipos pelo teste de Friedman, ($p < 0,05$). Símbolos cheios indicam diferenças significativas entre as frequências do comportamento entre os dois genótipos pelo teste Chi-quadrado ($p<0,05$).

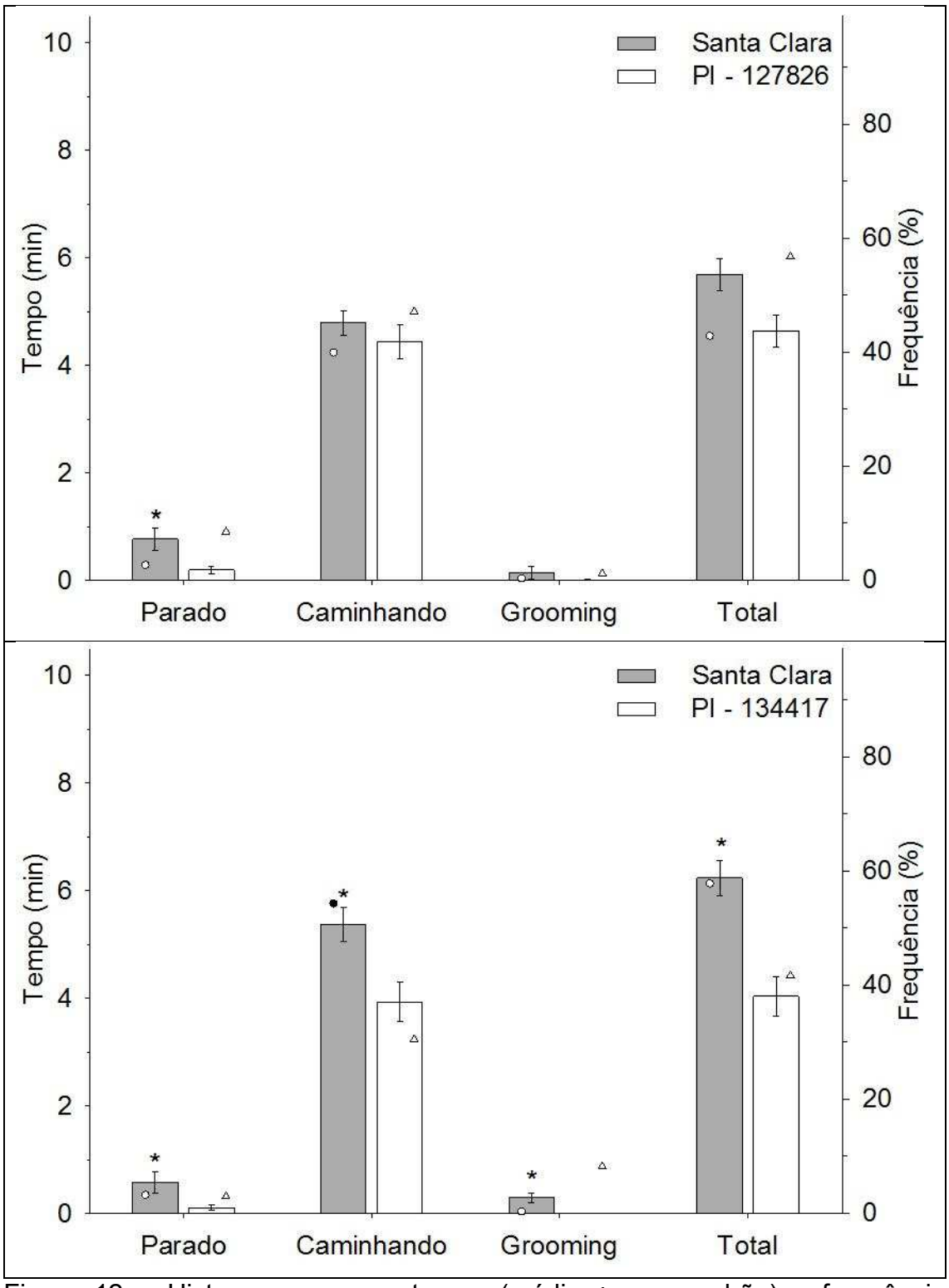

Figura 12 – Histograma com o tempo (média ± erro padrão) e frequência (símbolos - círculos e triângulos) de *B. pallescens* parado, caminhando, executando *grooming* e tempo total em teste de livre escolha entre dois genótipos de tomateiro. Médias seguidas por um asterisco nos histogramas indica diferença significativa do comportamento de *B. pallescens* entre os dois genótipos pelo teste de Friedman, ($p < 0,05$). Símbolos cheios indicam diferenças significativas entre as frequências do comportamento entre os dois genótipos pelo teste Chi-quadrado ($p<0,05$).

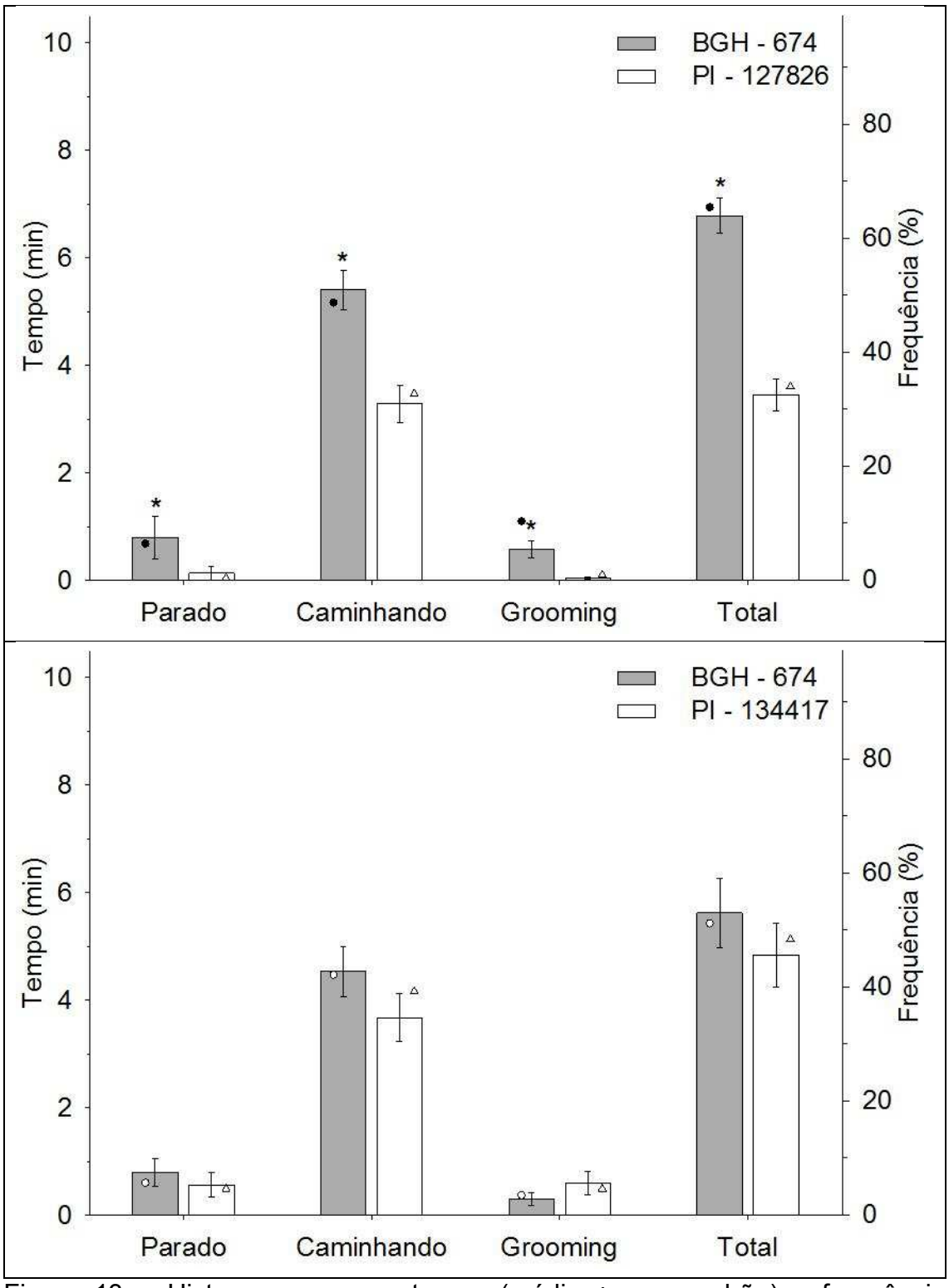

Figura 13 – Histograma com o tempo (média ± erro padrão) e frequência (símbolos - círculos e triângulos) de *B. pallescens* parado, caminhando, executando *grooming* e tempo total em teste de livre escolha entre dois genótipos de tomateiro. Médias seguidas por um asterisco nos histogramas indica diferença significativa do comportamento de *B. pallescens* entre os dois genótipos pelo teste de Friedman, ($p < 0,05$). Símbolos cheios indicam diferenças significativas entre as frequências do comportamento entre os dois genótipos pelo teste Chi-quadrado ($p<0,05$).

A avaliação comportamental com escolha entre dois genótipos foi complementada com um teste com livre escolha de alimentação. Este teste foi realizado com os mesmos pares de tratamentos do bioensaio acima descrito. Para este bioensaio foram avaliados o número de ovos predados durante 24 horas em cada folíolo. Entre todos os pares de tratamentos estudados apenas para o par Santa Clara com PI-134417 e Santa Clara com PI-127826 foram identificadas diferenças estatísticas entre o número de ovos predados entre os tratamentos. Para estes pares de tratamentos, o número médio de ovos predados nos folíolos de Santa Clara foi de 3,43 (± 0,61) e o número de ovos predados nos folíolos de PI-134417 foi de 0,91 (± 0,15) (Figura 14). Para o pare de tratamentos Santa Clara e PI – 127826 o número de ovos predados foi de 2,9 (± 0,90) e 1,30 (± 0,32) respectivamente (Figura 14).

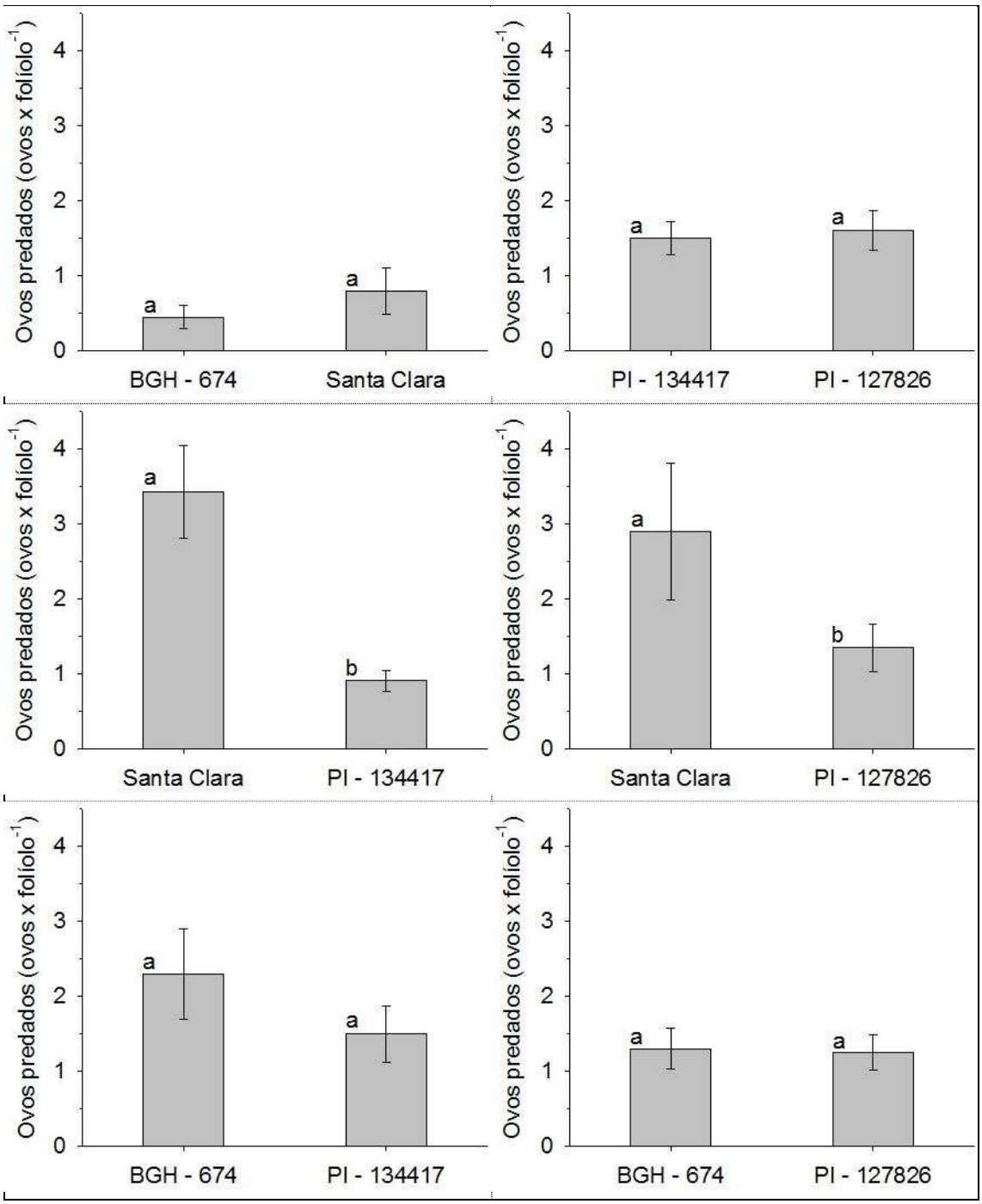

Figura 14 – Ovos de *T. absoluta* predados por *B. pallescens* (média ± erro padrão) em um teste com livre escolha entre dois genótipos de tomates. Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Friedman a p <0,05.

Por fim, foi realizado um teste de comportamento sem escolha ao percevejo, sendo avaliados os mesmos parâmetros do teste com escolha. Para a comparação entre os tempos em cada tratamento foi realizado o teste Friedman ($p<0,05$), para avaliação da frequência de início de cada comportamento foi realizado o teste Chi-quadrado ($p<0,05$). Para o comportamento parado não houve diferença entre o tempo de comportamento médio do percevejo em cada tratamento. Para os tratamentos Santa Clara, BGH-674, PI-134417 e PI-127826 os tempos que o percevejo ficou parado foram de 0,98 (± 0,26) minutos, 2,33 (±.0,52) minutos, 1,47 (±.0,39) minutos e 1,63 (±.0,47) minutos respectivamente. Não foram identificadas entre os genótipos diferenças na frequência que os percevejos permaneceram executando este comportamento. Para os tratamentos Santa Clara, BGH-674, PI-134417 e PI-127826 as frequências foram 24,72%, 17,44%, 25,50% e 33,99% respectivamente (Figura 15).

O tempo que o percevejo realizou o comportamento de caminhamento lento foi superior no genótipo PI-127826. Neste genótipo o percevejo ficou 7,71 (± 0,46) minutos realizando este comportamento. Para os genótipos Santa Clara, BGH-674 e PI-134417 o percevejo realiza este comportamento durante 3,82 (± 0,71) minutos, 3,50 (± 0,46) minutos e 5,03 (± 0,69) minutos respectivamente. A frequência deste comportamento pelos percevejos quando sob folhas dos genótipos BGH-674 (F_{ri}=38,25%), PI-134417 (F_{ri}=37,67%) e PI-127826 (F_{ri}=48,69%) foram superiores à frequência em Santa Clara (F_{ri}=28,98%) (Figura 15).

Apenas para o genótipo PI-127826 o tempo do comportamento de caminhar em velocidade normal foi inferior ao Santa Clara. Os percevejos sob este genótipo permaneceram apenas 0,62 (± 0,16) minutos com este comportamento. Para os tratamentos Santa Clara, BGH-674 e PI-134417 o tempo que os percevejos permaneceram executando este comportamento foram de 4,53 (± 0,75) minutos, 3,24 (± 0,62) minutos e 2,96 (± 0,74) minutos respectivamente. A frequência deste comportamento pelos percevejos quando sob folhas dos genótipos PI-127826 (F_{ri}=0,25%) foi inferior à frequência em Santa Clara (F_{ri}=4,53%). Para os genótipos BGH-674 (F_{ri}=3,22%) e PI-134417 (F_{ri}=2,73%) a frequência deste comportamento não diferiu do mesmo comportamento em Santa Clara (Figura 15).

Para o comportamento de caminhamento rápido não houve diferença entre os tempos em cada tratamento. Para os tratamentos Santa Clara, BGH-674 os tempos que o percevejo permaneceu executando este comportamento foram de 0,30 (± 0,19) minutos, 0,11 (±.0,06) minutos respectivamente. Não foi possível identificar diferença nas frequências deste comportamento entre os tratamentos Santa Clara (Fri=2,19%) e BGH-674 (Fri=1,16%). Não foi observado o comportamento de caminhamento rápido nos tratamentos PI-134417 e PI-127826 (Figura 15).

O tempo realizando o comportamento de *Grooming* não diferiu entre os tratamentos estudados. Para os genótipos Santa Clara, BGH-674, PI-134417 e PI-127826 os tempos realizando este comportamento foram de 0,49 (± 0,13) minutos, 2,22 (± 0,48) minutos, 0,89 (± 0,22) minutos e 0,77 (± 0,22) minutos respectivamente. A frequência deste comportamento pelos percevejos quando sob folhas do genótipo BGH-674 (F_{ri}=18,84%) foi superior à frequência em Santa Clara (F_{ri}=13,92%). Para os genótipos PI-134417 (F_{ri}=12,60%) e PI-127826 (F_{ri}=15,34%) a frequência deste comportamento não diferiu do mesmo comportamento em Santa Clara (Figura 15). O vôo só foi observado no tratamento PI-134417. Este comportamento ocorreu com uma frequência de F_{ri}=1,37% neste tratamento (Figura 15).

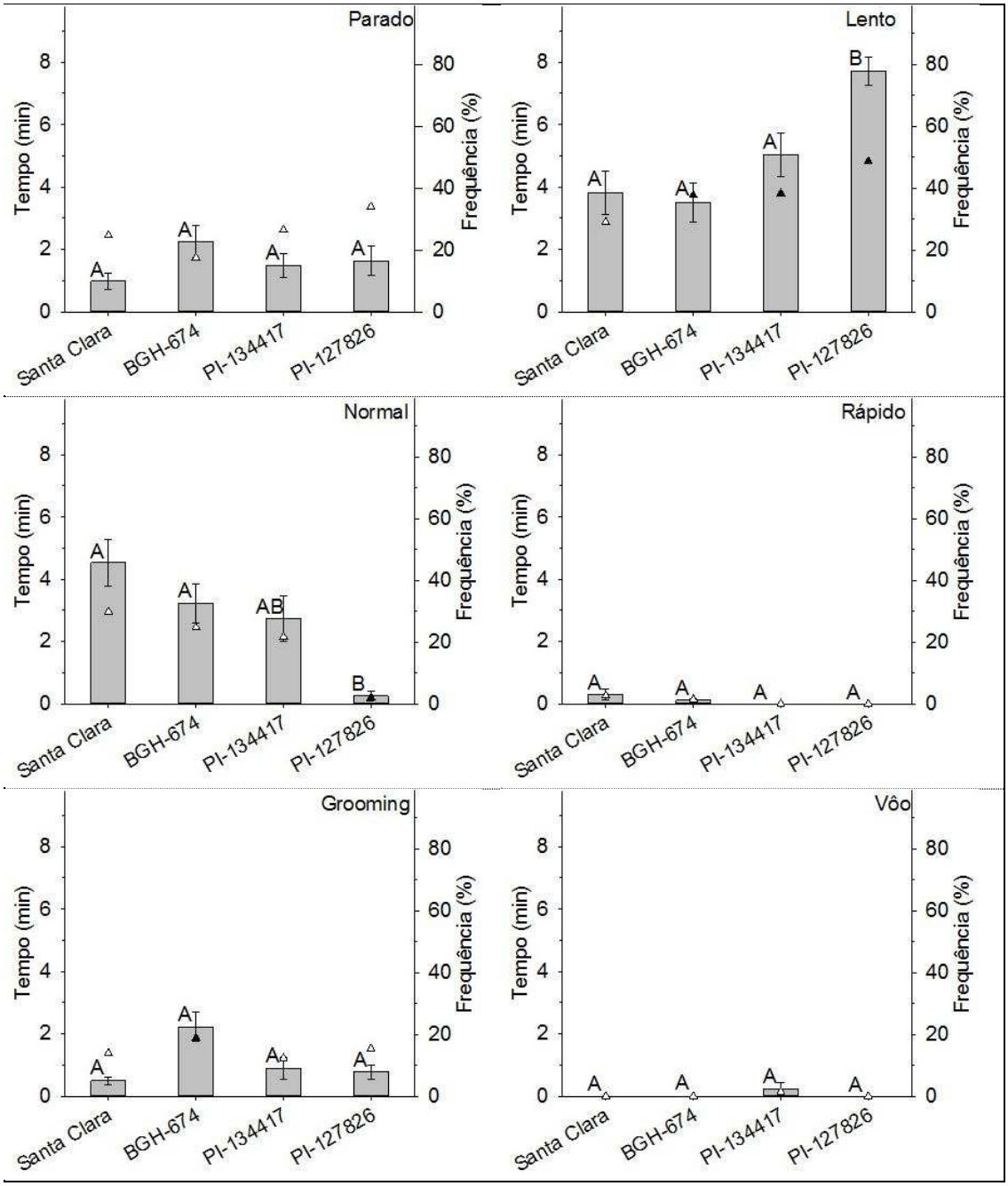

Figura 15 – Tempo médio (histogramas) e frequência (triângulos) do comportamento de *Blaptostethus pallescens* parado, caminhando em três velocidades (lento, normal e rápido), executando grooming e voando em teste de comportamento sem escolha. Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Friedman a p <0,05. Triângulos pretos indicam diferença entre a frequência do comportamento de *B. pallescens* no genótipo em comparação com a frequência do mesmo comportamento de *B. pallescens* em Santa Clara pelo teste Chi quadrado (p<0,05).

3.4 Caracterização química da resistência

Com as análises realizadas no GCMS-QP2010 Ultra e avaliações dos cromatogramas no programa ChromaTOF foi possível detectar 37 compostos presentes em pelo três amostra (Tabela 3) de cada genótipo. Dentre todos os metabólitos que foram identificados em, pelo menos, três das quatro repetições de todos os tratamentos, apenas nove correlacionaram significativamente com a mortalidade real (100_{rx}) de *T. absoluta* (Tabela 4). Estes metabólitos foram utilizados na análise PCA.

Com a análise de PCA foi possível traçar 12 combinações lineares correspondentes a 12 eixos explicativos. Dentre estes eixos, o primeiro representa 32,50% de toda a variabilidade dos fatores estudados. O segundo e o terceiro eixo representam 21,13% e 10,19% respectivamente. Os três eixos representam conjuntamente 63,82% de toda a variabilidade dos fatores estudados (Tabela 5). Cada eixo da análise PCA é composta por uma combinação linear entre os fatores estudados e não é correlacionado significativamente com nenhum outro eixo. Cada eixo é um autovetor determinado um autovalor. O autovalor representa o quanto os fatores explicam a variabilidade dos fatores que compõe aquele eixo. O autovalor dos três primeiros eixos possuem são 3,90; 2,54 e 1,22 respectivamente (Tabela 5).

Tabela 3 – Conteúdo metabólico de folhas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI - 127826) detectado por GC/MS Shimatzu modelo GCMS-QP2010 Ultra. Os valores são apresentados como média ± erro padrão * de determinações em quatro repetições.

Nome	Santa Clara	BGH-674	PI-134417	PI-127826
Ácido aspártico	(0,151 ± 0,087)	(0,301 ± 0,192)	(0,533 ± 0,221)	(2,312 ± 1,107)
Ácido butírico	(0,269 ± 0,120)	(0,571 ± 0,137)	(0,775 ± 0,53)	(3,409 ± 0,624)
Ácido cítrico	(2,933 ± 0,814)	(3,272 ± 0,293)	(7,956 ± 1,321)	(12,981 ± 2,178)
Ácido dehidroascórbico	(2,254 ± 0,680)	(1,892 ± 0,282)	(1,381 ± 0,598)	(1,427 ± 0,444)
Ácido eicosatetraenóico	(2,263 ± 0,628)	(3,019 ± 0,619)	(6,181 ± 0,791)	(5,14 ± 1,076)
Ácido glutâmico	(0,596 ± 0,199)	(0,986 ± 0,563)	(2,508 ± 1,241)	(1,356 ± 0,546)
Ácido heptadecanoico	(0,868 ± 0,241)	(0,969 ± 0,18)	(1,715 ± 0,192)	(1,423 ± 0,193)
Ácido hexadecanóico	(23,437 ± 6,264)	(26,177 ± 3,648)	(41,871 ± 9,915)	(41,92 ± 10,29)
Ácido málico	(15,672 ± 4,347)	(11,374 ± 1,569)	(39,65 ± 10,66)	(38,776 ± 7,334)
Ácido octadecanóico	(37,767 ± 10,475)	(27,876 ± 6,093)	(44,17 ± 12,349)	(48,063 ± 9,109)
Ácido quínico	(0,444 ± 0,140)	(0,119 ± 0,026)	(0,922 ± 0,543)	(5,292 ± 1,286)
Ácido tetradecanoico	(51,978 ± 1,109)	(3,96 ± 0,757)	(8,731 ± 0,904)	(5,451 ± 0,882)
Arabinose	(3,891 ± 1,945)	(0,310 ± 0,014)	(2,291 ± 1,308)	(2,174 ± 0,886)
Dopamina	(1,717 ± 0,701)	(1,169 ± 0,378)	(1,48 ± 0,268)	(1,046 ± 0,181)
Espermidina	(0,443 ± 0,181)	(0,595 ± 0,145)	(0,789 ± 0,268)	(0,311 ± 0,051)
Frutose	(12,516 ± 3,613)	(19,142 ± 3,89)	(5,581 ± 3,065)	(2,491 ± 0,466)
Galactinol	(6,498 ± 2,166)	(2,975 ± 0,785)	(1,392 ± 0,323)	(2,915 ± 0,813)
Glicose	(0,248 ± 0,111)	(0,475 ± 0,162)	(1,6 ± 0,722)	(0,318 ± 0,069)
Hexadecano	(0,588 ± 0,157)	(0,91 ± 0,224)	(1,558 ± 0,172)	(1,539 ± 0,244)
Inositol	(28,608 ± 7,934)	(28,282 ± 5,405)	(10,55 ± 3,396)	(27,855 ± 4,655)
Octacosano	(0,516 ± 0,195)	(0,73 ± 0,261)	(1,296 ± 0,201)	(2,149 ± 0,435)

Continua

Continuação

Ornitina	(2,180 ± 0,975)	(2,502 ± 0,73)	(2,402 ± 0,986)	(1,457 ± 0,551)
Piridina	(1,783 ± 0,096)	(0,201 ± 0,043)	(0,535 ± 0,159)	(0,558 ± 0,166)
Ribitol	(1,051 ± 0,397)	(0,878 ± 0,286)	(4,173 ± 0,946)	(1,677 ± 0,521)
Sacarose	(81,249 ± 1,551)	(7,088 ± 1,275)	(6,694 ± 1,571)	(6,411 ± 1,182)
Tetracosano	(0,277 ± 0,277)	(0,641 ± 0,117)	(1,921 ± 0,578)	(2,512 ± 0,942)
Tiramina	(11,224 ± 0,355)	(1,888 ± 0,673)	(2,34 ± 1,122)	(0,738 ± 0,168)
Ureia	(3,482 ± 0,129)	(0,529 ± 0,166)	(1,231 ± 0,217)	(1,499 ± 0,324)
Valina	(61,810 ± 3,337)	(8,931 ± 5,688)	(20,281 ± 7,048)	(5,509 ± 1,757)
Xylitol	(1,649 ± 0,583)	(0,323 ± 0,052)	(3,624 ± 1,435)	(1,657 ± 0,275)
Não classificado GC 1	(1,242 ± 0,345)	(0,876 ± 0,25)	(2,846 ± 0,639)	(4,856 ± 3,741)
Não classificado GC 2	(0,458 ± 0,132)	(0,571 ± 0,155)	(1,031 ± 0,337)	(3,282 ± 2,139)
Não classificado GC 3	(0,288 ± 0,096)	(0,414 ± 0,121)	(1,092 ± 0,281)	(1,513 ± 0,627)
Não classificado GC 4	(0,507 ± 0,169)	(0,614 ± 0,384)	(0,985 ± 0,25)	(1,087 ± 0,289)
Não classificado GC 5	(0,389 ± 0,195)	(0,283 ± 0,114)	(0,405 ± 0,12)	(1,625 ± 1,059)
Não classificado GC 6	(0,100 ± 0,0710)	(0,303 ± 0,126)	(0,567 ± 0,084)	(0,819 ± 0,264)
Não classificado GC 7	(0,201 ± 0,142)	(0,357 ± 0,214)	(0,334 ± 0,102)	(2,494 ± 1,92)

* Valores multiplicados por 10000 para facilitar a visualização.
Não classificados são os compostos identificados porém não constavam nas bibliotecas consultadas

Tabela 4 – Correlações significativas entre os metabólitos encontrados em plantas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI - 127826) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 com a mortalidade real (100rx) de lagartas de *T. absoluta*. Viçosa, 2012.

Metabólito	Correlação	P
Ácido cítrico	0,851	0,003
Ácido eicosatetraenóico	0,365	0,017
Ácido heptadecanoico	0,864	< 0,0001
Ácido octadecanóico	0,378	0,009
Ácido tetradecanoico	0,735	0,019
Arabinose	0,705	0,019
Hexadecano	0,517	0,0001
Octacosano	0,473	0,024
Sacarose	0,393	0,007

Tabela 5 – Autovalores, variância de cada eixo e variância acumulada dos eixos que compuseram a análise PCA. Cada eixo corresponde a uma combinação linear entre os metabólitos identificados no GC/MS e variáveis referentes à tabela de vida de *T. absoluta* em plantas de *S. lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI - 127826) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*).

	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4	Eixo 5	Eixo 6	Eixo 7	Eixo 8	Eixo 9	Eixo 10	Eixo 11	Eixo 12
Autovalor	3,90	2,54	1,22	0,93	0,78	0,70	0,59	0,46	0,42	0,29	0,14	0,03
Variância (%)	32,50	21,13	10,19	7,75	6,50	5,85	4,89	3,81	3,53	2,42	1,17	0,26
Variância acumulada	32,50	53,63	63,82	71,57	78,07	83,92	88,81	92,62	96,15	98,57	99,74	100,00

O mapa de correlações demonstrado pelos dois principais eixos (Figura 16) entre as mortalidades, os componentes da tabela de vida e metabólitos selecionados explicam 53,63% de toda a variação observada no diagrama PCA. Pode-se observar que dentre os compostos selecionados, a Arabinose, o Acido Citrico, o Ácido icosatetraenóico, Ácido heptadecanóico, o Hexadecano e o Octadecano correlacionaram significativamente com as mortalidade ou com os parâmetros da tabela de vida (Tabela 6). Os metabótilos Ácido Octadecanóico, Sacarose e o Ácido Tetracosanóico apesar de pré selecionados, não se correlacionam com as demais variáveis (Tabela 6).

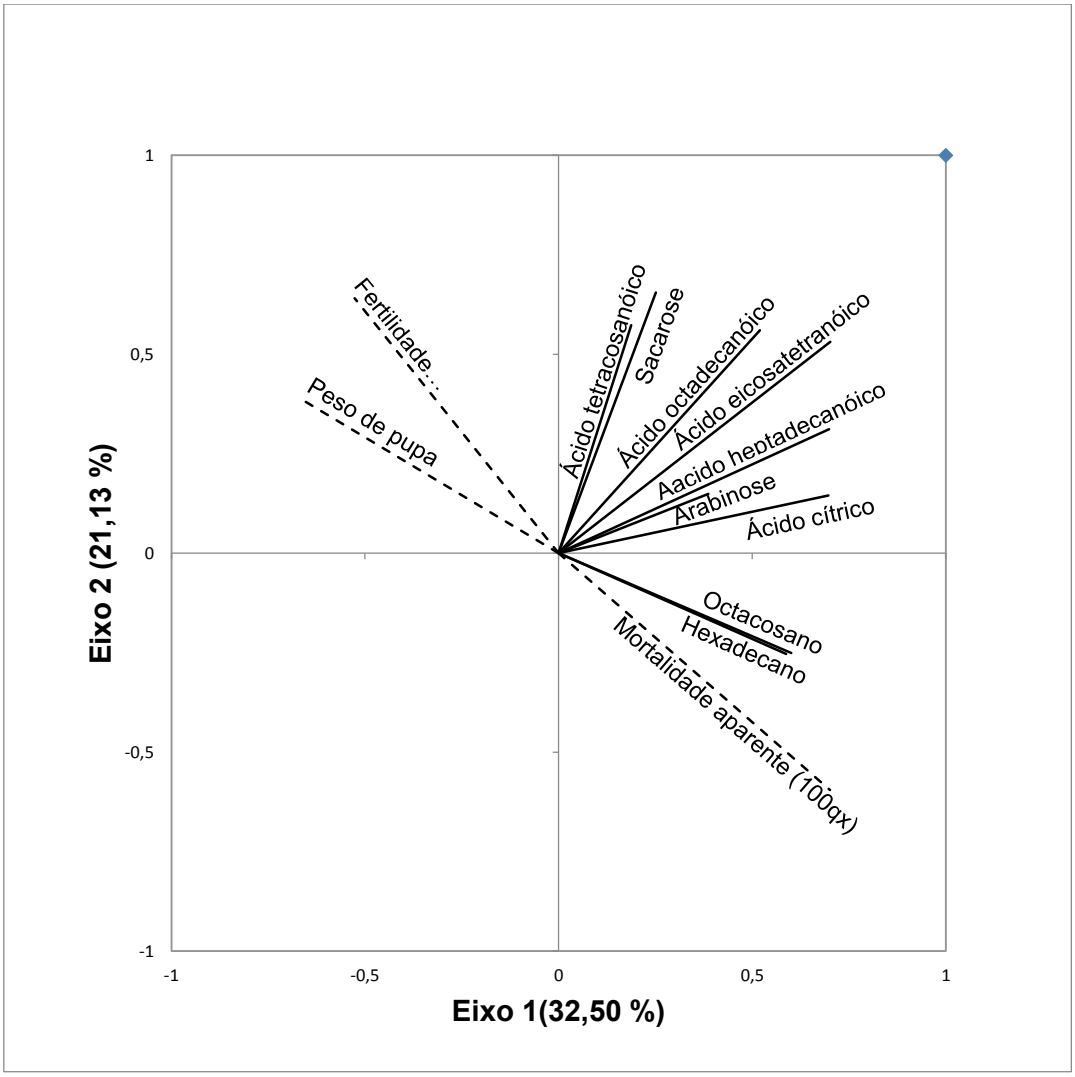

Figura 16 – Diagrama de ordenação da análise de componentes principais (PCA) de dados metabólitos de 76 amostras provenientes de plantas de *S lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *S. habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI - 127826) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*S. habrochaites*). O comprimento do vetor é proporcional à importância da variável, vetores com mesma direção e ordenação indicam correlações positivas. Vetores com mesma direção e orientações opostas indicam correlações negativas. Vetores perpendiculares indicam que os fatores não são correlacionados.

Tabela 6 – Matriz de correlação de Spearman entre os metabólitos quantificados por BG/MS com componentes da tabela de vida de *T. absoluta* desenvolvidas em plantas de *Solanum lycopersicum* (var. Santa Clara e genótipo BGH – 674), *Solanum habrochaites* (genótipo PI – 134417 e PI – 127826) e plantas resultantes do cruzamento entre BGH – 674 com PI – 134417 e PI – 127826 (*Solanum habrochaites*).

	Ácido cítrico	Ácido eicosatetraenóico	Ácido heptadecanoico	Ácido octadecanóico	Ácido tetracosanóico	Arabinose	Hexadecano	Octacosano	Sacarose
Mortalidade aparente (100qx)	**0,35**	0,19	**0,25**	0,11	-0,17	0,11	**0,37**	**0,38**	-0,11
Fertilidade específica	-0,24	0,01	-0,11	-0,05	0,13	-0,10	**-0,30**	**-0,32**	0,22
Peso de pupa	**-0,42**	**-0,29**	-0,22	-0,08	0,06	-0,13	**-0,27**	**-0,32**	-0,07

Os valores em negritos são diferentes de zero ($p<0,005$).

4. DISCUSSÃO

Dentre os genótipos estudados os genótipos PI – 134417 e PI – 127826 bem como o cruzamento entre estes genótipos e o BGH – 674 foram os resistentes. A resistência destes genótipos foram devido a modificação em parâmetros biológicos da *T. absoluta* e diminuição das atividades comportamentais do inimigo natural *B. pallescens*. Os principais fatores que contribuíram com a maior resistência destes genótipos foram a maior mortalidade de *T. absoluta*, a mortalidade mais rápida das lagartas quando se alimentando destes genótipos, diminuição do *fitness* resultando em menor peso de pupa, diminuição nas características reprodutivas e diminuição da atividade comportamental e predatória do predador *B. pallescens.*

Entre os genótipos, o mais promissor quanto a resistência à *T. absoluta* foi o genótipo PI – 127826. A mortalidade de larvas de primeiro ínstar quando se alimentando neste genótipo foi de 100% em apenas 3 dias. Este genótipo já foi descrito como resistente à *T. absoluta* por antibiose em outros trabalhos, porém causando uma menor lesão foliar (tamanho de mina) e, consequentemente, menor dano na planta (Azevedo *et al.*, 2003). Além de resistente à traça do tomateiro, este genótipo é relatado também como resistente à mosca branca, ácaros e tripes (Baldin *et al.*, 2005; Bleekera *et al.*, 2012). Este genótipo é relatado como resistente devido ao elevado teor de zingibereno (mais especificamente o 7-epizingiberene) nos tricomas. As folhas destas plantas são ricas em tricomas, especialmente os classificados como do tipo I, VI, V, VI e VII (Toscano *et al.*, 2001). Dentre estes, o tricoma tipo VI é reconhecido pela

abundancia do composto zingibereno nos glândulas dos tricomas tipo VI (Bleekera *et al.*, 2012).

No presente trabalho a diminuição no tamanho das minas de *T. absoluta* não foi observada pois a mortalidade ocorre de maneira rápida. Durante os três dias que ocorreram a mortalidade foi observado o surgimento de uma lesão necrosada ao redor da mina a partir da nona hora após o início da alimentação da traça. Esta região impedia a alimentação da lagarta que cessava a alimentação com aproximadamente 12 horas. Após cessar a alimentação a lagarta permanecia na mina tentando se alimentar por algumas horas, saía da mina e iniciava novamente uma nova mina. Nesta mina o processo se repetia e as lagartas foram todas encontradas mortas no interior de uma mina seca ou na superfície da folha. Este processo de necrose observado nas folhas é semelhante ao processo de hipersensibilidade (Hoglund *et al.*, 2005; Maxwell *et al.*, 2011).

O genótipo PI – 134417 foi o segundo mais promissor para a resistência à traça. Este genótipo é reconhecido como resistente a diversas pragas e doenças (Parrella *et al.*, 1998; Parrella *et al.*, 2000; Lucatti *et al.*, 2010), sendo muitas vezes considerado como um modelo de estudo principalmente para pragas e a interação com o terceiro nível trófico (Kennedy, 2003). Apesar de ser da mesma espécie do genótipo PI – 127826, o PI – 134417 é rico em metil-cetonas (2-tridecanona, 2-undecanona, 2-dodecanone, 2-pentadecanona). Apesar de não serem identificados no GC/MS neste trabalho, estes compostos foram relatados como responsáveis pela resistência deste genótipo à diversas pragas como *Myzus persicae*, *Tetranychus urticae* e *Helicoverpa armigera* e inimigos naturais como o predador *Leptinotarsa decemlineata* e os parasitoides *Trichogramma* spp. e *Campoletis sonorensis* (Simmons & Gurr, 2005). No presente estudo, este genótipo foi responsável por uma elevada mortalidade de lagartas e ovos de *T. absoluta.* Além da mortalidade esta planta também ocasionou uma diminuição no potencial reprodutivo de *T. absoluta,* o que promoveu um aumento no tempo necessário para a duplicação de uma possível população. Este aumento no tempo de duplicação de *T. absoluta* pode representar uma diminuição na quantidade de vezes que esta praga alcançará o nível de dano econômico caso esta resistência seja incorporada em uma variedade de tomate.

Estes compostos presentes em PI – 127826 e PI – 134417 e descritos como responsáveis pela resistência destes genótipos são produzidos pelos tricomas glandulares. A produção de tricomas em uma planta é uma característica genética, o que pode prejudicar a resistência desta planta, caso o número de tricomas não seja também selecionado durante o processo de melhoramento. Estes compostos promovem a mortalidade e menor desempenho de diversas pragas quando em elevadas quantidades. Caso o número de tricomas seja reduzido durante o processo de melhoramento, a resistência pode não apenas ser perdida, mas sim as plantas podem promover um aumento da resistência de algumas pragas à inseticidas como devido ao aumento da produção de hemoproteínas destoxificativas como o citocromo P – 450 (Farrar Jr & Kennedy, 1987; Farrar Jr & Kennedy, 1991).

Entre os metabólitos encontrados e correlacionados com a mortalidade de *T. absoluta* pela análise PCA, os maiores teores encontrados com correlações significativas foram de ácido cítrico, ácido eicosatetraenóico, ácido heptadecanoico, ácido octadecanóico, ácido tetracosanóico, arabinose, hexadecano, octacosano e sacarose. Destes compostos, o octacosano e o hexadecano bem como o ácido cítrico foram os que mais se correlacionaram com os parâmetros estudados na análise PCA. Estes compostos são importantes intermediários do ciclo do ácido cítrico, de forma que ocorre no metabolismo de quase todos os seres vivos. Um dos intermediários do ciclo do ácido cítrico é a Acetil COA, que é um precursor das cetonas. Portanto, este elevado índice de Ácido cítrico pode estar aumentando a síntese das Metil Cetonas, promovendo a resistência destas plantas aos insetos. Outro metabólito importante que se correlacionou com mortalidade, reprodução e *fitness* de *T. absoluta* foi o hexadecano. Este composto pode ser encontrado também na forma de um resíduo tóxico oriundo do petróleo (Yu *et al.*, 2013).

Outro impasse da utilização destes genótipos no melhoramento de plantas é a diminuição da atividade dos inimigos naturais. Quando comparado os genótipos com a testemunha no teste de livre escolha, o PI – 134417 e o PI – 127826 foram os menos preferidos pelo percevejo. Este fato pode significar uma menor atividade deste inimigo natural quando estas plantas forem utilizadas em ampla escala. Por ser este inimigo natural um predador (generalista), na falta ou na dificuldade de obter alimento em uma determinada cultura o *B. pallecens*

pode buscar alimento em outra planta menos prejudicial ao mesmo. Este fato foi observado e comprovado no teste de livre escolha de alimentação. A predação nas folhas destes genótipos foi menor quando comparado com os genótipos de *S. lycopersicum*, demonstrando que o percevejo tende a buscar recursos alimentares em ambientes ou locais mais adequados.

Os resultados encontrados nos experimentos com BGH – 674 demonstraram que este genótipo não foi resistente. Esta não resistência contradiz estudos anteriores onde este genótipo foi considerado resistente por antibiose (Oliveira *et al.*, 2009) e antixenose (Fernandes, 2011). Este fato provavelmente se deve pela complexidade deste experimento, onde foram realizados em condições que permitiram estudar a biologia de *T. absoluta.*

Os dois genótipos resistentes (PI – 134417 e PI – 127826) apresentaram modificações no comportamento do percevejo predador. Quando comparado com a testemunha, o predador nestes dois genótipos modificou seu comportamento de ficar parado, caminhar em velocidade normal, executar grooming e comportamento total no PI – 134417 e ficar parado, para o genótipo PI – 127826. Este fato se repetiu parcialmente quando os genótipos de *S. habrochaites* foram comparados com o BGH – 674. Para estas comparações o PI – 134417 foi onde o percevejo permaneceu menos tempo caminhando lentamente e, no genótipo PI – 127826, o percevejo ficou menos tempo parado, caminhando lentamente, caminhando em velocidade normal, executando grooming e tempo total de comportamento. Estes fatos demonstram que os genótipos resistentes possuem alguma ação antixenótica sob o percevejo predador, que evita permanecer e se movimentar sobre as folhas destas plantas.

Esta menor permanência do percevejo nestas folhas pode explicar a menor predação de ovos de *T. absoluta* ovipositadas nas mesmas. No teste de livre escolha de alimentação, os percevejos se alimentaram menos nestes genótipos. Uma possível explicação para este fato são os tricomas tipo I, IV e VI presentes neste genótipo. Estes tricomas são ricos em substâncias tóxicas e abundantes nestas plantas como zingibereno (Bleeker *et al.*, 2012). Os tricomas destas plantas dificultam o caminhamento do percevejo sob a folha, além de causar deterrência nos mesmo.

Como muitos inseticidas convencionais, plantas resistentes podem também ter potencial de alterar o controle biológico natural por meio de efeitos diretos e indiretos das plantas resistentes a inimigos naturais (Schuler *et al.*, 1999). No entanto poucos trabalhos verificam este impacto em inimigos naturais, alem disso dão pouca atenção em estudos comportamentais, priorizando apenas o efeito de mortalidade. Desta maneira é essencial verificar o impacto destes genótipos no comportamento do predador *B. pallescens*. Este é um inimigo natural importante de *T. absoluta*, controlando ovos e lagartas (Pereira, 2013). A avaliação comportamental deste predador é essencial para aumentar a eficiência do controle da *T. absoluta* nos genótipos resistentes. Aumentando desta forma o controle e preservação da resistência dos genótipos à *T. absoluta*, devido à menor incidência da praga e consequentemente menor pressão de seleção de *T. absoluta* resistente aos genótipos.

As mudanças comportamentais possíveis que estes genótipos podem causar em *B. pallescens* são repelência ou atração e deterrência ou arrestância. A repelência é uma resposta de fuga do inseto após a detecção de alguma substância presente (Lockwood *et al.*, 1984). Já a atração é o efeito contrário a repelência. Estes efeitos podem ser observados através de testes de livre escolha. O efeito de deterrência e arrestância pode ser observado após o contato do inseto na planta. O primeiro ocorre quando é verificada a inibição da alimentação, já o efeito de arrestância ocorre quando o inseto cessa a locomoção (Mcmahon *et al.*, 2003). Estes efeitos são observados em testes sem chance de escolha. Todos estes efeitos podem ser respostas dos insetos a presença de características físicas ou químicas nos genótipos.

Quando os genótipos foram comparados entre as mesmas espécies não foi observado nenhum efeito comportamental que esteja relacionado com os efeitos descritos acima. Portanto as características químicas e físicas encontradas nos genótipos de mesma espécie não afetaram a capacidade de predação de *T. absoluta* por *B. pallescens*. No entanto quando foram comparados entre espécies diferentes, *S. lycopersicum* e *S. habrochaites*, foram identificadas diferenças no comportamento de *B. pallescens* entre Santa Clara com PI-134417. Foi verificado que *B. pallescens* permaneceu maior tempo parado no genótipo PI-134417 e PI-127826 quando foram comparados com a Santa Clara. Isto sugere que houve um efeito de repelência dos genótipos de *S.*

habrochaites a *B. pallescens* quando comparado a Santa Clara ou efeito atraente de Santa Clara a *B. pallescens*. Esta repelência ou atração podem estar associadas a metabolitos voláteis presentes nestas plantas.

Quando comparado os genótipos de *S. habrochaites* com o genótpo BGH-674 foi identificada diferença apenas para o genótipo PI-134417 para o comportamento de caminhamento. Houve menor caminhamento no genótipo PI-134417, sugerindo que este comportamento também esteja associado com a repelência causada por compostos voláteis presentes neste genótipo.

Quando estes testes foram realizados sem chance de escolha não foi verificado diferença para o comportamento parado. Isto sugere que os genótipos e Santa Clara não possuem características que causem efeito de arrestância em *B. pallescens*. A diferença encontrada quanto ao caminhamento lento no genótipo PI-127826 devem estar associadas aos tricomas presentes neste genótipo. No entanto para o comportamento de caminhamento rápido não houve diferença entre os tempos em cada tratamento. Isto sugere que o caminhamento lento em PI-127826 não afeta a sua capacidade de se locomover rapidamente. Este fato é interessante, pois no campo estes percevejos não irão perder as características de insetos predadores, que é o caminhamento rápido. Conseqüentemente maior a chance de encontrar presas em menor espaço de tempo.

Para verificar o efeito de deterrência dos genótipos e Santa Clara a B. pallescens foram avaliados o número de ovos predados. Foi verificado que nos genótipos de *S. habrochaites* ocorreu menor predação de ovos de *T. absoluta* quando comparado a Santa Clara. Apesar da menor predação não foi observado à inibição da alimentação sugerindo que os genótipos de *S. habrochaites* não apresentam efeito de deterrência *B. pallescens*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Os genótipos PI – 134417 e PI – 127826 e os cruzamentos entre estes genótipos com BGH – 674 são resistentes por antibiose à *T. absoluta*.
- ✓ O genótipo BGH – 674 não é resistente à *T. absoluta.*
- ✓ Os genótipos PI – 134417 e PI – 127826 apresentam efeito de repelência ao predador *Blaptostethus pallecens* diminuindo o tempo de permanência nestes genótipos e diminuindo a predação de ovos de *T. absoluta.*
- ✓ Dentre as substâncias identificadas pelo CGMS, o ácido cítrico, ácido eicosatetraenóico, ácido heptadecanóico, hexadecano e octacosano se correlacionaram significativamente com a mortalidade, fecundidade e peso de pupa.
- ✓ O hexadecano e octacosano foram os compostos que explicaram a mortalidade pela Análise de Componentes Principais.

6. LITERATURA CITADA

Agarwal, A.; Honglei Shen, M. A.; Agarwal, S.; Rao, A. V. Lycopene content of tomato products: Its stability, bioavailability and *In Vivo* antioxidant properties. **Journal of medicinal food**, v.4, n.1, p.9 - 15. 2001.

Antonious, G. F.; Snyder, J. C.; Patel, G. A. Pyrethrins and piperonyl butoxide residues on potato leaves and in soil under field conditions. **Journal of Environmental Science and Health**, v.36, p.261 - 271. 2001.

Azevedo, S. M.; Faria, M. V.; Maluf, W. R.; Oliveira, A. C. B.; Feitas, J. A. Zingiberene-mediated resistance to the south American tomato pinworm derived from *Lycopersicon hirsutum* var. *hirsutum*. **Euphytica**, v.134, n.3, p.347 - 351. 2003.

Baldin, E. L. L.; Vendramim, J. D.; Lourencao, A. L. Resistance of tomato genotypes to the whitefly Bemisia tabaci (Gennadius) biotype B (Hemiptera : Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**, v.34, n.3, May-Jun, p.435-441. 2005.

Bleeker, P. M.; Mirabella, R.; Diergaarde, P. J.; Vandoorn, A.; Tissier, A.; Kant, M. R.; Prinsb, M.; De Vos, M.; Haring, M. A.; Schuurink, R. C. Improved herbivore resistance in cultivated tomato with the sesquiterpene biosynthetic pathway from a wild relative. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.109, n.09, p.20124–20129. 2012.

Bleekera, P. M.; Mirabellaa, R.; Diergaardeb, P. J.; Vandoornb, A.; Tissierc, A.; Kantd, M. R.; Prinsb, M.; De Vosb, M.; Haringa, M. A.; Schuurinka, R. C. Improved herbivore resistance in cultivated tomato with the sesquiterpene biosynthetic pathway from a wild relative. **PNAS**, v.109, n.49, p.20124-20129. 2012.

Borém, A., Ed. **Hibridação Artificial de Plantas**. Hibridação em tomate. Viçosa - MG: Editora UFV, v.2, p.269 - 294, Hibridação em tomateed. 2009.

Coelho, M. C. F. & França, F. H. Biologia, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.22, p.129 - 135. 1987.

Collins, J. K.; Arjmandi, B. H.; Claypool, P. L.; Perkins-Veazie, P.; Baker, R. A.; Clevidence, B. A. Lycopene from two food sources does not affect antioxidant or cholesterol status of middle-aged adults. **Nutrition Journal**, v.3, n.15, p.1 - 7. 2004.

De Moraes, G. J. & Normanha Filho, J. A. Surto de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) em tomateiro no trópico semi-árido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.3, p.503 - 504. 1982.

Dent, C. R., Ed. **Insect pest management**. Wallingford: CAB International, v.1, p.604ed. 1991.

Desneux, N.; Wajnberg, E.; Wyckhuys, K. a. G.; Burgio, G.; Arpaia, S.; Narváez-Vasquez, C. A.; González-Cabrera, J.; Catalán, R. D.; Tabone, E.; Frandon, J.; Pizzol, J.; Poncet, C.; Cabello, T.; Urbaneja, A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, v.83, p.197 - 215. 2011.

Ecole, C. C.; Picanço, M. C.; Guedes, R. N. C.; Brommonschenkel, S. H. Effect of cropping season and possible compounds involved in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal Applied Entomology**, v.125, p.193 - 200. 2001.

Ecole, C. C.; Picanço, M. C.; Jham, G. N.; Guedes, R. N. C. Variability of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* and possible compounds involved in its resistance to *Tuta absoluta*. **Agricultural and Forest Entomology**, v.1, p.249 - 254. 1999.

Ecole, C. C.; Picanço, M. C.; Moreira, M. D.; Magalhaes, S. T. V. Chemical components associated with resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, p.327 - 337. 2000.

Eigenbrode, S. D.; Trumble, J. T.; Millar, J. G.; White, K. K. Topical toxicity of tomato sesquiterpenes to the beet armyworm and the role of these compounds in resistance derived from an accession of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.4, n.3, p.807 - 810. 1994.

Elliger, C. A.; Chan, B. G.; Waiss, A. C.; Lundin, R. E.; Haddon, W. F. Glycosylflavones from *Zea mays* that inhibit insect development. **Phytochemistry**, v.19, p.293 - 297. 1980.

Farrar Jr, R. R. & Kennedy, G. G. 2-undecanone, a constituent of the glandular trichomes of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*: effects on *Heliothis zea* and *Manduca sexta* growth and survival. **Entomol. Exp. Appl.**, v.43, p.17-23. 1987.

Farrar Jr, R. R. & Kennedy, G. G. Relationship of lamellar-based resistance to *Leptinotarsa decemlineata* and *Heliothis zeain* a wild tomato, *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. **Entomol. Exp. Appl.**, v.58, p.61-67. 1991.

Fernandes, M. E. D. S. **Capacidade combinatória de caracteres de resistência de *Solanum* spp. à traça do tomateiro**. (Doctor Scientiae). Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2011. 65 p.

Galdino, T. V. da S. **Distribuição e desempenho de *Tuta absoluta* no dossel do tomateiro**. (Magister scientiae). Entomologia. Universidade Federal de Viçosa. 25p. 2012.

Garcia-Marí, F. & Vercher, R. Descripción, origin y expansión de *Tuta absoluta* (Lepidoptera; Gelechiidae). **Phytoma**, v.20, p.16 - 20. 2010.

Guedes, N. M. P.; Guedes, R. N. C.; Ferreira, G. H.; Silva, L. B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and -resistant strains of Sitophilus zeamais exposed to deltamethrin. **Bull. Entomol. Res.**, v.99, n.1, p.393–400. 2009.

Guedes, R. N. C.; Campbell, J. F.; Arthur, F. H.; Opit, G. P.; Zhu, K. Y.; Throne, J. E. Acute lethal and behavioral sublethal responses of two stored-product psocidsto surface insecticides. **Pest Manage. Sci.**, v.64, n.1, p.1314–1322. 2008.

Guedes, R. N. C.; Picanço, M. C.; Matioli, A. L.; Rocha, D. M. Efeito de inseticidas e sistemas de condução do tomateiro no controle de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, p.321 - 325. 1994.

Gupta, N. P. & Kumar, R. Lycopene therapy in idiopathic male infertility – a pre liminary report. **International Urology and Nephrology**, v.34, n.1, p.369 - 372. 2003.

Hoglund, S.; Larsson, S.; Wingsle, G. Both hypersensitive and non-hypersensitive responses are associated with resistance inSalix viminalisagainst the gall midgeDasineura marginemtorquens. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n.422, p.3215-3222. 2005.

Isman, M. B. & Duffey, S. S. Pharmacokinetics of chlorogenic acid and rutin in larvae of *Heliothis zea*. **Journal of Insect Physiology**, v.29, n.4, p.295 - 300. 1982.

Juvik, J. A. & Stevens, M. A. Physiological mechanisms of host-plant resistance in the genus *Lycopersicon* to *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*, two insect pests of the cultivated tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.106, n.6, p.1065 - 1069. 1982.

Kennedy, G. G. Tomato, pests, parasitoids, and predators: Tritrophic Interactions Involving the Genus *Lycopersicon*. **Annual Review of Entomology**, v.48, p.51 - 72. 2003.

Leite, G. D. L.; Picanço, M. C.; Guedes, R. N. C.; Gusmão, M. R. Selectivity of insecticides with and without mineral oil to *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae), a predator of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **CEIBA**, v.39, n.2, p.191 - 194. 1998.

Leite, G. L. D.; Picanço, M. C.; Guedes, R. N. C.; Zanuncio, J. C. Role of plant age in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Scientia Horticulturae**, v.89, p.103 - 113. 2001.

Liedl, B. E.; Lawson, D. M.; White, K. K.; Shapiro, J. A.; Cohen, D. E.; Carson, W. G.; Trumble, J. T.; Mutschler, M. A. Acylsugars of wild tomato *Lycopersicon pennellii* alters settling and reduces oviposition of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, v.88, p.742 - 748. 1995.

Liettii, M.; Bottoii, E.; Alzogaray, R. Insecticide resistance in Argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v.3, p.113 - 119. 2005.

Linda, K.; Rao, A. V.; Rao, L. G. Effect of lycopene on prostate LNCaP cancer cells in culture. **Journal of Medicinal Food**, v.5, n.4, p.181 - 187. 2002.

Lisec, J.; Schauer, N.; Kopka, J.; Willmitzer, L.; Fernie, A. R. Gas chromatography mass spectrometry - based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, v.1, p.387 - 396. 2006.

Lockwood, J. A.; Sparks, T. C.; Story, R. N. Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. **Bull. Entomol. Res.**, v.30, p.41-51. 1984.

Lu, R.; Dan, H.; Wu, R.; Meng, W.; Liu, N.; Jin, X.; Zhou, M.; Zeng, X.; Zhou, G.; Chen, Q. Lycopene: features and potential significance in the oral cancer and

precancerous lesions. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v.40, n.5, p.361 - 369. 2011.

Lucatti, A. F.; Alvarez, A. E.; Machado, C. R.; Gilardón, E. Resistance of Tomato Genotypes to the Greenhouse Whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Pest Management Science**, v.39, n.5, p.792-798. 2010.

Mackinnon, E. S.; Venket, A.; Rao, L. G. Dietary restriction of lycopene for a period of one month resulted in significantly increased biomarkers of oxidative stress and bone resorption in postmenopausal women. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v.15, n.2, p.133 - 142. 2011.

Maia, A. N.; L., A. J. B.; Campanhola, C. Statistical Inference on Associated Fertility Life Table Parameters Using Jackknife Technique: Computational Aspects. **Sampling andbiostatistics**, v.93, n.2, p.511-518. 2000.

Maxwell, J. P.; Wong, S.; Consuelo, A.; Gould, F. Host plant direct defence against eggs of its specialist herbivore,Heliothis subflexa. **Ecological Entomology**, v.36, n.1, p.700-708. 2011.

Mcmahon, C.; Kröber, T.; Guerin, P. M. In vitro assays for repellents and deterrents for ticks: differing effects of products when tested with attractant or arrestment stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**, v.17, n.4, p.370-378. 2003.

Oliveira, F. A.; Silva, D. J. H.; Leite, G. L. D.; Jham, G. N.; Picanço, M. C. Resistance of 57 greenhouse-grown accessions of *Lycopersicon esculentum* and three cultivars to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Scientia Horticulturae**, v.119, n.2, p.182 - 187. 2009.

Painter, R. H., Ed. **Insect Resistance in Crop Plants**. New York: The Mac Millan Co, p.520ed. 1951.

Panda, N. & Khush, G. S., Eds. **Host plant resistance to insect**. Wallingford: Cab International, p.431ed. 1995.

Parrella, G.; Hochu, I.; Gebre-Selassié, K.; Gognalons, P.; Moretti, A.; Marchoux, G.; Caranta, C. Molecular tagging of the Am gene from *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* PI 134417 using AFLP markers. **Biotechnology and physiology**, v.22, n.3, p.291-293. 2000.

Parrella, G.; Laterrot, H.; Gebre, S. K.; Marchoux, G. Inheritance of resistance to alfalfa mosaic virus in *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* PI 134417. **Jour. of Plant Path**, v.80. 1998.

Pereira, R. R. **Efeitos letal e subletal de pesticidas neurotóxicos a** *Blaptostethus pallescens* **e** *Orius tristicolor***, predadores de** *Tuta absoluta*. (Magister Scientiae). Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, 2013. 32 p.

Picanço, M. C.; Faleiro, F. G.; Pallini Filho, A.; Matioli, A. L. Perdas na produtividade do tomateiro em sistemas alternativos de controle fitossanitário. **Horticultura Brasileira**, v.15, n.2, p.88 - 91. 1997.

Picanço, M. C.; Gusmão, M. R.; Galvan, T. L., Eds. **Manejo integrado de pragas de hortaliças**. Manejo integrado de doenças, pragas e ervas daninhas. Viçosa - MG: UFV, p.275 - 324, Manejo integrado de doenças, pragas e ervas daninhased. 2000.

Picanço, M. C.; Leite, G. L. D.; Guedes, R. N. C.; A., S. E. Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plant spacing. **Crop Protection**, v.17, n.5, p.447 - 452. 1998.

Rao, A. V. Processed tomato products as a source of dietary lycopene: bioavailability and antioxidant properties. **Canadian Journal of Dietetic Practice and Research**, v.65, n.4, p.161 - 166. 2004.

Resende, J. T. V.; Maluf, W. R.; Cardoso, M. G.; Faria, M. V.; Gonçalves, L. D.; Nascimento, I. R. Resistance of tomato genotypes with high level of acylsugars to *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard. **Scientia Agricola**, v.65, n.1, p.31 - 35. 2008.

Salazar, E. & Araya, J. Tomato moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) response to insecticides in Africa, Chile. **Agricultura Técnica**, v.61, p.429 - 435. 2001.

Sas.Institute, I. SAS 9.1.3 User's Guide. Cary, N. S. I. I. 2004.

Schuler, T. H.; Poppy, G. M.; Kerry, B. R.; Denholm, I. Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. **National Center for Biotechnology Information**, v.17, n.5, p.210-216. 1999.

Silva, D. J. H. D. & Vale, F. X. R. D. **Tomate: tecnologia e produção**: Viçosa: UFV, v.1. 2007

Silva, G. A.; Picanço, M. C.; Bacci, L.; Crespo, A. L. B.; Rosado, J. F.; Guedes, R. N. C. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. **Pest Management Science**, v.67, n.8, p.913 - 933. 2011.

Silveira Neto, S.; Nakano, O.; Barbin, D.; Villa Nova, N. A., Eds. **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, p.419ed. 1976.

Simmons, A. T. & Gurr, G. M. Trichomes of Lycopersicon species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. **Agricultural and Forest Entomology**, v.7, p.265-276. 2005.

Siqueira, H. a. A.; Guedes, R. N. C.; Fragoso, D. B.; Magalhães, L. C. Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **International Journal of Pest Management**, v.47, p.247 - 251. 2001.

Souza, J. C. & Reis, P. R., Eds. **Traça-do-tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle**. Belo Horizonte: EPAMIG (Boletim Técnico, 38), p.20ed. 1992.

Suinaga, F. A.; Picanço, M. C.; Jhan, G. N.; Brommonschenkel, S. H. Causas químicas da resisténcia de *Lycopersicon peruvianum* a *Tuta absoluta*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.2, p.313 - 321. 1999.

Suinaga, F. A.; Picanço, M. C.; Moreira, M. D.; Semeão, A. A.; Magalhães, S. T. V. ResistÍncia por antibiose de *Lycopersicon peruvianum* à traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.281 - 285. 2004.

Toscano, L. C.; Boiça Júnior, A. L.; Santos, J. M.; Almeida, J. B. S. A. Tipos de tricomas em genótipos de Lycopersicon. **Horticultura Brasileira**, v.19, n.3, p.204-206. 2001.

Valero, M. A.; Vidal, A.; Burgos, R.; Calvo, F. L.; Martinez, C.; Luengo, L. M.; Cuerda, C. Meta-Analysis on the role of lycopene in type 2 diabetes mellitus. **Nutricion Hospitalaria**, v.26, n.6, Nov-Dec, p.1236-1241. 2011.

Varley, G. C.; Gradwell, G. R.; Hassell, M. P., Eds. **Insect Population Ecology: An Analytical Approach**. London: Blackwell Scientific Publications, p.212ed. 1973.

Yu, C.; Yao, J.; Cai, M.; Wang, F.; Masakorala, K.; Liu, H.; Blake, R. E.; Doni, S.; Ceccanti, B. Functional gene expression of oil-degrading bacteria resistant to hexadecane toxicity. **Chemosphere**. 2013.