

CIBELLE VILELA ANDRADE FIORINI

**INTROGRESSÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA À  
REQUEIMA DE *Solanum habrochaites* EM *Solanum  
lycopersicum***

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  
2008

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F521i  
2008  
Fiorini, Cibelle Vilela Andrade, 1974-  
Introgressão de genes de resistência à requeima de  
*Solanum habrochaites* EM *Solanum lycopersicum* /  
Cibelle Vilela Andrade Fiorini. – Viçosa, MG, 2008.  
xii, 163f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexos.

Orientador: Derly José Henriques da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 155-163.

1. Tomate - Melhoramento genético. 2. Tomate -  
Resistência a doenças e pragas. 3. Germoplasma vegetal  
- Recursos. 4. Tomate - Genética.

5. *Phytophthora infestans*. I. Universidade Federal  
de Viçosa. II. Título.

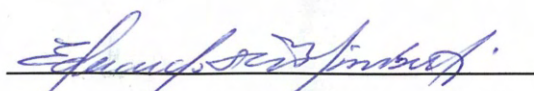
CDD 22.ed. 635.6422

CIBELLE VILELA ANDRADE FIORINI

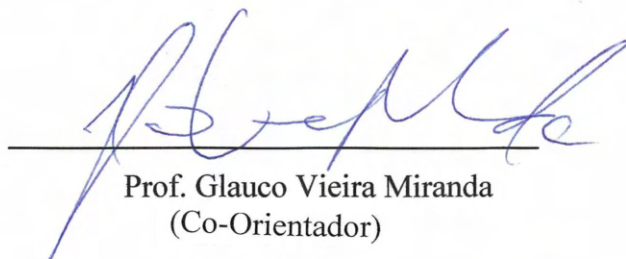
**INTROGRESSÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA À  
REQUEIMA DE *Solanum habrochaites* EM *Solanum  
lycopersicum***

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”.

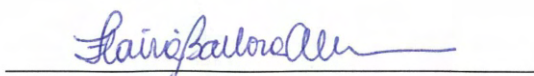
APROVADA: 17 de março de 2008.



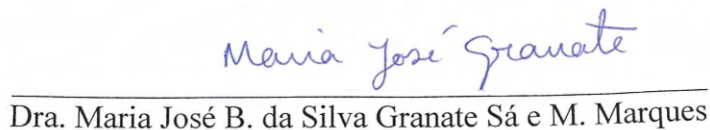
Prof. Eduardo Seiti Gomide Mizubuti  
(Co-Orientador)



Prof. Glauco Vieira Miranda  
(Co-Orientador)



Profa. Flávia Barbosa Abreu  
(in memoriam)



Dra. Maria José B. da Silva Granate Sá e M. Marques

  
Prof. Derly José Henriques da Silva  
(Orientador)

*À minha filha Carolina*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Derly José Henriques da Silva, pela orientação, ensinamentos transmitidos, boa convivência, amizade e paciência durante a realização do curso.

Ao Professor Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, pelos ensinamentos, sugestões, apoio e utilização do Laboratório de Epidemiologia.

Ao Professor Fabyano Fonseca e Silva, pelos ensinamentos, sugestões, apoio e ajuda nas análises estatísticas.

Ao Professor Glauco Vieira Miranda, pelos ensinamentos, apoio e ajuda durante o curso.

À minha filha Carolina, minha estagiária durante a realização dos experimentos, pela ajuda nas desbrotas, coleta de frutos, extração de sementes, avaliações e montagens de experimentos.

Aos meus estagiários Carla, Jordão, Laércio e Murilo, pela amizade, paciência, ajuda e dedicação em todas as etapas do meu trabalho.

À Tatiana e Valdir, do Departamento de Fitopatologia, pela amizade, incentivo e ajuda no Laboratório de Epidemiologia.

Aos alunos de graduação e pós-graduação que me ajudaram no decorrer dos experimentos: Aline, Bruno Marim, Bruno Soares, Carlos Eduardo, Carlos Nick, Daniel, Gabriel, Gustavo, Isabel, José Fernando, Joselaine, Miriam, Monique, Natália, Nívia e Tiago.

Aos funcionários da Horta Velha Wilson, Zé Maria e Marcos, pelos favores prestados, paciência e amizade. Aos demais funcionários, pela ajuda na condução dos experimentos.

Ao Valdivino, do Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais do Departamento de Fitotecnia, pela boa convivência, risadas e ajuda prestada.

À Lillian, Sr. Francisco, Sr. Geraldo, Sr. João e Wilson, pela ajuda nas anotações durante a realização do último experimento.

À funcionária Mara, secretária da pós-graduação em Fitotecnia, pela amizade, informações, favores prestados e ajuda no decorrer do curso. Aos demais funcionários da Universidade Federal de Viçosa, pelos favores prestados durante a realização do curso.

Ao Broca, pela amizade, risadas, conselhos e transporte para a Horta Velha.

Às muitas amigadas e amigos verdadeiros conquistados durante a minha estadia em Viçosa!

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho!

**Obrigada!**

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                    | Pag.           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| RESUMO .....                                                                                                                       | ix             |
| ABSTRACT .....                                                                                                                     | xi             |
| 1. INTRODUÇÃO GERAL .....                                                                                                          | 01             |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA .....                                                                                                     | 04             |
| 2.1. O Tomateiro .....                                                                                                             | 04             |
| 2.2. Grupos de Tomate .....                                                                                                        | 06             |
| 2.3. Mela ou Requeima .....                                                                                                        | 08             |
| 2.4. Variabilidade de <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) De Bary .....                                                          | 10             |
| 2.5. Curva de Progresso da Doença .....                                                                                            | 13             |
| 2.6. Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa ....                                                     | 15             |
| 2.7. O Método Descendente de Uma Única Semente (SSD) .....                                                                         | 17             |
| 2.8. Dialélos .....                                                                                                                | 18             |
| 2.9. Pré-Melhoramento .....                                                                                                        | 20             |
| <br>CAPÍTULO 2. IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS DE TOMATEIRO<br>RESISTENTES À REQUEIMA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEUS<br>FRUTOS ..... | <br><br><br>22 |
| RESUMO .....                                                                                                                       | 23             |
| ABSTRACT .....                                                                                                                     | 25             |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                                                | 27             |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                                                        | 30             |
| 2.1. Local de Condução dos Experimentos .....                                                                                      | 30             |
| 2.2. Metodologia para Extração, Secagem e Armazenamento das Sementes de<br>Tomate .....                                            | 30             |
| 2.3. Metodologia de Inoculação de <i>Phytophthora infestans</i> .....                                                              | 31             |
| 2.4. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima .....                                                                    | 32             |
| 2.5. Metodologia para Avaliação de Características de Qualidade de Frutos .....                                                    | 32             |
| 2.6. Condução dos Experimentos .....                                                                                               | 33             |
| 2.6.1. Genótipos Utilizados .....                                                                                                  | 33             |
| 2.6.2. Avanço das Gerações F <sub>6</sub> e F <sub>7</sub> de Linhagens Seleccionadas para Resistência<br>à Requeima .....         | 34             |

|                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6.3. Avaliações para Resistência à Requeima em Linhagens F <sub>8</sub> e Dois Acessos de Tomateiro do BGH – UFV e Qualidade de Frutos dos Genótipos Seleccionados .....   | 35 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                                                              | 39 |
| 3.1. Avaliação para Resistência à Requeima em Linhagens F <sub>8</sub> e Dois Acessos de Tomateiro do BGH – UFV .....                                                        | 39 |
| 3.2. Avaliação da Qualidade de Frutos de Dez Linhagens F <sub>8</sub> e do Acesso de Tomateiro do BGH – UFV ‘1497’, Seleccionados como Fonte de Resistência à Requeima ..... | 44 |
| 4. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                                          | 47 |
| ANEXOS .....                                                                                                                                                                 | 48 |

|                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| CAPÍTULO 3. ESTUDO DA CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO PARA RESISTÊNCIA À REQUEIMA E QUALIDADE DE FRUTOS EM TOMATEIRO PARA MESA .....                                                                                                          | 54 |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                                                                           | 55 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                                                                         | 57 |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                                                                                                                                                    | 59 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                                                                                                                                                            | 61 |
| 2.1. Local de Condução dos Experimentos .....                                                                                                                                                                                          | 61 |
| 2.2. Metodologia de Inoculação de <i>Phytophthora infestans</i> .....                                                                                                                                                                  | 61 |
| 2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima .....                                                                                                                                                                        | 62 |
| 2.4. Metodologia para Emasculação e Polinização Manuais .....                                                                                                                                                                          | 63 |
| 2.5. Metodologia para Avaliação de Características de Qualidade de Frutos .....                                                                                                                                                        | 63 |
| 2.6. Condução dos Experimentos .....                                                                                                                                                                                                   | 64 |
| 2.6.1. Cruzamentos em Esquema de Dialelo Parcial Entre Quatro Variedades Comerciais de Tomate para Mesa mais o Acesso do BGH-UFV ‘1497’ e Cinco Linhagens F <sub>8</sub> Consideradas Resistentes à Requeima .....                     | 65 |
| 2.6.2. Avaliações para Resistência à Requeima e Características de Qualidade de Frutos em Vinte e Cinco Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial e Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência e Qualidade de Frutos ... | 66 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                                                                                                                        | 69 |
| 3.1. Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência à Requeima e Qualidade de Frutos em Vinte e Cinco Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial .....                                                                        | 69 |
| 4. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                                                                                                    | 74 |
| ANEXOS .....                                                                                                                                                                                                                           | 76 |

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| CAPÍTULO 4. ESTUDO DA CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO PARA RESISTÊNCIA À REQUEIMA E QUALIDADE DE FRUTOS EM TOMATEIRO PARA INDÚSTRIA ..... | 82 |
| RESUMO .....                                                                                                                       | 83 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                     | 85 |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                                                | 87 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                                                        | 89 |
| 2.1. Local de Condução dos Experimentos .....                                                                                      | 89 |
| 2.2. Metodologia de Inoculação de <i>Phytophthora infestans</i> .....                                                              | 89 |
| 2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima .....                                                                    | 90 |
| 2.4. Metodologia para Emasculação e Polinização Manuais .....                                                                      | 91 |
| 2.5. Metodologia para Avaliação de Características de Qualidade de Frutos .....                                                    | 91 |
| 2.6. Condução dos Experimentos .....                                                                                               | 92 |

|                                                                                                                                                                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.6.1. Cruzamentos em Esquema de Dialelo Parcial Entre Seis Variedades Comerciais de Tomate para Indústria e Cinco Linhagens F <sub>8</sub> Consideradas Resistentes à Requeima .....                                             | 93  |
| 2.6.2. Avaliações para Resistência à Requeima e Características de Qualidade de Frutos em Trinta Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial e Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência e Qualidade de Frutos ..... | 95  |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                                                                                                                   | 97  |
| 3.1. Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência à Requeima e Qualidade de Frutos em Trinta Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial .....                                                                          | 97  |
| 4. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                                                                                               | 102 |
| ANEXOS .....                                                                                                                                                                                                                      | 104 |
| <br>CAPÍTULO 5. TESTES DE AGRUPAMENTOS EM GENÓTIPOS DE TOMATEIRO PARA MESA E COMPARAÇÃO DE SUAS CURVAS DE PROGRESSO DE REQUEIMA .....                                                                                             | 110 |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                                                                      | 111 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                                                                    | 113 |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                                                                                                                                               | 115 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                                                                                                                                                       | 116 |
| 2.1. Local de Condução do Experimento .....                                                                                                                                                                                       | 116 |
| 2.2. Metodologia de Inoculação de <i>Phytophthora infestans</i> .....                                                                                                                                                             | 116 |
| 2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima .....                                                                                                                                                                   | 117 |
| 2.4. Metodologia para Ajuste do Modelo Exponencial $y = y_0 \exp(r_e x)$ .....                                                                                                                                                    | 118 |
| 2.5. Condução do Experimento .....                                                                                                                                                                                                | 119 |
| 2.5.1. Genótipos Utilizados .....                                                                                                                                                                                                 | 119 |
| 2.5.2. Avaliações para Resistência à Requeima em Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro e Análise Temporal do Progresso da Requeima .....                                                                                            | 119 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                                                                                                                   | 122 |
| 3.1. Análise de Variância e Teste de Agrupamento de Scott-Knott para a Característica Resistência à Requeima em Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro .                                                                             | 122 |
| 3.2. Análise Temporal do Progresso da Requeima em Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro .....                                                                                                                                       | 124 |
| 3.3. Comparação de Testes de Agrupamento para Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro .....                                                                                                                                           | 129 |
| 4. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                                                                                               | 131 |
| <br>CAPÍTULO 6. TESTES DE AGRUPAMENTOS EM GENÓTIPOS DE TOMATEIRO PARA INDÚSTRIA E COMPARAÇÃO DE SUAS CURVAS DE PROGRESSO DE REQUEIMA .....                                                                                        | 133 |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                                                                      | 134 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                                                                    | 136 |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                                                                                                                                               | 138 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                                                                                                                                                       | 139 |
| 2.1. Local de Condução do Experimento .....                                                                                                                                                                                       | 139 |
| 2.2. Metodologia de Inoculação de <i>Phytophthora infestans</i> .....                                                                                                                                                             | 139 |
| 2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima .....                                                                                                                                                                   | 140 |
| 2.4. Metodologia para Ajuste do Modelo Exponencial $y = y_0 \exp(r_e x)$ .....                                                                                                                                                    | 141 |
| 2.5. Condução do experimento .....                                                                                                                                                                                                | 142 |
| 2.5.1. Genótipos Utilizados .....                                                                                                                                                                                                 | 142 |
| 2.5.2. Avaliações para Resistência à Requeima em Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro e Análise Temporal do Progresso da Requeima .....                                                                                           | 142 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                                                                                                                   | 144 |

|                                                                                                                                                      |         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 3.1. Análise de Variância e Teste de Agrupamento de Scott-Knott para a Característica Resistência à Requeima em Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro | 144     |
| 3.2. Análise Temporal do Progresso da Requeima em Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro .....                                                         | 146     |
| 3.3. Comparação de Testes de Agrupamento para Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro .....                                                             | 151     |
| 4.CONCLUSÕES .....                                                                                                                                   | 153     |
| <br>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                 | <br>155 |

## RESUMO

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2008. **Introgessão de genes de resistência à requeima de *Solanum habrochaites* em *Solanum lycopersicum*.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Co-orientadores: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva e Glauco Vieira Miranda.

Em um programa de pré-melhoramento para tomateiro visando a identificação de potenciais fontes de resistência à requeima foram conduzidos em campo dois experimentos, nos quais foram avaliados um total de 72 genótipos (70 linhagens F<sub>8</sub> mais os acessos do BGH-UFV '184' e '1497'). As linhagens foram originadas de cruzamento interespecífico entre *S. lycopersicum* cv. Santa Clara e *S. habrochaites* f. *glabratum* acesso BGH 6902. Foram selecionadas como fontes de resistência à requeima 10 linhagens mais o acesso de tomateiro BGH 1497. Posteriormente, objetivando selecionar genitores superiores quanto à resistência à requeima foram realizados dois dialelos em esquema parcial. No primeiro dialelo foram utilizados como genitores as cultivares de tomateiro para mesa Alambra, Fanny, Ikram, Nemo-Netta e o acesso BGH 1497, pertencentes ao grupo I, e cinco linhagens identificadas como 64 B, 73 D, 127 F, 133 A e 163 A, pertencentes ao grupo II. No segundo dialelo foram utilizados como genitores as cultivares de tomateiro para indústria AP 529, AP 533, APT 410, Heinz Caballero, Heinz H7155 e IPA 6, pertencentes ao grupo I, e as linhagens 64 B, 73 D, 127 F, 133 A, 163 A, pertencentes ao grupo II. Nos dois dialelos, tanto os efeitos gênicos aditivos quanto os não aditivos estiveram envolvidos no controle da resistência, sendo de maior importância os efeitos gênicos aditivos. Os melhores genitores, quanto à resistência à requeima, foram as cultivares Ikram, Nemo-Netta, Heinz H7155 e IPA 6 (grupo I) e as linhagens 163 A e 127 F (grupo II). As melhores combinações híbridas

foram Nemo-Netta x 133 A, Alambra x 64 B, Fanny x 133 A, AP 533 x 73 A, Heinz Caballero x 163 A e APT 410 x 133 A. A maioria dos genitores selecionados para resistência à requeima foram inferiores em relação à qualidade de frutos. Os melhores genitores, quanto à qualidade de frutos, foram as cultivares Alambra, Heinz H7155 e IPA 6 (grupo I) e as linhagens 127 F, 133 A e 64 B (grupo II). As melhores combinações híbridas foram Alambra x 163 A, Alambra x 133 A, BGH 1497 x 73 A, Fanny x 133 A, Nemo-Netta x 64 B, Nemo-Netta x 163 A, Heinz Caballero x 163 A e Heinz H7155 x 64 B. Os genitores superiores quanto à resistência à requeima farão parte da próxima etapa do programa de melhoramento, visando à obtenção de novas cultivares de tomateiro para mesa e para indústria resistentes à requeima e de qualidade de frutos superiores. Realizou-se estudos adicionais, nos quais ajustou-se o modelo exponencial aos dados de porcentagem de severidade de requeima obtidos dos genótipos dos dois dialelos, obtendo as estimativas geradas para  $y_0$  e  $r$  e submetendo-as às análises multivariada e de cluster. Para cada estudo, foram obtidos o número ótimo de cluster e um dendograma, no qual foi verificado quais os genótipos que pertenciam aos diferentes grupos obtidos pela discriminação estatística em relação aos vetores dos parâmetros  $y_0$  e  $r$ . Após, comparou-se as diferentes curvas de progresso de requeima geradas para cada grupo. No primeiro estudo, utilizando-se dos dados obtidos dos genótipos do primeiro dialelo, pela análise de cluster, obteve-se oito grupos, sendo os híbridos Ikram x 73A, Nemo-Netta x 133A, Ikram x 163A e Nemo-Netta x 163A, pertencentes ao Grupo I, os que apresentaram menor taxa de progresso de requeima. No segundo estudo, no qual foi utilizado dados obtidos dos genótipos do segundo dialelo, foram obtidos dez grupos, sendo os híbridos Heinz Caballero x 163 A e Heinz Caballero x 133 A, pertencentes aos Grupos VI e IX, respectivamente, os que apresentaram menores taxas de progresso de requeima.

## ABSTRACT

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march of 2008. **Introgression of late blight resistance genes of *Solanum habrochaites* in *Solanum lycopersicum*.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-advisers: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva and Glauco Vieira Miranda.

In a tomato pre-breeding program aiming at identification of potential late blight resistance sources, two field trials were established. A total of 72 genotypes (70 F<sub>8</sub> inbred lines and the accessions BGH-UFV 184 and 1497) were assessed. The inbred lines were originated from an inter-specific cross between *S. lycopersicum* cv. Santa Clara and *S. habrochaites* f. *glabratum* accession BGH 6902. The accession BGH 1497 and 10 inbred lines were selected as resistance sources. Subsequently, two partial diallel crosses were performed aiming at selection of superior parents concerning to late blight resistance. In the first diallel, the group I was composed by the parents Alambra, Fanny, Ikram, Nemo-Netta and the accession BGH 1497, and, the group II was formed by the inbred lines 64 B, 73 D, 127 F, 133 A and 163 A. In the second diallel, the group I (tomatoes for industry) was composed by the parents AP 529, AP 533, APT 410, Heinz Caballero, Heinz H7155 and IPA 6, and, the group II was formed by the inbred lines 64 B, 73 D, 127 F, 133 A and 163 A. In both diallels, both additive and non additive genetic effects were involved in the resistance control, with the additive effects being more important. The best parents for blight resistance were the cultivars Ikram, Nemo-Netta, Heinz H7155 and IPA 6 (group I) and the inbred lines 163 A and 127 F (group II). The best hybrid combinations were Nemo-Netta x 133 A, Alambra x 64 B, Fanny x 133 A, AP 533 x 73 A, Heinz Caballero x 163 A and APT 410 x 133 A. The majority of parents selected for late blight resistance presented poor fruit quality. The best parents

concerning to fruit quality were the cultivars Alambra, Heinz H7155 and IPA 6 (group I) and the inbred lines 127 F, 133 A and 64 B (group II). The best hybrid combinations for fruit quality were Alambra x 163 A, Alambra x 133 A, BGH 1497 x 73 A, Fanny x 133 A, Nemo-Netta x 64 B, Nemo-Netta x 163 A, Heinz Caballero x 163 A and Heinz H7155 x 64 B. The superior parents for late blight resistance will be advanced for the next phase of the breeding program as a mean to obtain new tomato cultivars with blight resistance and fruit quality. Additional studies were performed and an exponential model was fitted to the percentage of late blight severity obtained from the evaluation of the genotypes of the two diallel crosses. The estimates of  $y_0$  and  $r$  obtained were subjected to multivariate and cluster analyses. For each study, a dendrogram and an optimal number of clusters were obtained in which the genotypes were allocated to different groups on the base of the statistical discrimination in relation to the vectors of the parameters  $y_0$  and  $r$ . Different curves of disease progress were compared for each group. In the first diallel eight groups were obtained by the cluster analysis, with the hybrids Ikram x 73A, Nemo-Netta x 133A, Ikram x 163A and Nemo-Netta x 163A, belonging to Group I, the one that presented the smaller rate of disease progress. In the second diallel ten groups were obtained by the cluster analysis, with the hybrids Heinz Caballero x 163 A and Heinz Caballero x 133 A, belonging to the Groups VI e IX, respectively, presenting the smaller rate of disease progress.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) se destaca como importante cultura cosmopolita, sendo considerado no Brasil a 2ª hortaliça em importância econômica (FILGUEIRA, 2000). Em termos sociais é a principal hortaliça, abrigando em sua cadeia produtiva cerca de 10.000 produtores, com 60.000 famílias de trabalhadores, cujo efetivo é de mais de 200.000 pessoas (TAVARES, 2003).

Em 2005 a produção brasileira foi de mais de 3,3 milhões de toneladas de frutos de tomate, com produtividade média de 57,44 t/ha, destacando-se os Estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais como maiores produtores (AGRIANUAL, 2007). O Estado de Goiás é responsável por cerca de 65% da produção nacional de tomate para indústria (SILVA & GIORDANO, 2000).

No Estado de Minas Gerais, a Zona da Mata é a terceira região produtora de tomate para mesa (CANÇADO JÚNIOR *et al.*, 2003). Em 2004, nessa região, foram produzidas em torno de 28.844 toneladas de tomate, o que corresponde a aproximadamente 10% da produção total do Estado (AGRIDATA, 2005).

As melhores produções de tomate na Região Sudeste são obtidas no período que vai do outono a primavera (MATTEI *et al.*, 2007); período esse em que as condições climáticas favorecem a mela ou requeima, considerada uma das principais doenças do tomateiro (COSTA *et al.*, 2007; MIZUBUTI, 2005).

A mela ou requeima pode afetar todos os órgãos aéreos do tomateiro: folhas, hastes, inflorescências e frutos verdes e maduros, podendo atacar as plantas tão logo elas emergem (VALE *et al.*, 2004; LOPES *et al.*, 2003, KUROZAWA & PAVAN, 1997). Dependendo das condições climáticas e se medidas de controle não forem corretamente adotadas, ocorre perda total da produção (VALE *et al.*, 2007; MIZUBUTI, 2005; MIZUBUTI, 2001).

Sabe-se que um dos principais fatores limitantes ao cultivo do tomateiro são as doenças, principalmente quando não existem disponíveis no mercado cultivares com resistência genética (VALE *et al.*, 2007). As variedades e híbridos de tomateiro cultivados são suscetíveis à requeima e a principal forma de controle da doença é através da aplicação de fungicidas (COSTA *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2006; MIZUBUTI, 2005; KUROZAWA & PAVAN, 1997).

Segundo estimativas de economistas do Centro Internacional de La Papa, no Peru, mundialmente, são gastos cerca de um bilhão de dólares ao ano para o controle da requeima (MIZUBUTI, 2005). No Brasil, estima-se que pelo menos 20% do custo de produção do tomateiro seja destinado ao controle de doenças e pragas, especialmente *Phytophthora infestans*.

O uso de cultivares resistentes para controle de doenças é a estratégia mais eficaz e econômica, impedindo ou dificultando seu estabelecimento na lavoura. Nos dias atuais, além do aspecto econômico, o apelo mais expressivo para o uso de cultivares resistentes está relacionado à menor contaminação dos aplicadores de defensivos agrícolas, do solo e dos mananciais hídricos e à redução dos efeitos residuais nos alimentos, implicando diretamente em maior economia e segurança (NOJOSA *et al.*, 2004), além de possibilitar o cultivo orgânico do tomateiro.

Torna-se importante o desenvolvimento de cultivares de tomateiro resistentes à requeima, diminuindo não só os custos de produção da cultura, mas também os impactos ambientais e de risco a saúde humana causados pela aplicação indiscriminada de defensivos.

Atualmente produtores se deparam com a necessidade de fornecer alimentos de elevada qualidade, incluindo melhor aparência e valor nutricional, em razão da globalização do mercado e das exigências do consumidor final. No tomateiro não é diferente; esforços têm sido feito para a cultura apresentar melhorias significativas em relação à qualidade do produto. A maioria dos consumidores de tomate está exigindo frutos mais saborosos e que contribuam para sua saúde. Nesse contexto, a qualidade organoléptica dos frutos têm chamado atenção, sendo atribuída a compostos aromáticos, açúcares, ácidos, entre outros, onde os açúcares e ácidos são responsáveis pelo 'sabor' e rendimento do fruto na industrialização (CALIMAN, 2003).

No desenvolvimento de cultivares competitivas o estudo da capacidade de combinação é importante, por auxiliar o melhorista na escolha de genitores e combinações híbridas superiores. Em cruzamentos dialélicos, a capacidade geral de combinação (CGC) está associada aos efeitos genéticos aditivos e à frequência de genes

favoráveis dos genitores enquanto a capacidade específica de combinação (CEC) está associada aos efeitos genéticos não aditivos, devido à dominância e epistasia envolvendo dominância (CRUZ & VENCOVSKY, 1989).

As curvas de progresso de uma doença, expressas pela plotagem da proporção de doença versus o tempo, é outra alternativa disponível na identificação de genótipos resistentes a determinado patógeno (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004; WAGGONER, 1986), representando todas as interações que ocorrem entre patógeno e hospedeiro, sob a influência do ambiente (TENG & ZADOCKS, 1980).

Diante do exposto, os objetivos desse trabalho foram:

- Identificar linhagens de tomateiro resistentes à requeima e avaliar a qualidade de seus frutos;
- Estudar a capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para resistência à requeima;
- Estudar a capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para características de qualidade de frutos;
- Aplicar o método de agrupamento de Scott-Knott em genótipos de tomateiro utilizando a variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e obter curvas de progresso de doença, as quais foram agrupadas de acordo com a análise de cluster.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. O Tomateiro

O tomate cultivado (*Solanum lycopersicum* L.) originou-se da espécie silvestre *S. lycopersicum* L. var. *cerasiforme* e é uma das 9 espécies pertencentes ao gênero *Solanum* (RICK, 1979; WARNOCK, 1988). Todas as espécies de tomateiro são nativas da parte ocidental da América do Sul, compreendendo um estreito território limitado ao norte pelo Equador, ao sul pelo norte do Chile, a oeste pelo Oceano Pacífico e a leste pela Cordilheira dos Andes (FILGUEIRA, 2000). Da América do Sul foi levado primeiramente para o México, em épocas passadas, onde foi domesticado. Lá recebia o nome “tomatl”. No século XVI, por volta de 1554, foi levado para a Europa, sendo utilizado inicialmente como planta ornamental. Acredita-se que os italianos tenham sido os primeiros a utilizar seus frutos na alimentação humana, já em meados do século XVIII (ALVARENGA, 2000).

No Brasil, sua introdução ocorreu por meio de imigrantes europeus, no fim do século XIX; porém, o incremento no seu uso e produção se deu apenas após a Primeira Guerra Mundial (ALVARENGA, 2000). Naquela época, as variedades cultivadas eram conhecidas com o nome de Redondo Japonês, Rei Humberto e Chacareiro. Admite-se que um híbrido natural entre essas variedades tenha surgido, originando as cultivares do grupo Santa Cruz (MALUF, 2000).

Pertencente à família Solanaceae, o tomateiro é uma planta dicotiledônea, herbácea, com caule flexível e incapaz de suportar o peso dos frutos e manter a posição vertical. Embora sendo planta perene, a cultura é anual; da semeadura até a produção de novas sementes o ciclo varia de quatro a sete meses, incluindo um a três meses de

colheita. A floração e a frutificação ocorrem juntamente com o crescimento vegetativo. As folhas, pecioladas, são compostas por número ímpar de folíolos (FILGUEIRA, 2000).

O tomateiro apresenta dois hábitos de crescimento distintos: indeterminado e determinado. O hábito de crescimento indeterminado ocorre na maioria das cultivares apropriadas para a produção de frutos para mesa. Ocorre dominância da gema apical sobre as gemas laterais, ou seja, o caule ou haste principal cresce mais que as ramificações laterais. O crescimento vegetativo da planta é vigoroso e contínuo, juntamente com a produção de flores e frutos. Já o hábito de crescimento determinado ocorre nas cultivares criadas especialmente para a cultura rasteira, com finalidade agroindustrial. As plantas atingem apenas 1,0 m e sua haste principal termina em inflorescência. Há crescimento vegetativo menos vigoroso, as hastes crescem mais uniformemente e a planta assume a forma de uma moita (FILGUEIRA, 2000).

É uma planta autógama, com menos de 5% de fecundação cruzada. As flores agrupam-se em cachos e são hermafroditas, pequenas, com corola e anteras amarelas; tem cinco estames livres, cujas anteras se soldam formando um cone que envolve o estigma. O pólen é liberado pelas fendas laterais das anteras, no interior do cone, e é conduzido por gravidade para a boca do cone, polinizando assim o estigma e dificultando, desse modo, a fecundação cruzada (MALUF, 1994).

Os frutos são bagas carnosas, suculentas, com aspecto, tamanho e peso variados, conforme a cultivar; são compostos de película (casca), polpa, placenta e sementes sendo divididos internamente em lóculos, que podem ser em número de 2 a 8, dependendo da cultivar, nos quais se alojam as sementes, imersas na mucilagem da placenta (MALUF, 1994).

O sistema radicular é constituído por uma raiz principal, raízes secundárias e adventícias. Na semeadura direta, há maior desenvolvimento no sentido vertical, podendo a raiz principal ultrapassar 2,0 m de profundidade. Contrariamente, em cultura transplantada, as raízes tornam-se mais ramificadas, ocorrendo maior desenvolvimento lateral e a profundidade atingida é menor. Nessa cultura, mais de 60% das raízes localizam-se nos primeiros 10 cm do perfil do solo, em razão das lesões no transplante, que originam denso conjunto de raízes laterais, superficiais. A raiz principal, pivotante, destaca-se na planta jovem apenas e as raízes laterais e adventícias ao caule desenvolvem-se mais que a principal (FILGUEIRA, 2000).

## 2.2. Grupos de Tomate

As cultivares e híbridos de tomate plantados podem ser divididos em cinco grupos distintos, sendo quatro deles destinados ao tomate para consumo *in natura* e um ao tomate industrial: Grupo Santa Cruz, Grupo Salada ou Caqui (inclui Grupo Saladinha), Grupo Saladete ou Italiano, Grupo Cereja e Grupo para Indústria (ALVARENGA, 2004; FILGUEIRA, 2000).

Entre eles, o Grupo Salada, também chamado de tomate-caqui, tomate maçã ou tomatão apresenta as seguintes características: as plantas podem apresentar hábito de crescimento indeterminado ou determinado; os frutos são pluriloculares, com quatro ou mais lóculos, apresentando formato globular achatado, com diâmetro transversal maior que o diâmetro longitudinal, graúdos, com peso unitário acima de 250 gramas, podendo chegar até 500 gramas, de coloração vermelha ou rosada; quanto ao sabor, a maioria das cultivares e híbridos apresenta os frutos menos ácidos que os tomates do grupo Santa Cruz (ALVARENGA, 2004).

O Grupo Saladinha é apresentado por diversos autores como parte do grupo Salada. Didaticamente, sugere-se um grupo à parte, diante do menor tamanho dos frutos, em relação ao grupo Salada. Algumas cultivares e híbridos desse grupo surgiram do cruzamento de materiais do Grupo Santa Cruz e do Grupo Salada. Entretanto, a maioria dos híbridos e cultivares tem origem na seleção de materiais do grupo Salada. Os frutos do grupo Saladinha possuem formato globular achatado, são pluriloculares, de cores vermelhas intensas, peso entre 150 e 250 gramas e hábito de crescimento indeterminado ou determinado. Portanto, tem as mesmas características do grupo Salada, diferindo apenas no tamanho do fruto (ALVARENGA, 2004).

Em cinco unidades da Ceasa – MG (Caratinga, Governador Valadares, Grande BH, Juiz de Fora, Uberaba e Uberlândia), apesar do volume comercializado de tomate do Grupo Santa Cruz ter representado cerca de 92,5% do total de tomate em 2001, Cançado Júnior *et al.* (2003) verificaram crescimento na comercialização de tomate do Grupo Salada, no período de 1992 a 2001, de aproximadamente 13% ao ano, enquanto o tomate do Grupo Santa Cruz apresentou um crescimento de apenas 3,4% ao ano.

Cançado Júnior *et al.* (2003) verificaram que os preços do tomate do Grupo Salada apresentaram leve tendência ascendente ao longo do período de 1992 a 2001, ao contrário do ocorrido com o tomate do Grupo Santa Cruz, que apresentou tendência descendente. O tomate do Grupo Salada apresentou preços, em média, cerca de 68%

maiores que os do tomate do Grupo Santa Cruz, ao longo dos dez anos analisados (1992-2001), consequência da menor oferta em relação ao tomate do Grupo Santa Cruz.

Atualmente produtores se deparam com a necessidade de fornecer alimentos de elevada qualidade, incluindo melhor aparência e valor nutricional, em razão da globalização do mercado e das exigências do consumidor final. No tomateiro não tem sido diferente; esforços têm sido feito para a cultura apresentar melhorias significativas não somente em relação à produtividade e regularidade do produto ofertado, mas também em relação à qualidade, para atender às exigências do mercado consumidor, que tem preferido alimentos mais saborosos e que contribuam para sua saúde (CALIMAN, 2003).

Segundo Alvarenga & Souza (2004), algumas variedades de tomate plantadas no Brasil possuem baixos teores de açúcares, o que prejudica seu uso culinário, pois o consumidor de tomate busca variedades com melhor sabor e qualidade de polpa para molho.

A qualidade organoléptica dos frutos têm chamado atenção, sendo atribuída a compostos aromáticos, açúcares, ácidos, entre outros, onde os açúcares e ácidos são responsáveis pelo 'sabor' e rendimento do fruto na industrialização. Os açúcares, principalmente glicose e frutose, representam, aproximadamente, 65% dos sólidos solúveis totais (°Brix) de frutos de tomateiro. A acidez titulável mede o teor de ácidos orgânicos presentes no fruto, principalmente ácidos cítrico e málico (CALIMAN, 2003).

As cultivares e híbridos do Grupo para Indústria apresentam hábito de crescimento determinado, sendo cultivadas sem tutoramento, ciclo curto, de 100 a 130 dias, maturação concentrada, sendo a colheita efetuada num período de 30 dias; os frutos apresentam coloração vermelha intensa, interno e externamente, polpa espessa e poucas sementes, devendo também apresentar alto teor de sólidos solúveis, idealmente entre 5,5 a 6,0 % (quanto maior o teor de sólidos solúveis menos energia para obter a massa), maior acidez, com pH menor que 4,4 (menor pH, menor tempo para esterilização da massa) e resistência ao transporte (ALVARENGA, 2000). A maior precocidade, menor número de "apanhas" na colheita e boa rusticidade são as principais características agronômicas das cultivares e híbridos pertencentes ao grupo para indústria (ALVARENGA, 2000).

Segundo Concha L. (2005), no ano de 2000, a produção mundial de tomate para indústria foi de 26.600 milhões de toneladas, aumentando, em 2004, para 34.500 milhões de toneladas. A tendência de consumo de produtos derivados de tomate vem aumentando, devido à incorporação da mulher no trabalho e de componentes que são

benéficos para a saúde; a pasta de tomate é um dos produtos que apresentam maior preponderância no comércio mundial (MACKENZIE, 2005).

A princípio dos anos 90, o Brasil era o principal importador de pasta de tomate do Chile (Concha L., 2005). Atualmente, é o principal produtor de tomate para processamento da América do Sul, seguido pelo Chile e Argentina (MELO & VILELA, 2004), e a importação de pasta de tomate é mínima, dado seu próprio abastecimento (CONCHA L., 2005).

No início da década de 90, a área plantada com tomate para processamento industrial foi de 27.000 ha, onde o Nordeste participou com 46%, São Paulo com 30% e o Cerrado (GO e MG) com 24%. Em 2000, a área plantada reduziu-se para 14.800 ha e o Cerrado transformou-se na mais importante zona de produção de tomate industrial do País, com 77% da área plantada, seguido de São Paulo, com 14%, e do Nordeste, com apenas 9%. O rendimento médio da cultura, em 1990, era em torno de 35 t/ha, evoluindo para aproximadamente, 67 t/ha na safra de 2000 (MELO & VILELA, 2004).

Atualmente, a cadeia agroindustrial do tomate, posiciona-se entre as mais importantes no contexto do agronegócio. No ano de 1999, somente o mercado de derivados de tomate para processamento industrial gerou US\$ 500 milhões. À montante do setor produtivo, a cultura do tomate para processamento industrial movimenta as indústrias paralelas de insumos, embalagens, máquinas agrícolas e equipamentos de irrigação. Como matéria-prima para as indústrias processadoras de derivados, o tomate para processamento representa a atividade principal geradora de renda para um grande número de produtores, tornando-se significativa fonte de renda regional (MELO & VILELA, 2004).

### **2.3. Mela ou Requeima**

A mela ou requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, foi descrita pela primeira vez em 1847 e, no Brasil, passou a ser problemática a partir de 1950 (VALE *et al.*, 2004; KUROZAWA & PAVAN, 1997). É considerada uma das doenças mais destrutivas para as culturas de batata e tomate, ocorrendo praticamente em todas as regiões do mundo onde se cultivam essas culturas (MIZUBUTI, 2005; VALE *et al.*, 2004; LOPES *et al.*, 2003; MIZUBUTI, 2001, KUROZAWA & PAVAN, 1997).

A doença é extremamente dependente das condições climáticas e sua importância está ligada à ocorrência simultânea de temperaturas amenas (entre 15 a 20

°C) e umidade relativa superior a 85%, oriunda de irrigação, cerração, chuva, orvalho, etc. A umidade desempenha papel importante no progresso da doença, atuando em duas fases do ciclo de vida do patógeno: na produção direta de esporângios e na germinação; tanto esporângios como zoósporos germinam somente na presença de água livre, não podendo infectar uma folha sem água na sua superfície (VALE *et al.*, 2007). Portanto, a duração do molhamento foliar, a densidade de inóculo e a temperatura interagem para determinar se haverá ou não germinação e ocorrência de infecção (VALE *et al.*, 2004).

No tomateiro, pode atacar todos os órgãos aéreos da planta: folhas, hastes, inflorescências e frutos verdes e maduros; os sintomas típicos mais evidentes manifestam-se nas folhas, surgindo, inicialmente, lesões de formato irregular e coloração escura; essas lesões se expandem, tendendo ao formato circular. Uma característica marcante deste estágio de desenvolvimento é o aspecto encharcado das lesões (daí a denominação de mela). Sob condições de alta umidade relativa forma-se na face abaxial da folha uma faixa de coloração clara, branca, circundando a lesão – o anel de esporulação. Este anel é composto de esporangióforos e esporângios do patógeno. As lesões se desenvolvem e à medida que o tecido foliar é consumido, estas áreas necrosam e adquirem consistência seca, conferindo aspecto de queima (crestamento), daí a origem da denominação requeima (MIZUBUTI, 2001).

Devido à fácil disseminação e rápida colonização dos tecidos da planta, a requeima é uma doença altamente destrutiva, podendo levar a planta à desfolha completa em poucos dias (VALE *et al.*, 2007). Dependendo das condições climáticas e se medidas de controle não forem corretamente adotadas, pode ocorrer perda total da produção (COSTA *et al.*, 2007; VALE *et al.*, 2007; MIZUBUTI, 2005; MIZUBUTI, 2001).

Atualmente, o manejo da requeima na cultura do tomateiro é feito exclusivamente pelo princípio de proteção do hospedeiro, através da aplicação de fungicidas de caráter preventivo e/ou curativo, totalizando de 15 a 25 aplicações de fungicidas por safra. Não existem variedades e híbridos de tomateiro cultivados resistentes à requeima (COSTA *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2006; MIZUBUTI, 2005; KUROSZAWA & PAVAN, 1997).

A ausência de cultivares de tomateiro resistentes à requeima se deve a dificuldades encontradas em programas de melhoramento, tais como a herança da resistência à requeima ser do tipo poligênica, o patógeno apresentar fácil capacidade de mutação e ainda ser difícil identificar fontes de resistência genética (ABREU, 2005).

Estimativas de economistas do Centro Internacional de La Papa, no Peru, indicaram gastos mundiais de cerca de um bilhão de dólares ao ano para o controle da requeima (MIZUBUTI, 2005). No Brasil, estima-se que 55,8% do custo de produção do tomateiro seja destinado ao consumo de insumos em geral, tais como fertilizantes, sementes, mudas, material de plantio e, principalmente, defensivos (AGRIANUAL, 2007). Nos últimos anos, os custos de produção do tomateiro e da batateira têm aumentado, decorrente de maiores gastos no controle da requeima (JOHNSON *et al.*, 1997).

O uso de cultivares resistentes para controle de doenças é a estratégia mais eficaz e econômica, impedindo ou dificultando o estabelecimento de doenças na lavoura. Nos dias atuais, além do aspecto econômico, o apelo mais expressivo para o uso de cultivares resistentes está relacionado à menor contaminação dos aplicadores de defensivos agrícolas, do solo e dos mananciais hídricos e à redução dos efeitos residuais nos alimentos, implicando diretamente em maior economia e segurança (NOJOSA *et al.*, 2004).

#### **2.4. Variabilidade de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary**

*Phytophthora infestans* não é um fungo verdadeiro, mas sim um organismo heterotático pertencente ao reino Cromista, filo Oomycota e a classe Oomycetes. Estudos recentes demonstraram que *P. infestans*, até pouco tempo classificado como fungo, é mais próximo de algas que de fungos (MIZUBUTI, 2005, ERWIN & RIBEIRO, 1996).

Seu centro de origem e diversidade é provavelmente a região montanhosa do México Central (GOODWIN *et al.*, 1992), embora um pequeno grupo de pesquisadores aponte os Andes como possível centro de origem alternativo (TURKENSTEEN & FLIER, 2003).

O patógeno pode se reproduzir tanto assexuada como sexuadamente. Quando se reproduz assexuadamente produz esporângios, os quais, dependendo da temperatura, podem germinar de modo direto, formando tubo germinativo, ou indireto, formando zoósporos (MIZUBUTI, 2005; MIZUBUTI, 2001). Cada esporângio pode produzir entre 3 a 8 zoósporos (DE BARY, 1876). A reprodução sexuada ocorre quando há cruzamento entre isolados do grupo de compatibilidade A1 com A2 (GOODWIN, 1997; ERWIN & RIBEIRO, 1996), havendo formação de esporos sexuais, denominados

oósporos. A ocorrência de isolados dos dois grupos de compatibilidade numa mesma região, sobre a mesma cultura, aumenta as chances de reprodução sexuada e o surgimento de recombinantes, os quais podem apresentar características superiores de adaptabilidade, tais como maior agressividade e virulência e tolerância ou resistência a fungicidas, dificultando ainda mais o manejo da doença (GOODWIN, 1997).

Desde 1845, a população de *Phytophthora infestans* constituía-se de isolados pertencentes ao grupo de compatibilidade A1, os quais reproduziam-se exclusivamente de modo assexuado. O único local onde havia coexistência de grupos de compatibilidade A1 e A2 era no Vale Toluca, região central do México, onde é possível encontrar oósporos em condições naturais (GALLEGLY & GALINDO, 1958). No final da década de 80, migrações de *Phytophthora infestans* da região central do México trouxeram novos isolados dos grupos A1 e A2 para vários países da América do Norte, Europa, Ásia e América do Sul (FRY & GOODWIN, 1997).

Em países da América do Norte e Europa, a ocorrência de reprodução sexuada trouxe como conseqüências a geração e o estabelecimento de novos genótipos do patógeno, mais agressivos que os existentes, associados tanto a batateira como a tomateiro, além da participação de outro tipo de inóculo, os oósporos, que possivelmente passaram a ter papel importante na epidemiologia da doença, contribuindo para um início mais antecipado da epidemia no campo (TURKENSTEEN *et al.*, 2000).

No Brasil, as populações de *Phytophthora infestans* são diferentes das encontradas em outros países (MIZUBUTI, 2005). Resultados de pesquisa demonstraram que, no País, há duas populações de *Phytophthora infestans*, uma denominada US-1 e outra denominada BR-1. As duas populações apresentam alta especificidade por hospedeiro; a população US-1 causa requeima em tomateiro e a população BR-1 causa requeima em batateira (REIS *et al.*, 2006; SUASSUNA *et al.*, 2004; REIS *et al.* 2003; REIS *et al.*, 2002, REIS, 2001; BROMMONSCHENKEL, 1988). Outra peculiaridade dessas duas populações é a resposta diferenciada aos fatores climáticos; os efeitos da temperatura para a população BR-1, que causa requeima em batata, são bastante semelhantes aos descritos para populações de *Phytophthora infestans* de países de clima temperado enquanto a população US-1, que causa requeima em tomate, pode se desenvolver em temperaturas mais altas do que aquelas consideradas ideais para populações de países de clima temperado, o que ajuda a explicar as epidemias de requeima em tomateiro em cultivos de verão (MIZUBUTI, 2005).

Reis (2001) e Reis *et al.* (2006), em trabalhos realizados nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (Estado de Goiás e Distrito Federal) do Brasil, verificaram que as populações brasileiras de *Phytophthora infestans*, além de continuarem clonal e com alta especificidade por hospedeiro, apresentaram altas porcentagens de isolados resistentes e moderadamente resistentes ao metalaxyl (Ridomil 2E) e mefenoxam (metalaxyl-m), importantes fungicidas que atuam no controle da requeima, principalmente quando as condições estão amplamente favoráveis à doença. Quanto ao espectro de virulência, verificado somente para as Regiões Sul e Sudeste, Reis (2001) constatou a ineficácia dos genes *Ph<sub>1</sub>* e *Ph<sub>2</sub>* em restringir o desenvolvimento de isolados de *Phytophthora infestans*, uma vez que a maioria dos isolados foram virulentos em plantas de tomate possuidoras dos genes *Ph<sub>1</sub>* (cultivar de tomate ‘New Yorker’) e *Ph<sub>2</sub>* (cultivar de tomate ‘Caline’).

Reis (2001) ainda verificou a existência de vários patótipos de *Phytophthora infestans* nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil, concluindo que os programas de melhoramento genético do tomateiro devem buscar a incorporação de resistência horizontal (duradoura) à requeima, além de outras doenças importantes da parte aérea, contribuindo para a diminuição do consumo de fungicidas, através da diminuição do número de pulverizações e/ou aumento dos intervalos entre estas.

Desde a década de 50, diversos pesquisadores se preocupam com a busca da resistência genética à requeima do tomateiro, caracterizando e estudando a herança da resistência em vários acessos de *Solanum*. O primeiro estudo de herança da resistência do tomateiro a *Phytophthora infestans* foi feito por Galegly e Marvel (1955), observando a existência de dois tipos de resistência ao patógeno; uma conferia imunidade à raça 0, sendo controlada por um gene completamente dominante (*Ph<sub>1</sub>*), e outra conferia resistência às raças 0 e 1, sendo quantitativa, porém ineficaz quando as condições ambientais favoreciam o patógeno.

A partir daí, inúmeros estudos visando resistência à requeima têm sido realizados, em várias partes do mundo. Durante anos, a espécie silvestre *Solanum pimpinellifolium* foi alvo de vários estudos e nela foram encontrados os genes de resistência a *Phytophthora infestans* *Ph<sub>1</sub>*, *Ph<sub>2</sub>* e *Ph<sub>3</sub>*. Quanto aos genes *Ph<sub>1</sub>* e *Ph<sub>2</sub>*, sabe-se que a resistência às raças de *Phytophthora infestans* não é defesa suficiente quando as condições são amplamente favoráveis ao patógeno (GIORDANO *et al.*, 2003; MALUF, 2000).

Não há genótipos com boas características agronômicas e comerciais que apresentem nível satisfatório de resistência a requeima (MIZUBUTI, 2005). É estimado

que o genoma das cultivares comerciais de tomateiro contém menos de cinco por cento da variação genética total, em contrapartida às espécies silvestres (TANKSLEY, 2004). Geralmente, a resistência a diversos patógenos é encontrada em espécies silvestres (LATERROT, 2000). Em programas de melhoramento visando resistência a patógenos, a ‘fonte de resistência’ é um fator dos mais importantes, devendo o melhorista realizar uma busca por genótipos resistentes em bancos de germoplasma (ABREU, 2005).

Borges *et al.* (2005), visando obter novas fontes de resistência à *Phytophthora infestans*, avaliaram 176 genótipos de tomateiro provenientes do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa, verificando que apenas o acesso BGH 6902 (*Solanum habrochaites* f. *glabratum*) apresentou resistência à *Phytophthora infestans*, o qual poderá constituir em nova fonte de resistência em trabalhos de melhoramento genético do tomateiro.

## **2.5. Curva de Progresso da Doença**

A curva de progresso da doença, também denominada de gráfico de uma epidemia (KRANZ, 1974), é expressa pela plotagem da proporção de doença versus o tempo (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004; MICHEREFF, \_\_\_\_), representando todas as interações que ocorrem entre patógeno e hospedeiro, sob a influência do ambiente (TENG & ZADOCKS, 1980).

Segundo Fry (1982), o conhecimento do desenvolvimento de uma doença em populações do hospedeiro é de grande importância, por auxiliar na escolha de estratégias de controle e para avaliar o efeito das estratégias adotadas. Através da análise detalhada da curva de progresso de uma doença têm-se condições de obter um manejo econômico e racional da cultura (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004) Entre os vários motivos de estudo do progresso da doença no campo citam-se o controle de doenças, bem como a identificação de um fungicida eficiente ou de uma cultivar resistente ao patógeno (WAGGONER, 1986).

De acordo com Jesus Júnior *et al.* (2004) e Michereff (\_\_\_\_), para qualquer patossistema podem ser construídas curvas de progresso da doença. A cultura pode ser anual ou perene; o patógeno ou agente etiológico pode ser fungo, bactéria, vírus, nematóide ou outro; a epidemia pode ser de curta, média ou longa duração; a área na qual a doença está ocorrendo pode ser desde uma pequena parcela experimental até um continente inteiro.

Independentemente da situação considerada, vários parâmetros importantes da curva de progresso da doença podem ser caracterizados, destacando-se época de início da epidemia ( $t_0$ ), quantidade de inóculo inicial ( $y_0$ ), taxa de aumento da doença ( $r$ ), forma e área abaixo da curva de progresso da doença, quantidades máxima ( $y_{max}$ ) e final ( $y_f$ ) de doença e duração da epidemia (MICHEREFF, \_\_\_\_).

Modelos matemáticos e estatísticos são capazes de resumir, na forma de expressões relativamente simples, a relação existente entre doença e tempo. Por definição, modelos são simplificações da realidade e dificilmente serão capazes de reproduzir com detalhes os fenômenos da natureza (KRANZ & ROYLE, 1978). Apesar dessa definição, e da constante aversão dos profissionais da área de ciências biológicas, os modelos matemáticos e estatísticos são praticamente a única alternativa para quantificar epidemias de doenças de plantas, constituindo-se em ferramentas para comparar epidemias, distinguir variedades, tratamentos fungicidas e técnicas de manejo, além de gerar modelos de previsão, simular epidemias e quantificar danos, perdas e o efeito do ambiente no desenvolvimento de doenças de plantas (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004).

Uma forma prática e objetiva de avaliar o comportamento da requeima do tomateiro é por meio do ajuste de modelos de progresso de doenças, cujos parâmetros apresentam interpretação biológica, evidenciando que a taxa de progresso da doença é diretamente proporcional à quantidade de doença (e indiretamente, ao inóculo). Segundo Campbell & Maden (1990), grande quantidade de doença conduz a elevados aumentos na doença sendo, na prática, observados os níveis da doença em vários tempos nas populações de hospedeiros, não a taxa de progresso.

Dentre os modelos utilizados para estudo do progresso de doenças, o modelo exponencial é um dos mais simples, expressando a variação da intensidade da doença ( $y$ ) em função do tempo ( $t$ ) por  $y = y_0 \exp(r_e t)$ , em que  $y$  é a intensidade da doença;  $y_0$  a quantidade de inóculo inicial;  $r_e$  a taxa de progresso para o modelo exponencial e  $t$  o tempo necessário para a ocorrência da intensidade  $y$  de doença (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004; CAMPBELL & MADDEN, 1990). De acordo com Bergamin (1995), as expressões utilizadas nos modelos facilitam a análise dos dados de progresso da doença, principalmente de dados obtidos de experimentos onde níveis de resistência são testados.

A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) é outra variável que pode ser empregada para comparar tratamentos e tem por propósito sumarizar a curva

de progresso da doença (CAMPBELL & MADDEN, 1990). É empregada, principalmente, quando os dados observados não se ajustam a modelos ou mesmo como variável discriminatória de tratamentos (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004).

A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) é simplesmente a integral de  $y$  (intensidade da doença) entre dois tempos, sendo obtida utilizando o ponto médio ou o chamado método de integração trapezoidal. A curva de progresso da doença é dividida em uma série de retângulos e a área de cada retângulo é somada, para obter a área total abaixo da curva. Variações no tempo, taxa de progresso ( $r$ ) e severidade final ( $y_f$ ) da doença são incorporadas na AACPD (CAMPBELL & MADDEN, 1990).

De acordo com Campbell & Madden (1990), a acurácia da AACPD vai depender do tamanho do intervalo entre as avaliações da doença; menores intervalos entre avaliações determinam a maior acurácia da AACPD.

## **2.6. Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa**

Bancos de germoplasma são unidades conservadoras de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuro (VEIGA, 2007). Em outras palavras, bancos de germoplasma são bancos de alelos, que são as formas alternativas dos genes e que caracterizam a existência de diversidade genética (SOUZA *et al.*, 1999).

A principal finalidade de manter ou preservar um banco de germoplasma é proteger a variabilidade, evitando a erosão genética (BUENO *et al.*, 2001). Com o crescente aumento da erosão dos recursos genéticos vegetais, a preocupação principal, por parte dos melhoristas, é com a diminuição ou perda da variabilidade genética das espécies cultivadas e seus parentes silvestres, gerando o estreitamento da base genética (HALLAUER & MIRANDA, 1988). Segundo a EMBRAPA, a função pública de um sistema de bancos de germoplasma deve ser a de conservar a diversidade genética da natureza para a agricultura.

Em 1966, a Universidade Federal de Viçosa, com o apoio da Fundação Rockefeller, criou o Banco de Germoplasma de Hortaliças (BGH – UFV). O BGH – UFV tem a função de resgatar espécies nativas ou introduzidas, preservar, documentar e manter intercâmbio de germoplasma de outras regiões do globo (SILVA *et al.*, 2001). Os recursos armazenados mediante coleta ou doação são caracterizados, avaliados e colocados à disposição da comunidade científica, disponibilizando informações sobre os acessos via rede internacional de computadores, através do site [www.ufv.br/bgh](http://www.ufv.br/bgh).

O BGH – UFV possui mais de 7000 acessos de hortaliças, sendo a maioria do germoplasma registrado espécies de importância econômica e social. São 25 famílias e 106 espécies, sendo a família *Solanaceae* a de maior representação, com 44,21% (SILVA et al., 2001). Entre os acessos da família *Solanaceae*, 826 pertencem a *Solanum lycopersicon* L., sendo, portanto, de interesse para programas de melhoramento genético do tomateiro.

Vários autores (TANKSLEY, 2004; LABORY *et al.*, 1999; VALLOIS *et al.*, 1996; MELO, 1989; HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988; STEVENS & RICK, 1986) enfatizam a restrita variabilidade genética do tomateiro cultivado, o que explica sua suscetibilidade às várias doenças e pragas, sugerindo a utilização, em programas de melhoramento, de genitores que possam contribuir para a ampliação da base genética dessa cultura, com genes de resistência ou tolerância às doenças, pragas, qualidade nutricional, entre outros, podendo selecionar tais genitores a partir de cultivares antigos da espécie cultivada ou mesmo de espécies silvestres pertencentes ao mesmo gênero.

O melhoramento de plantas é um processo contínuo, sendo, muitas vezes, necessário recorrer a variedades antigas ou a populações primitivas em busca de genes específicos (BUENO *et al.*, 2001). Os recursos genéticos armazenados no Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa são considerados estratégicos, pois representam parte considerável da diversidade genética das hortaliças cultivadas no País.

Quando se pensa em contribuição genética de germoplasma a partir de um banco deve-se pensar na possibilidade de obtenção de genes de interesse, os quais podem estar relacionados à resistência a doenças, pragas, adaptação a ambientes limitantes para o desenvolvimento das culturas, etc. A existência de variabilidade genética é importante para a continuidade das espécies e, também, para que, através do melhoramento genético, sejam obtidas novas combinações de maior interesse para o homem. Deve-se considerar, ainda, que as necessidades humanas variam com o tempo, de modo que a demanda futura para características específicas pode ser diferente das atuais (SOUZA *et al.*, 1999).

A preservação dos recursos genéticos é hoje considerada uma das questões mais importantes para a sobrevivência da humanidade.

## 2.7. O Método Descendente de Uma Única Semente (SSD)

O método descendente de uma única semente é uma modificação do método da população, massal ou “Bulk” e, no Brasil, é comumente conhecido como SSD (do inglês, “single seed descent”). Segundo Borém (1997), a primeira referência ao princípio deste método data de 1939, quando Goulden propôs a maximização do número de linhagens em homozigose descendentes de diferentes indivíduos da geração  $F_2$ .

Embora os princípios deste método tenham sido relatados na literatura por Goulden (1939), o desenvolvimento do SSD é freqüentemente creditado a Brim (1966) e, segundo esse autor, o método consiste em avançar as gerações segregantes até um nível satisfatório de homozigose, tomando uma única semente de cada indivíduo de uma geração para estabelecer a geração subsequente.

No Brasil, dentre as espécies autógamas, o feijão e a soja tem sido melhoradas com a utilização do método SSD (RAPOSO, 1999; SEDIYAMA *et al.*, 1999).

O método clássico consiste em colher aleatoriamente uma semente  $F_3$  de cada indivíduo da população  $F_2$  e agrupá-la para constituir a geração  $F_3$ . As sementes  $F_3$  agrupadas são plantadas e uma semente  $F_4$  de cada indivíduo  $F_3$  é colhida na época da maturação. Este procedimento é repetido até a geração  $F_5$ , na qual se selecionam plantas individuais, que são submetidas ao teste de progênies. As progênies  $F_{5,6}$  que se mostrarem uniformes e superiores são colhidas individualmente em “Bulk” e avaliadas no ensaio preliminar de avaliação de linhagens (EPL). A partir desta etapa, os procedimentos são comuns aos outros métodos de melhoramento, envolvendo as avaliações intermediárias, finais e regionais das linhagens (BORÉM & MIRANDA, 2005).

No tomateiro, após o cruzamento entre os genitores, são plantadas em torno de dez plantas da geração  $F_1$ , visando à colheita de sementes  $F_2$ . A partir da geração  $F_2$ , coleta-se aleatoriamente uma semente de cada planta (400 a 500 plantas). Essas sementes são agrupadas para a formação da geração  $F_3$ , mantendo-se aproximadamente o mesmo número de plantas da geração  $F_2$ . Da população  $F_3$ , é colhida aleatoriamente uma semente de cada planta para a formação da população  $F_4$  e assim sucessivamente, até que se atinja um nível satisfatório de homozigosidade ( $F_6$  ou  $F_7$ ). Todo esse processo de avanço de gerações, sem seleção, poderá ser feito fora do ambiente para o qual está se desenvolvendo a cultivar. Após esta etapa, as linhagens serão avaliadas por meio de testes de progênies nas respectivas regiões de produção. Posteriormente, realizam-se os

procedimentos comuns aos métodos de melhoramento, envolvendo avaliações finais dos genótipos selecionados (GIORDANO *et al.* 2003).

Como a seleção só é realizada quando se atinge a homozigose, as combinações inferiores não são descartadas durante as gerações iniciais. O SSD é útil principalmente quando o melhorista está interessado em acelerar o processo de endogamia antes de iniciar a avaliação das linhagens e cujo caráter sob análise possui baixa herdabilidade. Quando a herdabilidade é alta, a seleção nas gerações iniciais de autofecundação é eficaz, porém quando essa é baixa, a seleção deve ser praticada apenas nas gerações mais avançadas, pois com o aumento da homozigose haverá fixação dos alelos favoráveis e incremento na herdabilidade restrita (RAMALHO *et al.*, 2001).

## 2.8. Dialelos

Uma das etapas de maior importância dentro de um programa de melhoramento é a seleção de progenitores (BORÉM & MIRANDA, 2005). Nas espécies vegetais existem inúmeras linhagens e cultivares que podem participar dos programas de hibridação para a obtenção de populações segregantes, fazendo-se necessária a utilização de critérios de escolha. A identificação de metodologias eficientes para essa escolha tem recebido grande atenção dos pesquisadores (CHARCOSSET *et al.*, 1998). Entre as metodologias disponíveis, os cruzamentos dialélicos têm sido os mais amplamente utilizados em quase todas as espécies cultivadas.

O termo dialelo tem sido utilizado para expressar um conjunto de  $p(p - 1)/2$  híbridos resultantes do acasalamento entre  $p$  progenitores (linhagens, variedades, clones, etc.), podendo incluir, além dos respectivos pais, os híbridos recíprocos e/ou outras gerações relacionadas, tais como  $F_2$ 's, retrocruzamentos, etc. (CRUZ *et al.*, 2004).

O principal objetivo dos dialelos é auxiliar o melhorista no desenvolvimento de genótipos de base genética ampla.

Os cruzamentos dialélicos são muito utilizados em programas de melhoramento, por fornecerem informações sobre o tipo de ação gênica predominante e avaliarem a heterose e as capacidades geral e específica de combinação, além de auxiliar o melhorista na escolha da melhor estratégia de melhoramento (OLIVEIRA, 2005). Nesse contexto auxilia o melhorista na escolha de progenitores com base nos seus valores genéticos e, principalmente, considerando a sua capacidade de se combinarem em híbridos promissores (RAMALHO *et al.*, 1993; CRUZ & REGAZZI, 1997).

O termo capacidade combinatória refere-se ao comportamento de linhagens ou cultivares quando utilizadas em combinações híbridas, em um ou vários sentidos entre si, associando-se com esse conceito o efeito transgressivo dos genótipos e a resposta heterótica dos mesmos (SPRAGUE & TATUM, 1942).

Os cruzamentos dialélicos permitem ao melhorista conhecer o potencial genético das populações per se e em cruzamentos, o que é de grande auxílio na escolha de populações e métodos de melhoramento inter e intrapopulacional a serem utilizados (OLIVEIRA, 2005). A capacidade geral de combinação (CGC) corresponde ao desempenho médio de um genitor em uma série de combinações híbridas e está associada à presença de efeitos aditivos dos alelos e às associações epistáticas do tipo aditiva. A capacidade específica de combinação (CEC) representa o desvio apresentado por um cruzamento em particular, para melhor ou para pior, em relação ao esperado com base na média das CGC de seus parentais e está associada aos efeitos de dominância e epistasia envolvendo dominância (CRUZ & VENCOSKY, 1989; SPRAGUE & TATUM, 1942). Utilizando essas estimativas são escolhidos os melhores genitores e os melhores híbridos a serem utilizados nos programas de melhoramento (CRUZ & REGAZZI, 2001).

Entre os vários tipos de dialelos, os dialelos completos (balanceados) inclui todos os híbridos  $F_1$ 's entre todos os pares de combinações dos progenitores, podendo-se empregar nas análises somente os híbridos  $F_1$ 's, ou os híbridos  $F_1$ 's mais os progenitores, ou os híbridos  $F_1$ 's mais os híbridos recíprocos, ou os progenitores mais os híbridos  $F_1$ 's e os híbridos recíprocos. Entretanto, há grande limitação com relação à utilização desses tipos de dialelos, pois à medida que se aumenta o número de progenitores aumenta o número de combinações híbridas a serem realizadas e avaliadas.

Uma alternativa é a utilização de dialelos parciais, os quais envolvem a avaliação de progenitores dispostos em dois grupos, pertencentes ou não a um conjunto comum, sendo as inferências feitas para cada grupo (CRUZ *et al.*, 2004). Nesse tipo de dialelo os cruzamentos são realizados entre os dois grupos de genitores, mas não dentro do mesmo grupo, diminuindo o número de cruzamentos para cada genitor, em relação aos dialelos completos (GUIMARÃES, 2004).

Segundo Nascimento (2005) os cruzamentos dialélicos, principalmente os dialelos parciais, baseiam-se na complementação de combinações gênicas de genitores divergentes pertencentes a diferentes grupos para os mais variados caracteres.

Pinheiro (1993) afirma que o método do topo cruzamento ("top cross") pode ser considerado como dialelo parcial. No plano de cruzamento desse método consideram-se

(L) linhagens e (T) testadores para produzir L x T progênies de irmãos completos. Essas progênies, junto ou não dos parentais, são avaliadas em um delineamento adequado com repetições. Dessa forma, a primeira avaliação das linhagens é realizada em “top-crosses”, por meio de cruzamentos com testadores. Testadores são cultivares ou populações com as quais as linhagens ou famílias sob seleção são cruzadas, para avaliação do potencial agronômico, sendo que os produtos desses cruzamentos são denominados “híbridos top-crosses”, ou o próprio experimento de avaliação é conhecido como ensaio top-cross (DAVIS, 1927, citado por GUIMARÃES, 2004).

A análise dialélica obtém estimativas de parâmetros úteis na seleção de progenitores para a hibridação e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres. A análise proposta por Griffing (1956) estima os efeitos e as somas de quadrados associadas à capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação enquanto o modelo apresentado por Gardner e Eberhart (1966), os efeitos de variedades e heterose varietal. Há ainda a metodologia proposta por Hayman (1954), a qual provê informações sobre o mecanismo básico da herança do caráter em estudo, além dos valores genéticos dos progenitores utilizados e do limite de seleção (CRUZ *et al.*, 2004).

Em dialelos parciais, a análise de  $F_1$ 's ou de  $F_1$ 's e progenitores são as mais comuns, utilizando-se adaptações do modelo de Griffing (1956) ou de Gardner e Eberhart (1966) para estimar parâmetros genéticos, dependendo da informação desejada, possibilitando a maximização de informações sobre os grupos estudados (CRUZ *et al.*, 2004; CRUZ & REGAZZI, 2001).

No melhoramento de hortaliças, os cruzamentos dialélicos têm sido utilizados em diversas culturas, com o intuito de incrementar informações sobre diversos caracteres qualitativos e quantitativos de interesse.

## **2.9. Pré-Melhoramento**

Pré-melhoramento (pre-breeding) é um conjunto de atividades que visam a identificação de caracteres e/ou genes de interesse presentes em materiais não adaptados (exóticos ou semi-exóticos) ou que ainda não foram submetidos a qualquer processo de melhoramento, para sua posterior incorporação nos materiais adaptados de elevado potencial produtivo (elites) (NASS & NISHIKAWA, 2001). De acordo com Hallauer & Miranda Filho (1988), materiais exóticos incluem qualquer germoplasma que não tenha

utilidade imediata sem que haja seleção para adaptação em uma dada área e materiais semi-exóticos são os resultados de cruzamentos entre materiais adaptados e exóticos, onde diferentes proporções de introgressão são obtidas e avaliadas. A utilização de populações semi-exóticas tem sido o procedimento mais comum para avaliar germoplasmas exóticos (HALLAUER, 1978).

O tomateiro é a planta cultivada que mais se beneficiou dos genes existentes nos parentes silvestres, ressaltando que sem eles o tomate moderno não existiria. Entre os parentes silvestres de *Solanum lycopersicum* L. destaca-se *S. habrochaites*, considerado como fonte de resistência a insetos, ácaros, vírus e outras doenças, além de ser tolerante a baixas temperaturas. A conservação e o uso dos parentes silvestres para o melhoramento do tomateiro evidenciam a importância desses recursos genéticos vegetais e servem de modelo para outras culturas (HOYT, 1992).

Várias são as alternativas para incorporar novas características nos materiais adaptados, sendo que a escolha da metodologia a ser empregada depende da natureza genética do caráter, do número de genes envolvidos, da herdabilidade do caráter, das interações com o ambiente, da facilidade de realização de cruzamentos e de técnicas ou protocolos disponíveis caso a biotecnologia seja empregada (NASS & NISHIKAWA, 2001).

## **CAPÍTULO 2**

### **IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS DE TOMATEIRO RESISTENTES À REQUEIMA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEUS FRUTOS**

## RESUMO

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2008. **Identificação de linhagens de tomateiro resistentes à requeima e avaliação da qualidade de seus frutos.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Co-orientadores: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva e Glauco Vieira Miranda.

A mela ou requeima do tomateiro, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, é doença severa, principalmente quando a temperatura está amena (entre 15 a 20 °C) e a umidade relativa acima de 85%, condições climáticas essas favoráveis ao desenvolvimento do patógeno. A principal forma de controle da doença é através da aplicação de fungicidas, onerando o custo de produção da cultura e causando riscos ao meio ambiente e a saúde humana, principalmente dos agricultores. O uso de cultivares resistentes é o método mais indicado para o controle da requeima, além de ser um dos fatores chave para facilitar o cultivo orgânico do tomateiro. O presente trabalho teve por objetivos identificar linhagens de tomateiro resistentes à requeima e avaliar a qualidade de seus frutos. Linhagens F<sub>8</sub>, originadas de cruzamento interespecífico entre *S. lycopersicum* ('Santa Clara') e *S. habrochaites* f. *glabratum* (acesso BGH 6902), foram avaliadas quanto à resistência à requeima em dois experimentos conduzidos em campo no delineamento em blocos casualizados. Foram avaliados 72 genótipos (70 linhagens mais os acessos do BGH-UFV '184' e '1497'). As plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de *P. infestans*, na concentração de 10<sup>3</sup> esporângios.mL<sup>-1</sup>, oriundos dos municípios mineiros de Cajuri, Ervália, Ponte Nova e Viçosa. A característica avaliada foi % de severidade da doença, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Foram selecionadas, nos dois experimentos, 10 linhagens mais o acesso de tomateiro do BGH-UFV '1497'. As linhagens identificadas como 50 I, 90 J, 127 F, 145 B e 164 G apresentaram valores

médios de AACPD inferiores ao da testemunha resistente e o acesso de tomateiro BGH 1497 média de AACPD igual a da testemunha resistente. Os dois experimentos permaneceram em campo até que cada linhagem selecionada e o acesso BGH 1497 produzisse frutos suficientes para as avaliações de qualidade (teor de sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e ‘Sabor’). Para todos os genótipos avaliados foram observados para pH e sólidos solúveis totais valores inferiores a 4,4 e superiores a 4,0 °Brix, respectivamente, sendo as linhagens 64 B, 73 D, 127 F, 133 A, 163 A e o acesso BGH 1497 considerados de elevada qualidade. Foi possível selecionar genótipos de tomateiro superiores quanto à resistência à requeima e qualidade de frutos.

## ABSTRACT

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march of 2008. **Identification of tomato lineages resistant to late blight and evaluation of the quality of their fruit.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-advisers: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva and Glauco Vieira Miranda.

The late blight, caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, is a severe disease, mainly in mild temperatures (between 15 and 20 °C), and relative humidity above 85%, suitable climate conditions for the developing of pathogen. The main form of control of the disease is among fungicide spraying, burdening the production cost of the crop and causing risks for the environment and human health, mainly for agriculturist. The employment of resistant cultivars is the most indicated method to control the late blight, besides being one of the key factors to facilitate the tilling of organic tomato. This paper objectified to identify tomato lineages resistant to late blight and evaluate the quality of their fruit. Lineages F8, derived by interspecific crossing between *S. lycopersicum* ('Santa Clara') and *S. habrochaites* f. *glabratum* (access BGH 6902), considering the resistance of late blight in two experiments conducted in field in the randomized blocks design. An amount of 72 genotypes (70 lineages plus the access of BGH-UFV '184' and '1497') were evaluated. The plants were inoculated with a sporangium blend of *P. infestans*, in concentration of  $10^3$  sporangium.mL<sup>-1</sup>, from the cities of Cajuri, Ervália, Ponte Nova and Viçosa, state of Minas Gerais. The evaluated characteristic was the percentage of disease severity, presented as an area under the disease progress curve (AUDPC). In both experiments 10 lineages plus the access of tomato of BGH-UFV '1497' were selected. The lineages identified 50 I, 90 J, 127 F, 145 B and 164 presented medium values of AUDPC, inferior to the resistance

testimony, and the access of tomato BGH 1497 average of AUDPC equal to the resistant testimony. Both experiments were kept in field until each selected lineage and the access BGH 1497 produced sufficient amount of fruit to evaluate the quality (total soluble solid contents, pH, titratable acidity and flavor). For all evaluated genotypes for pH and total soluble solids values inferior to 4,4 and superior to 4,0 °Brix, respectively being the lineages 64 B, 73 D, 127 F, 133 A, 163 A and the access BGH 1497 considered of high quality were observed. It was possible to select genotypes of superior tomatoes considering the late blight and quality of fruit.

## 1. INTRODUÇÃO

A mela ou requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, é considerada uma das doenças mais destrutivas para as culturas de batata e tomate, ocorrendo praticamente em todas as regiões do mundo onde se cultivam essas culturas. A doença é muito dependente das condições climáticas e sua importância está ligada à ocorrência simultânea de temperaturas amenas (entre 15 a 20 °C) e umidade relativa superior a 85%, oriunda de irrigação, cerração, chuva, orvalho, etc (VALE *et al.*, 2007; MIZUBUTI, 2005; VALE *et al.*, 2004; LOPES *et al.*, 2003; MIZUBUTI, 2001, KUROZAWA & PAVAN, 1997).

Devido à fácil disseminação e rápida colonização dos tecidos, a requeima pode levar a planta à desfolha completa em poucos dias (VALE *et al.*, 2007). Dependendo das condições climáticas e se medidas de controle não forem corretamente adotadas, pode ocorrer perda total da produção (COSTA *et al.*, 2007; VALE *et al.*, 2007; MIZUBUTI, 2005; MIZUBUTI, 2001).

O manejo da requeima na cultura do tomateiro é feito exclusivamente pelo princípio de proteção do hospedeiro, através da aplicação de fungicidas de caráter preventivo e/ou curativo, totalizando de 15 a 25 aplicações de fungicidas por safra (COSTA *et al.*, 2007). Estimativas de economistas do Centro Internacional de La Papa, no Peru, indicaram gastos mundiais de cerca de um bilhão de dólares ao ano para o controle da requeima (MIZUBUTI, 2005).

Reis (2001) e Reis *et al.* (2006), em trabalhos realizados nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (Estado de Goiás e Distrito Federal) do Brasil verificaram que as populações de *Phytophthora infestans* presentes nessas regiões apresentaram altas porcentagens de isolados resistentes e moderadamente resistentes ao metalaxyl (Ridomil

2E) e mefenoxam (metalaxyl-m), importantes fungicidas que atuam no controle da requeima, principalmente quando as condições estão amplamente favoráveis à doença.

Não existem variedades e híbridos de tomateiro cultivados resistentes à requeima (COSTA *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2006; MIZUBUTI, 2005; KUROSZAWA & PAVAN, 1997), devido às dificuldades encontradas nos programas de melhoramento, tais como a herança da resistência à requeima ser do tipo poligênica, o patógeno apresentar fácil capacidade de mutação e ainda ser difícil identificar fontes de resistência genética (ABREU, 2005).

Reis (2001) verificou a existência de vários patótipos de *Phytophthora infestans* nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil, concluindo que os programas de melhoramento genético do tomateiro devem buscar a incorporação de resistência horizontal (duradoura) à requeima, além de outras doenças importantes da parte aérea, contribuindo para a diminuição do consumo de fungicidas, através da diminuição do número de pulverizações e/ou aumento dos intervalos entre estas.

Não há genótipos com boas características agronômicas e comerciais que apresentem nível satisfatório de resistência à requeima (MIZUBUTI, 2005). Geralmente, a resistência a diversos patógenos é encontrada em espécies silvestres (LATERROT, 2000). Durante anos, a espécie silvestre *Solanum pimpinellifolium* foi alvo de vários estudos e nela foram encontrados os genes de resistência à requeima *Ph<sub>1</sub>*, *Ph<sub>2</sub>* e *Ph<sub>3</sub>*. Quanto aos genes *Ph<sub>1</sub>* e *Ph<sub>2</sub>*, sabe-se que a resistência às raças de *Phytophthora infestans* não é defesa suficiente quando as condições são amplamente favoráveis ao patógeno (GIORDANO *et al.*, 2003; REIS, 2001; MALUF, 2000).

Borges *et al.* (2005), visando obter novas fontes de resistência à requeima, avaliaram 176 genótipos de tomateiro provenientes do Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa, verificando que apenas o acesso BGH 6902 (*Solanum habrochaites* f. *glabratum*) apresentou resistência à requeima, o qual poderá constituir em nova fonte de resistência em trabalhos de melhoramento genético do tomateiro.

O uso de cultivares resistentes para controle de doenças é a estratégia mais eficaz e econômica, impedindo ou dificultando o estabelecimento de doenças na lavoura. Nos dias atuais, além do aspecto econômico, o apelo mais expressivo para o uso de cultivares resistentes está relacionado à menor contaminação dos aplicadores de defensivos agrícolas, do solo e dos mananciais hídricos e à redução dos efeitos residuais nos alimentos, implicando diretamente em maior economia e segurança (NOJOSA *et al.*, 2004), além de possibilitar o cultivo orgânico do tomateiro.

Torna-se importante o desenvolvimento de cultivares de tomateiro resistentes à requeima, diminuindo não só os custos de produção da cultura, mas também os impactos ambientais e de risco a saúde humana causados pela aplicação indiscriminada de fungicidas. O presente trabalho teve por objetivos identificar linhagens de tomateiro resistentes à requeima e avaliar a qualidade de seus frutos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local de Condução dos Experimentos**

Os experimentos foram conduzidos na Horta de Pesquisa da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG. O município de Viçosa está localizado na Região da Zona da Mata de Minas Gerais, a latitude 20° 45' 14'' S, longitude 42° 52' 53'' W e altitude de 648, 74 m. Segundo a classificação de Koppen, o clima regional é do tipo Cwa, com umidade relativa média anual do ar de 80%, temperaturas médias máxima e mínima anual registradas de 26,4 e 14,8 °C, respectivamente, e precipitação média anual de 1221,4 mm.

### **2.2. Metodologia para Extração, Secagem e Armazenamento das Sementes de Tomate**

A extração, secagem e armazenamento das sementes de tomate foram feitas manualmente.

Frutos maduros foram cortados ao meio e suas sementes retiradas com o auxílio de uma faca. A seguir, as sementes foram submetidas à fermentação natural para a remoção da mucilagem, de acordo com Giordano *et al.* (2003), sendo colocadas dentro de copos plásticos descartáveis por um período de 24 a 48 horas, de acordo com a temperatura do ambiente.

Após a fermentação, foram lavadas em água corrente. Esta operação foi repetida várias vezes, até que a mucilagem fosse completamente removida.

Após a lavagem e remoção da mucilagem, as sementes foram colocadas sobre folhas de papel jornal previamente identificadas, para remoção do excesso de umidade. Após estarem secas, as sementes provenientes de cada linhagem foram embaladas em sacos de papel devidamente identificados e armazenadas em ambiente adequado ou utilizadas imediatamente.

### **2.3. Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans***

Com o intuito de não selecionar fonte de resistência específica e procurando minimizar os efeitos de genes de resistência vertical, ou seja, de efeito maior, foi utilizado como inóculo uma mistura de esporângios proveniente de diferentes isolados de *P. infestans*, patogênicos ao tomateiro, coletados em diferentes municípios da Região da Zona da Mata de Minas Gerais. Nos locais de coleta (campos de produção de tomate), foram retirados das plantas apenas os folíolos infectados por *P. infestans*, sendo esses colocados dentro de sacos de papel de 1,0 Kg previamente identificados com o nome do município em que foram coletados e armazenados em caixas de isopor à temperatura de 18 °C.

O inóculo foi multiplicado no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os folíolos infectados foram retirados dos sacos de papel e transferidos para bandejas plásticas previamente identificadas, desinfestadas com álcool 70% e forradas com papel toalha umedecido com água destilada. Cada bandeja foi coberta com plástico e mantida em câmara de crescimento a 18 °C por 24 horas, de modo a criar o microclima favorável ao desenvolvimento do patógeno e promover maior esporulação.

Após 24 horas, para cada isolado, foi preparada uma suspensão de esporângios. As partes infectadas dos folíolos em que se observava esporulação do patógeno foram retiradas com o auxílio de uma tesoura e colocadas em um Becker contendo água destilada, previamente identificado de acordo com o local de coleta, sendo levadas para um agitador por 5 minutos, para liberação dos esporângios. Com o auxílio de uma gaze, cada suspensão de esporângios foi separada dos folíolos, homogeneizada, pipetada e colocada em um hemacitômetro, procedendo-se à contagem do número de esporângios em um microscópio óptico. Logo após, ajustou-se a concentração do hemacitômetro para  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, através da fórmula  $C_i V_i = C_f V_f$ , onde  $C_i$  = concentração inicial;  $V_i$  = volume inicial;  $C_f$  = concentração final;  $V_f$  = volume final.

Nas inoculações foram utilizadas suspensões de volumes iguais para cada isolado, os quais constituíram a mistura de esporângios. Após a contagem do número de esporângios, a suspensão foi levada à geladeira por 01 hora, para que houvesse liberação de zoósporos. A inoculação foi feita às 21:00 horas, com o auxílio de um pulverizador costal manual, pulverizando 20 mL da suspensão de esporângios em cada planta. O tempo decorrido entre o preparo da suspensão de esporângios e a inoculação não excedeu duas horas, para que os zoósporos não se tornassem inviáveis (ABREU, 2005).

#### **2.4. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima**

Três dias após a inoculação foram feitas as avaliações de severidade da doença. Realizaram-se seis avaliações, de três em três dias.

Para as avaliações de severidade à requeima, os avaliadores foram submetidos a um treinamento mediante o uso do programa Severity PRO (NUTTER, 1997), visando corrigir distorções inerentes à estimativa visual de severidade da doença.

No campo, os avaliadores deram notas para cada folha de cada planta, estimando-se a porcentagem de tecido vegetal afetado pela doença, ou seja, a porcentagem de severidade da doença. A nota final de cada planta foi constituída pela média das notas de suas folhas.

#### **2.5. Metodologia para Avaliação de Características de Qualidade de Frutos**

Foram avaliadas as seguintes características de qualidade de frutos: teor de sólidos solúveis totais (expresso em °Brix), acidez total (pH), acidez titulável (expressa em % de ácido cítrico) e 'sabor'.

Para as avaliações do teor de sólidos solúveis totais, acidez total (pH) e acidez titulável os frutos de cada genótipo foram previamente triturados em um multiprocessador marca ARNO. O teor de sólidos solúveis totais foi obtido por refratometria, utilizando um refratômetro digital portátil marca QUIMIS Aparelhos Científicos Ltda. e a acidez total (pH) obtida com a ajuda de um medidor de pH de bancada, portátil, marca MS TECNOPON Instrumentação Científica. Determinou-se a acidez titulável por titulometria com solução 0,01 mol.L<sup>-1</sup> de NaOH, previamente

padronizada com biftalato de potássio, retirando-se 5,0 g de massa da polpa triturada, transferindo-a para um balão volumétrico e completando o volume para 100 mL de água destilada. Após, foram pipetadas 10 mL dessa solução, colocando-a em um erlenmeyer e adicionando três gotas de fenolftaleína 1% e procedendo-se a titulação, sob agitação.

O ‘sabor’ foi obtido pela relação sólidos solúveis totais/acidez titulável, conforme descrito por Kader *et al.* (1978).

## 2.6. Condução dos Experimentos

Realizou-se o avanço das gerações F<sub>6</sub> e F<sub>7</sub> de linhagens de tomateiro selecionadas para resistência à requeima e, posteriormente, na geração F<sub>8</sub>, nova seleção para resistência.

### 2.6.1. Genótipos Utilizados

Foram utilizados os seguintes genótipos:

- a) Cultivar Santa Clara (*Solanum lycopersicum* L.): pertencente ao grupo de tomate Santa Cruz. Produz frutos oblongos bi ou triloculares para consumo *in natura*, cuja massa fresca média é de 130 gramas/fruto. Apresenta crescimento indeterminado, sendo suscetível a *Phytophthora infestans* e resistente a *Fusarium* (raça 1), *Verticillium* e *Stemphylium solani*. Comercializado pela Hortec (Figuras 3 e 4);
- b) Acesso BGH 6902 (*Solanum habrochaites* f. *glabratum*): pertencente ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sendo, em testes preliminares, considerado por Borges *et al.* (2005), resistente à requeima. Produz frutos pequenos de coloração esverdeada que, quando maduros, além de possuírem sabor e odor desagradáveis, não possuem características de interesse para comercialização (Figuras 5 e 6).
- c) Acesso BGH 184 (*Solanum lycopersicum* L.): pertencente ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa (UFV); foi coletado em 1966 em Vitória de Santo Antão, no Estado de Pernambuco. Produz frutos predominantemente arredondados,

pequenos, biloculares, de cor vermelha, cuja massa fresca média é de 45,94 gramas/fruto. Sua produção é de 2,969 Kg/planta e seu teor de sólidos solúveis de 3,13 °Brix (Figura 7). Entre diversos acessos do BGH/UFV, avaliados por Ribeiro *et al.* (2006), se destacou por possuir bom nível de resistência à requeima;

- d) Acesso BGH 1497 (*Solanum lycopersicum* L.): pertencente ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa (UFV); foi coletado em 1967, pela extinta Cooperativa Agrícola de Cotia (CAC), no Estado de São Paulo. Produz frutos do tipo Santa Cruz, arredondados, ligeiramente achatados, de coloração vermelha, cuja massa fresca média é de 42,24 gramas/fruto. Sua produção é de 2,631 Kg/planta e seu teor de sólidos solúveis de 5,40 °Brix. Entre diversos acessos do BGH/UFV, avaliados por Ribeiro *et al.* (2006), se destacou por possuir bom nível de resistência à requeima;
- e) Linhagens F<sub>6</sub>, oriundas do programa de melhoramento genético do tomateiro para resistência à requeima, do Prof. Derly José Henriques da Silva da Universidade Federal de Viçosa (UFV), provenientes do cruzamento entre *Solanum lycopersicum* L. cv. Santa Clara e *Solanum habrochaites* f. *glabratum*, as quais foram selecionadas em F<sub>5</sub>, por Abreu (2005), para resistência à requeima, conforme Figura 9;

#### **2.6.2. Avanço das Gerações F<sub>6</sub> e F<sub>7</sub> de Linhagens Selecionadas para Resistência à Requeima**

O avanço das gerações F<sub>6</sub> e F<sub>7</sub> de cada linhagem selecionada para resistência à requeima foi realizado em campo, através do método SSD (Single Seed Descent), durante o período de Julho de 2005 a dezembro de 2006.

Foram tomadas ao acaso sementes de cada linhagem F<sub>6</sub>. As sementes foram semeadas em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se cinco sementes por célula e procedendo-se ao desbaste após a germinação. Quando as plântulas estavam com quatro folhas definitivas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo substrato comercial para hortaliças, sendo mantidas em casa de vegetação até o momento do transplantio.

O transplântio para o campo ocorreu quando as mudas estavam com sete a oito folhas definitivas. Foram transplantadas duas mudas de cada linhagem  $F_6$ , no espaçamento de 1,00 x 0,50 m, sendo identificadas individualmente e conduzidas até o florescimento e obtenção de frutos maduros contendo sementes  $F_{6,7}$ . Foram transplantadas duas mudas de cada linhagem  $F_6$  apenas para garantir a produção de frutos de cada linhagem, sendo colhidos os frutos de apenas uma planta, eliminando-se a outra.

Foram colhidos frutos maduros de cada linhagem  $F_6$ , sendo as sementes  $F_{6,7}$  extraídas, fermentadas, lavadas, secadas e armazenadas em sacos de papel identificados externamente, caracterizando cada linhagem  $F_7$ , conforme Metodologia de Extração, Secagem e Armazenamento de Sementes (item 2.2).

Para a obtenção das sementes da geração  $F_8$ , a partir das sementes  $F_7$ , foram executados os mesmos procedimentos anteriormente descritos para a obtenção de sementes  $F_7$ , a partir de sementes  $F_6$ .

### **2.6.3. Avaliações para Resistência à Requeima em Linhagens $F_8$ e Dois Acessos de Tomateiro do BGH – UFV e Qualidade de Frutos dos Genótipos Seleccionados**

Após o avanço das gerações  $F_6$  e  $F_7$ , foi realizado na geração  $F_8$  a avaliação para resistência à requeima.

Devido à desuniformidade de germinação, crescimento e desenvolvimento das linhagens  $F_8$ , foram realizados dois experimentos em campo. Segundo Abreu (2005), por ser cruzamento interespecífico, há muita ocorrência de falhas na germinação de sementes e não florescimento de algumas plantas, além de produção de sementes inviáveis.

No primeiro experimento foram avaliadas vinte e três linhagens  $F_8$ , juntamente com os acessos de tomateiro BGH 184 e BGH 1497. A cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902 foram utilizados como testemunhas suscetível e resistente, respectivamente.

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. Quando as plântulas estavam com quatro folhas definitivas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo substrato comercial para hortaliças, sendo mantidas em casa de vegetação até o momento do

transplântio para o campo. O transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 06/09/2006, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários, sendo os tratamentos fitossanitários interrompidos dez dias antes da inoculação e durante as avaliações para resistência à requeima. Deixou-se apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Para avaliação da resistência à requeima, no dia 09/10/2006 as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de 5 isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomateiro, oriundos dos municípios de Cajuri, Ervália, Ponte Nova e Viçosa (Zona Rural e Horta de Pesquisa da UFV – Horta Velha), conforme Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans* (item 2.3). Após a inoculação, no dia 10/10/2006 as plantas passaram a ser irrigadas por aspersão, para garantir alta umidade ao ambiente. Com o intuito de garantir a penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, o sistema de irrigação por aspersão foi ligado às 10:00h, e, a partir daí, foi programado para ser ligado de uma em uma hora, durante 10 minutos. A irrigação por aspersão foi realizada entre os dias 10/10/2006 a 27/10/2006.

As avaliações tiveram início e término nos dias 12/10/2006 e 27/10/2006, respectivamente, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.4).

Entre os dias 09/10/2006 e 27/10/2006, o município de Viçosa/MG apresentou temperaturas médias máxima e mínima de 25,7 e 17,2 °C, respectivamente, umidade relativa média de 81% e precipitação de 146,2 mm.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 3 repetições e 5 plantas/parcela. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2001). Os dados analisados foram os valores médios de porcentagem de severidade da doença, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.4), apresentados sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), como descrito por Campbell & Madden (1990).

A seleção para resistência à requeima foi feita no sentido negativo, ou seja, quanto menor a AACPD maior o grau de resistência do indivíduo.

Após a seleção entre famílias, realizou-se a seleção visual das linhagens consideradas resistentes, objetivando selecionar plantas com maior proximidade a *S. lycopersicum*. Foram selecionadas cinco linhagens F<sub>8</sub> e o acesso de tomateiro BGH

1497, os quais foram utilizados em etapas posteriores do programa de melhoramento genético visando resistência à requeima.

O experimento de avaliação para resistência à requeima permaneceu em campo até que cada linhagem F<sub>8</sub> selecionada e o acesso BGH 1497 produzisse número de frutos suficientes para as avaliações de características de qualidade de frutos. Foram avaliados o teor de sólidos solúveis totais, a acidez total (pH), a acidez titulável e o ‘Sabor’, conforme Metodologia de Avaliação para Características de Qualidade de Frutos (item 2.5). Para as avaliações de qualidade de frutos foram coletados apenas os frutos maduros das plantas, ou seja, aqueles que se destacavam da planta mãe e que possuíam sementes de coloração negra, no caso das linhagens F<sub>8</sub>.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 3 repetições. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2001).

No segundo experimento foram avaliadas quarenta e sete linhagens F<sub>8</sub>. A cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902 foram utilizados como testemunhas suscetível e resistente, respectivamente.

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. Quando as plântulas estavam com quatro folhas definitivas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo substrato comercial para hortaliças, sendo mantidas em casa de vegetação até o momento do transplântio para o campo. O transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 27/03/2007, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratamentos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários, sendo os tratamentos fitossanitários interrompidos dez dias antes da inoculação e durante as avaliações para resistência à requeima. Deixou-se apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Para avaliação da resistência à requeima, no dia 02/05/2007 as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de 4 isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomate, oriundos dos municípios de Cajuri, Coimbra, Paula Cândido e Viçosa (Horta de Pesquisa da UFV – Horta Velha), conforme Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans* (item 2.3). Após a inoculação, no dia 03/05/2007 as plantas passaram a ser irrigadas por aspersão, para garantir alta umidade ao ambiente. Com o intuito de garantir a penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, o sistema de

irrigação por aspersão foi ligado às 10:00h, e, a partir daí, foi programado para ser ligado três vezes ao dia, às 09:00h, 14:00h e 17:00h, durante vinte minutos. A irrigação por aspersão foi realizada entre os dias 03/05/2007 a 20/05/2007.

As avaliações tiveram início e término nos dias 05/05/2007 e 20/05/2007, respectivamente, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.4).

Entre os dias 02/05/2007 e 20/05/2007, o município de Viçosa/MG apresentou temperaturas médias máxima e mínima de 26,3 e 12,2 °C, respectivamente, e umidade relativa média de 80%. Durante o período em questão, não houve chuvas no município.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições e 5 plantas/parcela. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2001). Os dados analisados foram os valores médios de porcentagem de severidade da doença, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.4), apresentados sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), como descrito por Campbell & Madden (1990).

A seleção para resistência à requeima foi feita no sentido negativo, ou seja, quanto menor a AACPD maior o grau de resistência do indivíduo.

Após a seleção entre famílias, realizou-se a seleção visual das linhagens consideradas resistentes, objetivando selecionar plantas com maior proximidade a *S. lycopersicum*. Foram selecionadas cinco linhagens F<sub>8</sub>.

O experimento de avaliação para resistência à requeima permaneceu em campo até que cada linhagem F<sub>8</sub> selecionada produzisse número de frutos suficientes para as avaliações de características de qualidade de frutos. Foram avaliados o teor de sólidos solúveis totais, a acidez total (pH), a acidez titulável e o 'Sabor', conforme Metodologia de Avaliação para Características de Qualidade de Frutos (item 2.5). Para as avaliações de qualidade de frutos foram coletados apenas os frutos maduros das plantas, ou seja, aqueles que se destacavam da planta mãe e que possuíam sementes de coloração negra.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2001).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Avaliação da Resistência à Requeima em Linhagens F<sub>8</sub> e Dois Acessos de Tomateiro do BGH – UFV

Para os dois experimentos, as análises de variância relativas à característica resistência à requeima mostraram a existência de diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre os genótipos avaliados (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo das análises de variância, em dois experimentos, referentes à característica resistência à requeima na cultivar Santa Clara, no acesso BGH 6902 e em setenta e dois genótipos de tomateiro. Viçosa-MG, 2006/2007.

| FV              | Experimento I |              | Experimento II |              |
|-----------------|---------------|--------------|----------------|--------------|
|                 | GL            | QM           | GL             | QM           |
| Blocos          | 2             | 540645,6930  | 1              | 18724,1653   |
| Genótipos       | 26            | 75330,8198** | 48             | 14180,2791** |
| Entre Parcelas  | 52            | 25297,7277   | 48             | 2190,0278    |
| Dentro Parcelas | 324           | 11884,0293   | 392            | 839,8091     |
| Média           | 253,84        |              | 48,04          |              |
| CV (%)          | 28,02         |              | 43,56          |              |

\*\* significativo a 1% pelo teste F.

No primeiro e segundo experimentos, foi possível visualizar a doença inicial 3 a 6 dias após a inoculação, com plantas apresentando geralmente menos de 1% do tecido vegetal afetado.

Verificou-se que as testemunhas suscetível e resistente, cv. Santa Clara e acesso BGH 6902, respectivamente, apresentaram valores médios extremos de AACPD, correspondentes à maior suscetibilidade (cv. Santa Clara) e maior resistência (acesso

BGH 6902). No primeiro experimento, as médias de AACPD dos genótipos avaliados e das testemunhas suscetível e resistente foram 250, 447 e 168, respectivamente. No segundo experimento, as médias de AACPD dos genótipos avaliados e das testemunhas suscetível e resistente foram 44, 282 e 23, respectivamente. Através das médias de AACPD obtidas nos dois experimentos, observou-se que os genótipos avaliados se encontraram entre os genitores suscetível e resistente, porém com tendência de maior aproximação do genitor resistente (Figuras 10 e 11).

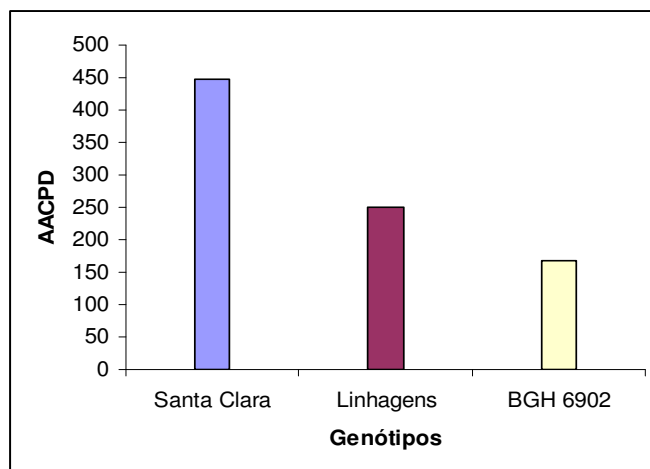


Figura 10. Valores médios de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas de tomateiro da cv. Santa Clara, de vinte e cinco linhagens e do acesso BGH 6902, avaliados para resistência a requeima. Viçosa-MG, 2006.

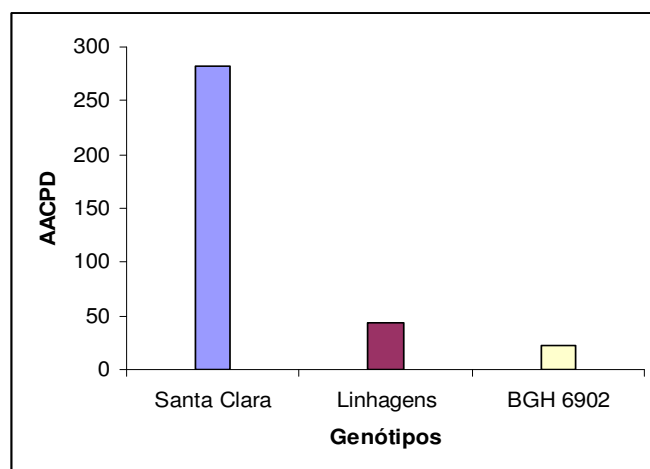


Figura 11. Valores médios de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas de tomateiro da cv. Santa Clara, de quarenta e sete linhagens e do acesso BGH 6902, avaliados para resistência a requeima. Viçosa-MG, 2007.

Os resultados obtidos nos dois experimentos seguiram a mesma tendência dos resultados obtidos por Abreu (2005) e já eram esperados, visto que as setenta linhagens de tomateiro avaliadas nos presentes experimentos já haviam sido selecionadas, na geração F<sub>5</sub>, para resistência à requeima, pelo mesmo autor.

Abreu (2005), em estudo realizado sobre herança da resistência à requeima em tomateiro observou a ocorrência de dominância no sentido da suscetibilidade controlando o caráter, além de baixas herdabilidades, da ordem de 54,86% e 9,06% para herdabilidades no sentido amplo e restrito, respectivamente. Concluiu que a herança da resistência à requeima é do tipo poligênica, com aproximadamente vinte e oito genes controlando o caráter.

De acordo com Allard (1971), o caráter quantitativo é altamente influenciado pelo ambiente. Ao comparar as médias de AACPD obtidas nos dois experimentos, verificou-se que essas, no primeiro experimento, foram elevadas, fato esse explicado pela precipitação e irrigação. Os experimentos, até as datas anteriores às inoculações, foram irrigados com mangueira. Após, passaram a ser irrigados por aspersão, visto que a umidade desempenha papel importante no progresso da doença. No primeiro experimento, além da temperatura ter favorecido a infecção e desenvolvimento do patógeno, a ocorrência de chuvas no município e a irrigação por aspersão, programada para ser ligada de uma em uma hora por dez minutos, permitiu rápido desenvolvimento de *P. infestans*; inclusive, na quarta avaliação, várias plantas da cv. Santa Clara apresentaram nota máxima para porcentagem de severidade da doença. No segundo experimento, apesar da temperatura favorável à infecção e desenvolvimento do patógeno, não houve chuvas no município e a irrigação por aspersão foi programada para ser ligada somente três vezes ao dia (9:00h, 14:00h e 17:00h) por quinze minutos. Sendo a requeima uma doença extremamente dependente das condições climáticas, a temperatura média de 21,45 °C e a elevada umidade ocorridas durante as avaliações do primeiro experimento permitiram rápido desenvolvimento do patógeno, proporcionando, conseqüentemente, elevados valores médios para AACPD.

Tanto no primeiro quanto no segundo experimento foram selecionadas cinco linhagens resistentes à requeima. No primeiro experimento, além das cinco linhagens, identificadas como 127 F, 64 B, 73 D, 163 A e 133 A, também foi selecionado o acesso de tomateiro do BGH-UFV '1497'. No segundo experimento foram selecionadas as linhagens 164 G, 145 B, 50 I, 90 J e 170 C.

As linhagens 127 F, 164 G, 145 B, 50 I e 90 J apresentaram valores médios de AACPD inferiores ao da testemunha resistente (acesso BGH 6902) (Figuras 12 e 13).

Entre diversos acessos do BGH-UFV, avaliados por Ribeiro *et al.* (2006), o ‘184’ e ‘1497’ se destacaram, por possuírem bons níveis de resistência à requeima. No presente trabalho destacou-se somente o acesso BGH 1497, o qual apresentou média de AACPD igual a da testemunha resistente (Figura 12).

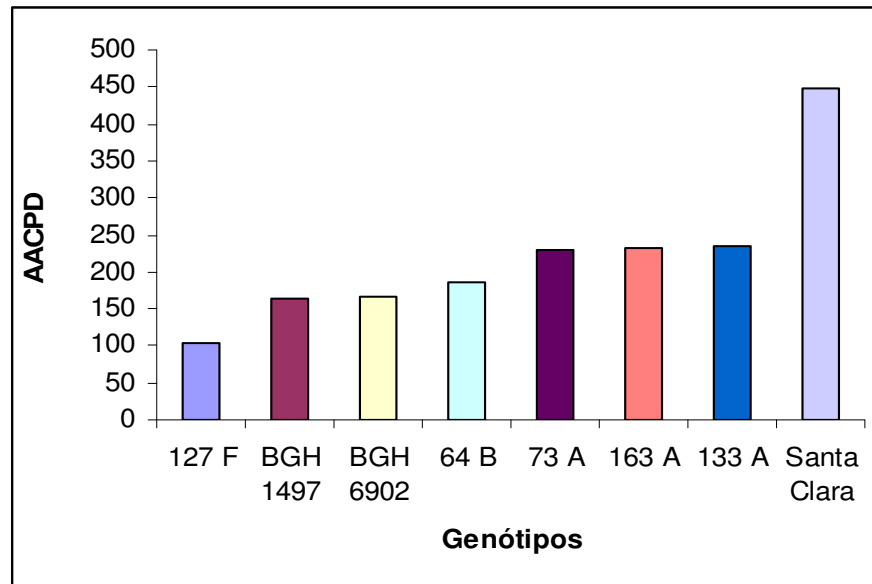


Figura 12. Valores médios de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em linhagens de tomateiro selecionadas para resistência à requeima, na cv. Santa Clara e no acesso BGH 6902. Viçosa-MG, 2006.

Foi observado que, em relação à testemunha suscetível ‘Santa Clara’, tais linhagens mais o acesso BGH 1497 apresentaram bons níveis de resistência à requeima. No primeiro experimento foi observado o valor médio de AACPD de 447 para a testemunha suscetível ‘Santa Clara’, o qual apresentou diferença de 212 unidades em relação ao valor médio de AACPD observado para a linhagem 133 A, da ordem de 235. No segundo experimento, o valor médio de AACPD observado para a cv. Santa Clara foi 282, apresentando diferença de 258 unidades em relação ao valor médio de AACPD observado para a linhagem 170 C, de 24 (Figuras 12 e 13).

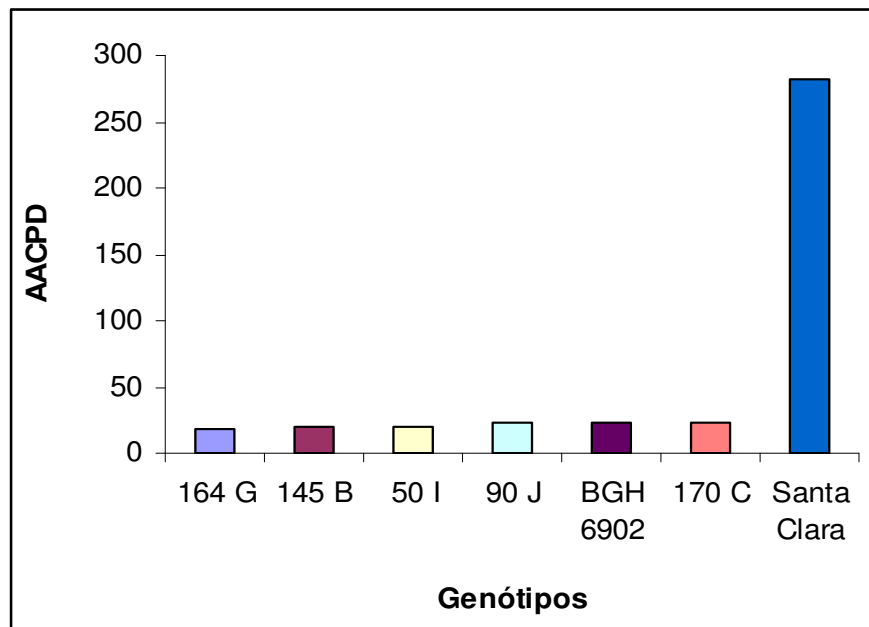


Figura 13. Valores médios de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em linhagens de tomateiro selecionadas para resistência a requeima, na cv. Santa Clara e no acesso BGH 6902. Viçosa-MG, 2007.

Ewing *et al.* (2000), trabalhando com populações de batata originadas de cruzamentos interespecíficos entre *Solanum tuberosum* e *Solanum berthaultii*, verificaram que introgressões de genes de resistência à requeima presentes em *Solanum berthaultii* possibilitaram reduções nos níveis de desenvolvimento da doença, sendo observadas diferenças de AACPD entre progênies de 175 para mais de 400 unidades. De acordo com esses autores, para a cultura da batata, diferenças de AACPD de até 200 unidades apresentam impactos significativos no desenvolvimento da epidemia e requerimento de tempo de aplicação de fungicida.

No presente trabalho, foi possível observar diferenças quanto à AACPD entre a cultivar Santa Clara e as linhagens de tomateiro selecionadas para resistência à requeima, podendo-se inferir que tais linhagens possuem genes de resistência à requeima. As linhagens selecionadas poderão possibilitar o desenvolvimento de cultivares de tomateiro resistentes à requeima, acarretando em menores níveis de desenvolvimento da doença no campo e, conseqüentemente, contribuindo para a diminuição do consumo de fungicidas, através da diminuição do número de pulverizações.

As cinco linhagens selecionadas para resistência à requeima no primeiro experimento, identificadas como 127 F, 64 B, 73 D, 163 A e 133 A, juntamente com o acesso BGH 1497, foram escolhidos para fazer parte da próxima etapa do programa de melhoramento.

### 3.2. Avaliação da Qualidade de Frutos de Dez Linhagens F<sub>8</sub> e do Acesso de Tomateiro do BGH – UFV ‘1497’, Selecionados como Fonte de Resistência à Requeima

Apenas no primeiro experimento, para o caráter pH, os genótipos diferiram estatisticamente entre si, pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 2).

TABELA 2. Médias de quatro caracteres de qualidade de frutos de dez linhagens e do acesso de tomateiro BGH 1497, selecionados como fonte de resistência à requeima. Viçosa-MG, 2007.

| Genótipos | Experimento I      |        |                    |                     | Genótipos | Experimento II     |                    |                    |                     |
|-----------|--------------------|--------|--------------------|---------------------|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
|           | SST                | pH*    | AT                 | ‘Sabor’             |           | SST                | pH                 | AT                 | ‘Sabor’             |
| BGH 1497  | 4,21 <sup>ns</sup> | 4,28a  | 0,39 <sup>ns</sup> | 13,78 <sup>ns</sup> | 50 I      | 4,80 <sup>ns</sup> | 3,97 <sup>ns</sup> | 0,31 <sup>ns</sup> | 14,80 <sup>ns</sup> |
| 64 B      | 5,81 <sup>ns</sup> | 3,73b  | 0,92 <sup>ns</sup> | 6,83 <sup>ns</sup>  | 90 J      | 5,60 <sup>ns</sup> | 4,17 <sup>ns</sup> | 0,20 <sup>ns</sup> | 27,30 <sup>ns</sup> |
| 73 A      | 4,93 <sup>ns</sup> | 4,05ab | 0,81 <sup>ns</sup> | 6,10 <sup>ns</sup>  | 145 B     | 5,55 <sup>ns</sup> | 3,92 <sup>ns</sup> | 0,24 <sup>ns</sup> | 23,50 <sup>ns</sup> |
| 127 F     | 4,30 <sup>ns</sup> | 4,22ab | 0,53 <sup>ns</sup> | 8,06 <sup>ns</sup>  | 164 G     | 5,65 <sup>ns</sup> | 4,24 <sup>ns</sup> | 0,17 <sup>ns</sup> | 32,21 <sup>ns</sup> |
| 133 A     | 5,20 <sup>ns</sup> | 4,16ab | 0,67 <sup>ns</sup> | 8,63 <sup>ns</sup>  | 170 C     | 5,60 <sup>ns</sup> | 3,98 <sup>ns</sup> | 0,24 <sup>ns</sup> | 22,93 <sup>ns</sup> |
| 163 A     | 5,38 <sup>ns</sup> | 4,00ab | 0,73 <sup>ns</sup> | 7,09 <sup>ns</sup>  |           |                    |                    |                    |                     |
| Média     | 4,94               | 4,09   | 0,66               | 8,41                |           | 5,60               | 4,06               | 0,23               | 24,82               |
| CV (%)    | 13,89              | 2,43   | 36,89              | 39,34               |           | 10,28              | 5,05               | 15,25              | 22,90               |

<sup>ns</sup> - não significativo; SST - teor de sólidos solúveis totais; AT - acidez titulável.; \* - teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

No primeiro experimento os valores para pH variaram de 3,73 a 4,28, formando apenas dois grupos. No segundo experimento, esses valores variaram de 3,92 a 4,24 (Tabela 2). Todas as linhagens mais o acesso BGH 1497 apresentaram valores para pH inferiores a 4,4. Frutos ácidos, com valores para pH menores que 4,4, têm sido os preferidos pela indústria, pois quanto menor o pH, menor o tempo para esterilização da massa (ALVARENGA, 2000). De acordo com Mahakun *et al.* (1979), o fator genético é

o principal responsável por diferentes teores de ácidos nos frutos de tomateiro, havendo grande variação entre genótipos para pH e acidez de frutos.

Segundo Kader *et al.* (1978), frutos de elevada qualidade devem possuir valores superiores a 0,32% e 3% para acidez titulável e sólidos solúveis totais, respectivamente. Apenas no primeiro experimento os genótipos avaliados apresentaram valores médios para acidez titulável e sólidos solúveis totais superiores a 0,32% e 3%, respectivamente, podendo, portanto, ser considerados de elevada qualidade. No segundo experimento, apesar dos valores superiores a 3% para sólidos solúveis totais, os valores obtidos para acidez titulável foram inferiores a 0,32% (Tabela 2).

Ao comparar os dois experimentos, foi verificado que os valores para acidez titulável (% de ácido cítrico) obtidos no primeiro experimento foram bastante superiores, havendo duas possíveis explicações para tal fato. A primeira delas se baseia no controle genético de teores de ácidos nos frutos de tomateiro (MAHAKUN *et al.*, 1979), podendo haver diferentes teores de ácido cítrico entre os genótipos avaliados, e a segunda seria erros durante a titulação, contribuindo para aumentar os valores para acidez titulável.

Frutos de tomateiro destinados ao processamento devem apresentar elevado teor de sólidos solúveis totais, entre 5,5 a 6,0 °Brix, pois quanto maior o teor de sólidos solúveis totais menor energia se gasta para obtenção do extrato de tomate (ALVARENGA, 2000). Nos dois experimentos, cinco dos onze genótipos avaliados apresentaram valores para sólidos solúveis totais superiores a 5,5 °Brix. Considerando valores para sólidos solúveis totais superiores a 5,5 °Brix e pH inferiores a 4,4, as linhagens 64 B, 90 J, 145 B, 164 G e 170 C poderão fazer parte de programas de melhoramento de tomate para processamento visando qualidade de frutos, como possíveis doadores de genes para elevados teores de sólidos solúveis totais e acidez de frutos.

Ainda de acordo com Kader *et al.* (1978), o fruto é considerado de excelente sabor quando apresenta relação sólidos solúveis totais/acidez titulável superior a 10. No primeiro experimento, apesar das diferenças entre genótipos não ter sido significativa, apenas o acesso BGH 1497 apresentou valor superior a 10 para 'sabor'. Já no segundo experimento todas as linhagens apresentaram altos valores para 'sabor', a maioria superior a 20 (Tabela 2).

O acesso BGH 1497 também se destacou nos trabalhos de Ribeiro *et al.* (2006) e Caliman *et al.* (2003), como fonte de resistência à requeima e pelo fato de possuir elevado °Brix, 'sabor' e firmeza de frutos, respectivamente. Ao comparar os dados

obtidos no presente trabalho com os obtidos por Caliman *et al.* (2003), para o acesso em questão, verifica-se valores inferiores para sólidos solúveis totais, pH e ‘sabor’, porém superiores a 3% e 10 para sólidos solúveis totais e ‘sabor’, respectivamente (Tabela 3).

TABELA 3. Comparação de médias de quatro caracteres de qualidade de frutos de tomateiro do acesso BGH 1497, selecionado como fonte de resistência à requeima. Viçosa-MG, 2007.

| <b>Genótipos</b> | <b>SST (°Brix)</b> | <b>pH</b> | <b>AT</b> | <b>‘Sabor’</b> |
|------------------|--------------------|-----------|-----------|----------------|
| BGH 1497         | 4,21               | 4,28      | 0,39      | 13,78          |
| BGH 1497*        | 5,40               | 4,46      | 0,35      | 15,24          |

\*Dados obtidos por Caliman *et al.* (2003).

Os genótipos avaliados nos dois experimentos se destacaram pelos seus elevados °Brix e acidez total (pH). No primeiro experimento foram considerados de elevada qualidade, visto que apresentaram valores para acidez titulável e °Brix superiores aos propostos por Kader *et al.* (1978). No segundo experimento, além de apresentarem elevado °Brix e acidez total (pH), foram considerados ‘saborosos’. Foram escolhidos para participar da segunda etapa do trabalho, os genótipos avaliados no primeiro experimento, os quais irão dar continuidade ao programa de melhoramento do tomateiro visando resistência à requeima.

#### 4. CONCLUSÕES

Foi possível a introgressão de genes de resistência à requeima presentes na espécie silvestre *Solanum habrochaites* f. *glabratum* para a cultivar comercial Santa Clara;

Foram selecionadas para resistência à requeima dez linhagens, identificadas como 50 I, 64 B, 73 D, 90 J, 127 F, 133 A, 145 B, 163 A, 164 G e 170 C, mais o acesso de tomateiro do BGH-UFV '1497';

As linhagens 127 F, 164 G, 145 B, 50 I e 90 J apresentaram valores médios de AACPD inferiores ao da testemunha resistente;

O acesso de tomateiro BGH 1497 apresentou média de AACPD igual a da testemunha resistente;

As linhagens selecionadas para resistência à requeima mais o acesso BGH 1497 se destacaram pelos seus elevados valores para °Brix e acidez total (pH);

As linhagens 64 B, 73 D, 127 F, 133 A, 163 A mais o acesso BGH 1497 foram considerados de elevada qualidade.

## ANEXOS

|           |                                                                                                                                                               |    |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. | Folíolo de tomateiro infectado por <i>P. infestans</i> .....                                                                                                  | 59 |
| Figura 2. | Bandeja plástica contendo folíolos infectados por <i>P. infestans</i> .....                                                                                   | 59 |
| Figura 3. | Cultivar de tomateiro Santa Clara ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) após avaliações para resistência à requeima .....                                         | 60 |
| Figura 4. | Frutos de tomateiro da cultivar Santa Clara ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) após avaliações para resistência à requeima .....                               | 60 |
| Figura 5. | Acesso de tomateiro BGH 6902 (espécie silvestre <i>Solanum habrochaites</i> f. <i>glabratum</i> ) após avaliações para resistência à requeima .....           | 61 |
| Figura 6. | Frutos de tomateiro do acesso BGH 6902 (espécie silvestre <i>Solanum habrochaites</i> f. <i>glabratum</i> ) após avaliações para resistência à requeima ..... | 61 |
| Figura 7. | Acesso de tomateiro BGH 184 ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) .....                                                                                           | 62 |
| Figura 8. | Acesso de tomateiro BGH 1497 ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) .....                                                                                          | 62 |
| Figura 9. | Origem das linhagens F <sub>6</sub> de tomateiro do programa de melhoramento genético para resistência à requeima .....                                       | 63 |



Figura 1. Folíolo de tomateiro infectado por *P. infestans*.



Figura 2. Bandeja plástica contendo folíolos de tomateiro infectados por *P. infestans*.



Figura 3. Cultivar de tomateiro Santa Clara (*Solanum lycopersicum* L.) após avaliações para resistência à requeima.



Figura 4. Frutos de tomateiro da cultivar Santa Clara (*Solanum lycopersicum* L.) após avaliações para resistência à requeima.



Figura 5. Acesso de tomateiro BGH 6902 (espécie silvestre *Solanum habrochaites* f. *glabratum*) após avaliações para resistência à requeima.



Figura 6. Frutos de tomateiro do acesso BGH 6902 (espécie silvestre *Solanum habrochaites* f. *glabratum*) após avaliações para resistência à requeima.



Fonte: [www.ufv.br/bgh](http://www.ufv.br/bgh)

Figura 7. Acesso de tomateiro BGH 184 (*Solanum lycopersicum* L.).



Fonte: [www.ufv.br/bgh](http://www.ufv.br/bgh)

Figura 8. Acesso de tomateiro BGH 1497 (*Solanum lycopersicum* L.).

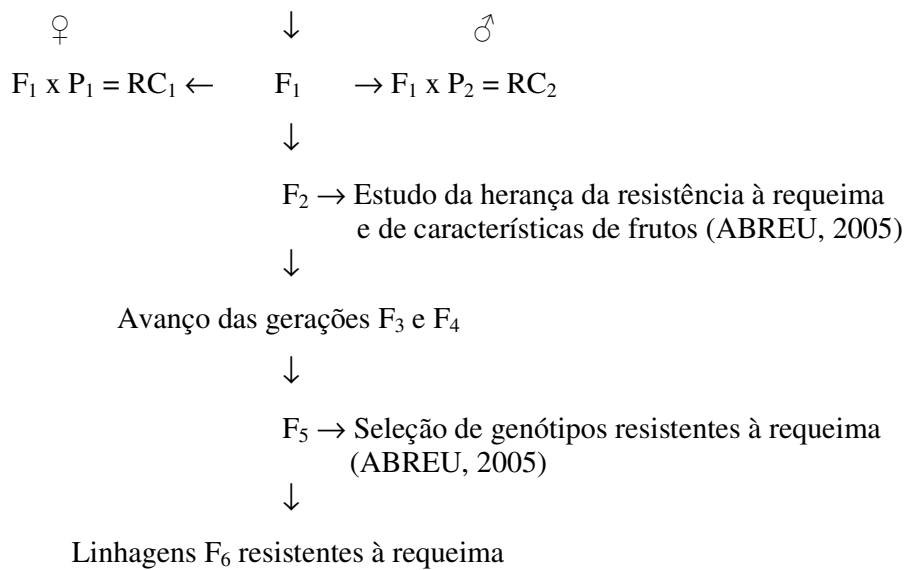
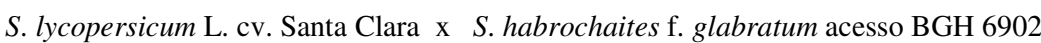


Figura 9. Origem das linhagens F<sub>6</sub> de tomateiro do programa de melhoramento genético para resistência à requeima.

**CAPÍTULO 3. ESTUDO DA CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO PARA  
RESISTÊNCIA À REQUEIMA E QUALIDADE DE FRUTOS EM TOMATEIRO  
PARA MESA**

## RESUMO

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2008. **Estudo da capacidade de combinação para resistência à requeima e qualidade de frutos em tomateiro para mesa.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Co-orientadores: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva e Glauco Vieira Miranda.

Entre as doenças do tomateiro destaca-se a mela ou requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, para a qual não existem cultivares comerciais resistentes, sendo a aplicação de fungicidas sua principal forma de controle. A importância do desenvolvimento de cultivares de tomateiro resistentes à requeima está associada à diminuição do custo de produção da cultura e dos impactos ambientais e de risco à saúde humana, além de ser um dos fatores chave para facilitar o cultivo orgânico do tomateiro. No desenvolvimento de cultivares competitivas o estudo da capacidade de combinação é de extrema importância, por auxiliar o melhorista na escolha de genitores e combinações híbridas superiores. O presente trabalho teve por objetivos estudar as capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para resistência à requeima e qualidade de frutos em tomateiro para consumo *in natura*. Foi realizado um dialelo, em esquema dialélico parcial, obtendo-se vinte e cinco combinações híbridas, originadas de cruzamentos entre variedades comerciais de tomate para mesa mais o acesso BGH 1497 e linhagens F<sub>8</sub> selecionadas para resistência à requeima. As combinações híbridas foram avaliadas para resistência à requeima e qualidade dos frutos em dois experimentos simultâneos, no delineamento em blocos casualizados com duas repetições e cinco plantas por parcela. Para avaliação da resistência à requeima, as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de *P. infestans*, na

concentração de  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, oriundos dos municípios mineiros de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa. A característica avaliada foi porcentagem de severidade da doença, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Para qualidade de frutos foram avaliados os seguintes caracteres: massa fresca (MFF), diâmetros transversal e longitudinal (DTF e DLF), resistência ao amassamento – firmeza (RAF), teor de sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez titulável (AT) e ‘Sabor’. No controle da resistência à requeima, estão envolvidos tanto os efeitos gênicos aditivos quanto os não aditivos, sendo de maior importância os efeitos gênicos aditivos. Foram selecionados como melhores genitores, quanto à resistência à requeima, as cultivares Ikram e Nemo-Netta, pertencentes ao Grupo I, e as linhagens 163 A e 127 F, pertencentes ao Grupo II. As melhores combinações híbridas foram Nemo-Netta x 133 A, Alambra x 64 B e Fanny x 133 A. Entretanto, os genitores selecionados para resistência à requeima foram inferiores em relação às características de qualidade de frutos. Os melhores genitores, quanto a características de qualidade de frutos, foram a cultivar Alambra, pertencente ao Grupo I, e as linhagens 133 A e 64 B, pertencentes ao Grupo II. As melhores combinações híbridas foram Alambra x 163 A, Alambra x 133 A, BGH 1497 x 73 A, Fanny x 133 A, Nemo-Netta x 64 B e Nemo-Netta x 163 A. O híbrido Ikram x 163 A foi o mais indicado para programa de melhoramento genético intrapopulacional visando resistência à requeima. Os genitores utilizados no presente trabalho poderão fazer parte de diferentes programas de melhoramento, de acordo com os objetivos do melhorista, visando à obtenção de novas cultivares de tomateiro para mesa resistentes à requeima e de qualidade de frutos superiores.

## ABSTRACT

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march of 2008. **Ability combining for late blight resistance and fruit quality in fresh market tomato plant study.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-advisers: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva and Glauco Vieira Miranda.

Among tomato plant diseases, late blight stands out, caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, for which there are no resistant commercial cultivars, being the fungicide administration its main control method. The importance of developing a late blight resistant tomato cultivar is associated to a production cost, environmental impact and risk to human health reduction, besides being a key factor to facilitate the organic culture of tomato plants. In the competitive cultivar development the studies of matching capacity are extremely important, to help choosing genitors and superior hybrid combinations. This work had as goal the studies of general capacities (CGC) and specific (CEC) matching for late blight resistance and the quality of tomato fruit for *in natura* consumption. A diallel was realized in a partial scheme, obtaining twenty five hybrid combinations, originated from commercial varieties of fresh market tomato crossing plus the access BGH 1497 and selected late blight resistant F<sub>8</sub> lineages. The hybrid combinations were evaluated for late blight resistance and fruit quality in two simultaneous experiments, in the outlining by casual blocks with two repetitions and five plants per parcel. For the late blight resistance evaluation, the plants were inoculated with a sporangium mixture of *P. infestans*, in a 10<sup>3</sup> sporangium.mL<sup>-1</sup> concentration, derived from the cities Cajuri, Coimbra, Ervália and Viçosa. The evaluated characteristic was the severity percentage of the disease, presented by the form of the area under the disease progress curve (AACPD). For fruit quality the

following characteristics were evaluated: fresh mass (MFF), transversal and longitudinal diameter (DTF and DLF), squashing resistance – firmness (RAF), total solid soluble contents (SST), pH, titratable acidity (AT) and “flavor”. In the late blight resistance control, both additive and non additive gene effects are involved, being most important the additive gene effects. The best genitors were selected, according to late blight resistance, the Ikram and Nemo-Netta cultivar, belonging to Group I, and the lineages 163 A and 127 F, belonging to Group II. The best hybrid combination were Nemo-Netta x 133 A, Alambra x 64 B and Fanny x 133 A. However, the selected genitors for the late blight resistance were inferior in the characteristics related to fruit quality. The best genitors, for fruit quality, were the Alambra cultivar, belonging to Group I, and lineages 133 A and 64 B, belonging to Group II. The best hybrid combinations were Alambra x 163 A, Alambra x 133 A, BGH 1497 x 73 A, Fanny x 133 A, Nemo-Netta x 64 B and Nemo-Netta x 163 A. The hybrid Ikram x 163 A was the best for intrapopulation genetic improvement seeking late blight resistance. The genitors used in the present work may be part of different improvement programs, according to the researcher’s goals, seeking new fresh market cultivars that are late blight resistant and with superior fruit quality.

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de cultivares resistentes para controle de doenças é a estratégia mais eficaz e econômica, impedindo ou dificultando o estabelecimento de doenças na lavoura. Nos dias atuais, além do aspecto econômico, o apelo mais expressivo para o uso de cultivares resistentes está relacionado à menor contaminação dos aplicadores de defensivos agrícolas, do solo e dos mananciais hídricos e à redução dos efeitos residuais nos alimentos, implicando diretamente em maior economia e segurança (NOJOSA *et al.*, 2004), bem como a possibilidade de produção orgânica.

Torna-se importante o desenvolvimento de cultivares de tomateiro resistentes à requeima, por diminuir não só os custos de produção da cultura, mas também os impactos ambientais e de risco à saúde humana causados pela aplicação indiscriminada de defensivos agrícolas.

Atualmente produtores se deparam com a necessidade de fornecer alimentos de elevada qualidade, incluindo melhor aparência e valor nutricional, em razão da globalização do mercado e das exigências do consumidor final. No tomateiro não é diferente; esforços têm sido feitos para a cultura produzir frutos de melhor qualidade. A maioria dos consumidores de tomate exige frutos mais saborosos e que contribuam para sua saúde. Nesse contexto, a qualidade organoléptica dos frutos tem chamado atenção, sendo atribuída a compostos aromáticos, açúcares, ácidos, entre outros, onde os açúcares e ácidos são responsáveis pelo ‘sabor’ e rendimento dos frutos na industrialização (CALIMAN, 2003).

No desenvolvimento de cultivares competitivas é importante o estudo da capacidade de combinação, por auxiliar o melhorista na escolha de genitores e combinações híbridas superiores. O termo capacidade combinatória refere-se ao

comportamento de linhagens ou cultivares quando utilizadas em combinações híbridas, em um ou vários sentidos entre si, associando-se com esse conceito o efeito transgressivo dos genótipos e a resposta heterótica dos mesmos (SPRAGUE & TATUM, 1942).

Em programas de melhoramento, os cruzamentos dialélicos fornecem informações sobre o tipo de ação gênica predominante e avaliam a heterose e as capacidades geral e específica de combinação, permitindo ao melhorista escolher progenitores baseando-se nos seus valores genéticos e, principalmente, considerando a sua capacidade de se combinarem em híbridos promissores (RAMALHO *et al.*, 1993; CRUZ & REGAZZI, 1997).

A capacidade geral de combinação (CGC) está associada aos efeitos genéticos aditivos e à frequência de genes favoráveis dos genitores enquanto a capacidade específica de combinação (CEC) está associada aos efeitos genéticos não aditivos, devido à dominância e epistasia envolvendo dominância (CRUZ & VENCovsky, 1989).

Com o uso dos cruzamentos dialélicos o melhorista pode conhecer o potencial genético das populações *per se* e em cruzamentos, o que é de grande auxílio na escolha de populações e métodos de melhoramento inter e intrapopulacional a serem utilizados (OLIVEIRA, 2005).

Os objetivos deste estudo foram estudar as capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para resistência à requeima e qualidade de frutos em tomateiro originado de cruzamentos entre variedades comerciais para mesa e linhagens selecionadas para resistência à requeima.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local de Condução dos Experimentos**

Os experimentos foram conduzidos na Horta de Pesquisa da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG. O município de Viçosa está localizado na Região da Zona da Mata de Minas Gerais, a latitude 20° 45' 14'' S, longitude 42° 52' 53'' W e altitude de 648, 74 m. Segundo a classificação de Koppen, o clima regional é do tipo Cwa, com umidade relativa média anual do ar de 80%, temperaturas médias máxima e mínima anual registradas de 26,4 e 14,8 °C, respectivamente, e precipitação média anual de 1221,4 mm.

### **2.2. Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans***

Com o intuito de não selecionar fonte de resistência específica e procurando minimizar os efeitos de genes de resistência vertical, ou seja, de efeito maior, foi utilizado como inóculo uma mistura de esporângios proveniente de diferentes isolados de *P. infestans*, patogênicos ao tomateiro, coletados em diferentes municípios da Região da Zona da Mata de Minas Gerais. Nos locais de coleta (campos de produção de tomate), foram retirados das plantas apenas os folíolos infectados por *P. infestans*, sendo esses colocados dentro de sacos de papel de 1,0 Kg previamente identificados com o nome do município em que foram coletados e armazenados em caixas de isopor à temperatura de 18 °C.

O inóculo foi multiplicado no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os folíolos infectados foram retirados dos sacos de papel e transferidos para bandejas plásticas previamente identificadas, desinfestadas com álcool 70% e forradas com papel toalha umedecido com água destilada. Cada bandeja foi coberta com plástico e mantida em câmara de crescimento a 18 °C por 24 horas, de modo a criar o microclima favorável ao desenvolvimento do patógeno e promover maior esporulação.

Após 24 horas, para cada isolado, foi preparada uma suspensão de esporângios. As partes infectadas dos folíolos em que se observava esporulação do patógeno foram retiradas com o auxílio de uma tesoura e colocadas em um Becker contendo água destilada, previamente identificado de acordo com o local de coleta, sendo levadas para um agitador por 5 minutos, para liberação dos esporângios. Com o auxílio de uma gaze, cada suspensão de esporângios foi separada dos folíolos, homogeneizada, pipetada e colocada em um hemacitômetro, procedendo-se à contagem do número de esporângios em um microscópio óptico. Logo após, ajustou-se a concentração do hemacitômetro para  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, através da fórmula  $C_i V_i = C_f V_f$ , onde  $C_i$  = concentração inicial;  $V_i$  = volume inicial;  $C_f$  = concentração final;  $V_f$  = volume final.

Nas inoculações foram utilizadas suspensões de volumes iguais para cada isolado, os quais constituíram a mistura de esporângios. Após a contagem do número de esporângios, a suspensão foi levada à geladeira por 01 hora, para que houvesse liberação de zoósporos. A inoculação foi feita às 21:00 horas, com o auxílio de um pulverizador costal manual, pulverizando 20 mL da suspensão de esporângios em cada planta. O tempo decorrido entre o preparo da suspensão de esporângios e a inoculação não excedeu duas horas, para que os zoósporos não se tornassem inviáveis (ABREU, 2005).

### **2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima**

Três dias após a inoculação foram feitas as avaliações de severidade da doença. Realizaram-se seis avaliações, de três em três dias.

Para as avaliações de severidade à requeima, os avaliadores foram treinados mediante o uso do programa Severity PRO (NUTTER, 1997), visando corrigir distorções inerentes à estimativa visual de severidade da doença.

No campo, os avaliadores deram notas para cada folha de cada planta, estimando-se a porcentagem de tecido vegetal afetado pela doença, ou seja, a porcentagem de severidade da doença. A nota final de cada planta foi constituída pela média das notas de suas folhas.

## **2.4. Metodologia para Emasculação e Polinização Manuais**

O processo utilizado nas hibridações foi o de emasculação e polinização manuais, de acordo com Maluf (2000), que consistiu em emascular cada botão floral da linhagem materna, polinizando-os com pólen retirado de flores abertas da linhagem paterna.

Na emasculação da linhagem materna as flores já abertas foram removidas, escolhendo-se apenas os botões florais entumescidos. Com a ajuda de uma pinça removeu-se a corola e o cone de anteras dos botões florais entumescidos, ficando o estilo-estigma exposto. Para distinguir na colheita os frutos que continham as sementes  $F_1$ , após realizada a hibridação, foram amarrados fios de lã no pecíolo de cada flor emasculada.

Na extração do pólen, flores recém-abertas foram retiradas da linhagem paterna, no dia da polinização, e, com o auxílio de um estilete, retirou-se o pólen.

Os cruzamentos foram realizados no período da manhã, entre 06:00 e 08:00 horas. Pequenas quantidades de pólen foram colocadas em contato com o estigma das flores emasculadas da linhagem materna, de modo que a massa de pólen aderisse a ele.

## **2.5. Metodologia para Avaliação de Características de Qualidade de Frutos**

Foram avaliadas as seguintes características de qualidade de frutos: massa fresca (g), diâmetros transversal e longitudinal (mm), resistência ao amassamento – firmeza (N), teor de sólidos solúveis totais (expresso em °Brix), acidez total (pH), acidez titulável (expressa em % de ácido cítrico) e ‘sabor’.

Para a avaliação da massa fresca foi utilizada uma balança eletrônica de precisão, marca BEL Engineering, sendo os frutos de cada genótipo pesados. Logo após, para cada genótipo, dividiu-se o peso obtido pelo número de frutos coletados, obtendo-se a massa fresca média por fruto.

Para as avaliações dos diâmetros transversal e longitudinal e resistência ao amassamento (firmeza) de frutos foram tomados ao acaso dez frutos de cada genótipo. Os diâmetros transversal e longitudinal foram medidos com a ajuda de um paquímetro eletrônico marca STARRET e a resistência ao amassamento (firmeza) obtida com a ajuda de um penetrômetro manual com sonda de ponta cilíndrica de oito mm de diâmetro, através da penetração da ponteira no fruto. Após, obteve-se os valores médios para cada caráter, em todos os genótipos avaliados.

Para as avaliações do teor de sólidos solúveis totais, acidez total (pH) e acidez titulável os frutos de cada genótipo foram previamente triturados em um multiprocessador marca ARNO. O teor de sólidos solúveis totais foi obtido por refratometria, utilizando um refratômetro digital portátil marca QUIMIS Aparelhos Científicos Ltda. e a acidez total (pH) obtida com um medidor de pH de bancada, portátil, marca MS TECNOPON Instrumentação Científica. Determinou-se a acidez titulável por titulometria com solução 0,01 mol.L<sup>-1</sup> de NaOH, previamente padronizada com biftalato de potássio, retirando-se 5,0 g de massa da polpa triturada, transferindo-a para um balão volumétrico e completando o volume para 100 mL de água destilada. Após, foram pipetadas 10 mL dessa solução, colocando-a em um erlenmeyer e adicionando três gotas de fenolftaleína 1% e procedendo-se a titulação, sob agitação.

O ‘sabor’ foi obtido pela relação sólidos solúveis totais/acidez titulável, conforme descrito por Kader *et al.* (1978).

## 2.6. Condução dos Experimentos

Foram realizados:

- Dialelo parcial entre variedades comerciais mais o acesso de tomateiro do BGH-UFV ‘1497’ e cinco linhagens F<sub>8</sub> selecionadas para resistência à requeima (vide Capítulo 2);
- Avaliações para resistência à requeima e características de qualidade de frutos dos híbridos originados dos dialelos;
- Estudo da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para resistência à requeima e características de qualidade de frutos.

### 2.6.1. Cruzamentos em Esquema de Dialelo Parcial Entre Quatro Variedades Comerciais de Tomateiro para Mesa mais o Acesso do BGH-UFV '1497' e Cinco Linhagens F<sub>8</sub> Consideradas Resistentes à Requeima

Para a realização do dialelo foram utilizados os seguintes genótipos:

A) Genótipos de Tomate para Mesa Pertencentes ao Grupo I, Utilizados como Genitores Femininos:

- 'Alambra' (*Solanum lycopersicum* L.): híbrido pertencente ao grupo de tomate Saladinha. Produz frutos longa-vida *rin* de formato globular achatado, com quatro ou mais lóculos, para consumo *in natura*, cuja massa fresca varia entre 200-250 gramas/fruto. Apresenta hábito de crescimento indeterminado, sendo resistente aos seguintes patógenos: *Fusarium* (raça 1), *Fusarium* (raça 2), *Verticillium*, vírus do mosaico do tomateiro (ToMV) e nematóides. Comercializado pela Clause Tézier do Brasil Ltda;
- Acesso BGH 1497 (*Solanum lycopersicum* L.): pertencente ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Viçosa (UFV); foi coletado em 1967, pela extinta Cooperativa Agrícola de Cotia (CAC), no Estado de São Paulo. Produz frutos do tipo Santa Cruz, arredondados, ligeiramente achatados, de coloração vermelha, cuja massa fresca média é de 42,24 gramas/fruto. Sua produção é de 2,631 Kg/planta e seu teor de sólidos solúveis de 5,40 °Brix. Entre diversos acessos do BGH/UFV, avaliados por Ribeiro *et al.* (2006), se destacou por possuir bom nível de resistência à requeima;
- 'Fanny' (*Solanum lycopersicum* L.): pertencente ao grupo de tomate Saladinha. Produz frutos longa-vida estrutural de formato globular achatado, com quatro ou mais lóculos, para consumo *in natura*, cuja massa fresca varia entre 230-250 gramas/fruto. Apresenta hábito de crescimento indeterminado, sendo resistente aos seguintes patógenos: *Fusarium* (raça 1), *Fusarium* (raça 2), *Verticillium*, nematóides, vírus do mosaico do tomateiro (ToMV) e *Stemphylium solani*. Sementes comercializadas por diversas empresas;
- 'Ikram' (*Solanum lycopersicum* L.): cinco a seis frutos por cacho, pesando em média 130 g/fruto, durabilidade extremamente elevada após a colheita (mais de 15 dias). Ideal para pratos de longo cozimento (fruto rico em pectina) e para molhos clássicos. Disponível o ano todo. Comercializado pela Syngenta;

- ‘Nemo-Netta’ (*Solanum lycopersicum* L.): apresenta hábito de crescimento indeterminado, com precocidade mediana. Frutos longa vida, de formato redondo com ombros verde claro, pesando entre 160 a 220 g/fruto. Resistente aos seguintes patógenos: *Verticillium*, *Fusarium* (raças 1 e 2), vírus do mosaico do tabaco e nematóides. Comercializado pela Nirit Seeds Ltda.

B) Genótipos Pertencentes ao Grupo II, Utilizados como Genitores Masculinos:

- Cinco linhagens F<sub>8</sub> oriundas do programa de melhoramento de tomateiro para resistência à requeima do Prof. Derly José Henriques da Silva, da Universidade Federal de Viçosa (UFV); linhagens estas provenientes do cruzamento entre *Solanum lycopersicum* L. cv. Santa Clara e *Solanum habrochaites* f. *glabratum*, as quais foram anteriormente selecionadas nas gerações F<sub>5</sub> (Abreu, 2005) e F<sub>8</sub> (vide Capítulo 2) para resistência à requeima.

O dialelo foi realizado em casa de vegetação, durante o período de Novembro de 2006 a Março de 2007.

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. O transplântio das mudas para os canteiros, em casa de vegetação, ocorreu no dia 10/12/2006, quando essas estavam com seis folhas definitivas. O espaçamento utilizado foi de 1,00 x 0,60 m, deixando-se duas hastes por planta.

Os cruzamentos foram feitos conforme Metodologia para Emasculação e Polinização Manuais (item 2.4).

Todas as plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, além de receberem tratamentos culturais normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários.

Foram obtidas vinte e cinco combinações híbridas.

#### **2.6.2. Avaliações para Resistência à Requeima e Características de Qualidade de Frutos em Vinte e Cinco Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial e Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência e Qualidade de Frutos**

Foram avaliados para resistência à requeima e características de qualidade de frutos, em dois experimentos simultâneos, vinte e cinco híbridos obtidos de cruzamentos em esquema de dialelo parcial (item 2.6.1).

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. Quando as plântulas estavam com quatro folhas definitivas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo substrato comercial para hortaliças, sendo mantidas em casa de vegetação até o momento do transplântio para o campo.

No experimento para avaliação da resistência à requeima o transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 30/05/2007, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários, sendo estes tratamentos interrompidos dez dias antes da inoculação e durante as avaliações para resistência à requeima. Foi deixada apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Para avaliação da resistência à requeima, no dia 11/07/2007 as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de 5 isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomate, oriundos dos municípios de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa (Zona Rural e Horta de Pesquisa da UFV – Horta Velha), conforme Metodologia de Inoculação para *Phytophthora infestans* (item 2.2). Após a inoculação, no dia 12/07/2007 as plantas passaram a ser irrigadas por aspersão, para garantir alta umidade ao ambiente. Com o intuito de garantir a penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, o sistema de irrigação por aspersão foi ligado às 10:00h, e, a partir daí, foi programado para ser ligado três vezes ao dia durante vinte minutos. A irrigação por aspersão foi realizada entre os dias 12/07/2007 a 29/07/2007.

As avaliações tiveram início e término nos dias 14/07/2007 e 29/07/2007, respectivamente, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.3).

Entre os dias 11/07/2007 e 29/07/2007, no município de Viçosa/MG foram observadas temperaturas médias máxima e mínima de 25,5 e 12,8 °C, respectivamente, umidade relativa média de 77% e precipitação de 6,1 mm.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições e 5 plantas/parcela. Os dados analisados foram os valores médios de porcentagem de severidade da doença, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à

Requeima (item 2.3), apresentados sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), como descrito por Campbell & Madden (1990). A partir dos valores de área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD) obtidos estimou-se os efeitos fixos pelo método da melhor estimativa linear não viesada (BLUE) (SAS, 1996), propiciando adequada correção ou ajuste dos dados para os efeitos ambientais, procedendo-se à análise dialélica.

No experimento para avaliação de características de qualidade de frutos, o transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 04/07/2007, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratamentos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários. Foi deixada apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Foram avaliadas as seguintes características de qualidade de frutos: massa fresca, diâmetros transversal e longitudinal, resistência ao amassamento (firmeza), teor de sólidos solúveis totais, acidez total (pH), acidez titulável e ‘Sabor’, conforme Metodologia de Avaliação para Características de Qualidade de Frutos (item 2.5).

As avaliações para qualidade de frutos foram realizadas entre os dias 12/09/2007 e 18/09/2007, coletando-se apenas frutos maduros dos três primeiros cachos das plantas, ou seja, frutos de coloração amarelo-alaranjado.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições e 5 plantas/parcela.

Para as características resistência à requeima e de qualidade de frutos foram estimados os efeitos das capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação dos vinte e cinco híbridos. A análise dialélica parcial foi realizada de acordo com o método 1 (somente  $F_1$ 's), modelo I (efeito de genótipo fixo), adaptando o modelo proposto por Griffing (1956) para descrever as observações experimentais. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2001).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência à Requeima e Qualidade de Frutos em Vinte e Cinco Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial

Observou-se que, para a maioria das características avaliadas, os híbridos diferiram estatisticamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade, podendo-se inferir que existem variações genotípicas entre esses (Tabela 1).

As capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD), massa fresca de frutos (MFF), diâmetro transversal de frutos (DTF), diâmetro longitudinal de frutos (DLF) e resistência ao amassamento de frutos (RAF) foram significativas ao nível de 1% de probabilidade, indicando que tanto os efeitos gênicos aditivos quanto os não aditivos estão envolvidos no controle desses caracteres (Tabela 1).

A superioridade dos valores dos quadrados médios da CGC sobre os da CEC é indicativo da maior importância dos efeitos gênicos aditivos sobre os não aditivos. Para as características área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), resistência ao amassamento (RAF), sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez titulável (AT) e 'Sabor', como os quadrados médios de CGC foram maiores que os da CEC, pode-se evidenciar que os efeitos gênicos aditivos foram mais importantes que os não aditivos. Zhang *et al.* (2007) e Ferrão *et al.* (1994), em análise dialélica visando resistência do algodoeiro ao nematóide das galhas *Meloidogyne incognita* raça 3 e estabilidade de híbridos de milho em diferentes localidades, respectivamente, também verificaram maior importância dos efeitos gênicos aditivos.

Com esses resultados pode-se demonstrar que há possibilidade de se obter novas cultivares de tomate para mesa resistentes à requeima e de qualidade de frutos superiores, a partir de melhoramento intrapopulacional na população resultante da combinação dos genitores superiores.

A capacidade específica de combinação (CEC) foi significativa, ao nível de 1% de probabilidade, para as características área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), massa fresca (MFF), diâmetro transversal (DTF), diâmetro longitudinal (DLF) e resistência ao amassamento (RAF), indicando a presença de heterose, e, portanto, de complementação gênica. Por outro lado, os efeitos aditivos dos alelos são superiores aos efeitos não aditivos no conjunto de genitores em função da não significância da capacidade específica de combinação (CEC) para as características sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez titulável (AT) e 'Sabor'.

Foi observada grande variabilidade entre as estimativas de CGC para os diferentes genitores (Tabela 2). Baixas estimativas dos efeitos de CGC ( $g_i$ ), positivas ou negativas, indicam genótipos com combinações que não diferem muito da média geral da população dialélica, enquanto altas estimativas de  $g_i$ , positivas ou negativas, indicam que o genitor em questão é muito superior ou inferior aos demais genitores do dialelo, com relação ao desempenho médio das progênies (Cruz & Regazzi, 2001; Sprague & Tatum 1942), evidenciando a importância dos genes predominantemente aditivos.

Na prática, a interpretação dos efeitos de CGC ( $g_i$ ) depende do interesse do melhorista. A seleção para resistência à requeima é feita no sentido negativo, ou seja, quanto menor a AACPD maior o grau de resistência do indivíduo; valores altos e negativos de  $g_i$  são os de maior interesse, pois indicam que a média dos cruzamentos que envolvem os progenitores em questão é menor do que a média geral dos cruzamentos no dialelo. Adicionalmente, esses valores são indicativos da importância dos genes considerados aditivos na variabilidade genética dos materiais utilizados no presente trabalho.

Para a característica área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), as cultivares Ikram e Nemo-Netta (grupo I) e as linhagens 163 A e 127 F (grupo II) obtiveram elevados valores negativos para  $g_i$ , indicando boa frequência de alelos favoráveis para resistência à requeima. Os altos valores negativos de  $g_i$  observados para Ikram (- 26, 78) e para a linhagem 163 A (- 13,22) evidenciam a superioridade desses genitores em relação aos demais. Entretanto, no presente trabalho, tais genitores foram superiores para poucas características de qualidade de frutos. Na cultivar Ikram foi observado maior valor de  $g_i$  apenas para acidez titulável enquanto na linhagem 163 A

observou-se maior valor de gi para sólidos solúveis totais e pH, indicando boa frequência de alelos favoráveis para esses caracteres.

Entre os genitores pertencentes ao grupo I, para características de qualidade de frutos, destaca-se a superioridade da cultivar Alambra, devido às altas estimativas de gi para massa fresca de frutos (MFF), diâmetro transversal de frutos (DTF), diâmetro longitudinal de frutos (DLF), pH e 'Sabor'. Entretanto, observou-se nesta cultivar alto e positivo valor de gi para resistência à requeima, sendo considerada um dos piores genitores do grupo I para o caráter em questão.

Entre os genitores pertencentes ao grupo II, para características de qualidade de frutos, destaca-se a superioridade das linhagens 133 A, com relação as seguintes características: massa fresca de frutos (MFF), diâmetro transversal de frutos (DTF) e diâmetro longitudinal de frutos (DLF), e 64 B, com relação as seguintes características: resistência ao amassamento (RAF) e acidez titulável (AT), devido às altas estimativas de gi para tais caracteres. Entretanto, observou-se que, em relação à resistência à requeima, essas linhagens são consideradas como piores genitores do grupo II (Tabela 2).

Diante dos resultados, verificou-se que tais genótipos podem ser utilizados em diferentes programas de melhoramento, de acordo com os objetivos do melhorista, visando à obtenção de novas cultivares de tomate para mesa.

Abreu (2005), trabalhando com as mesmas linhagens utilizadas no presente trabalho, verificou que as características massa fresca (MFF) e diâmetros transversal (DTF) e longitudinal (DLF) de frutos foram significativamente e positivamente correlacionadas entre si, de modo que a seleção de uma das características pode gerar progressos em qualquer uma das outras. Porém, verificou correlações negativas entre área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e massa fresca de frutos (MFF) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e diâmetro transversal de frutos (DTF), observando que o acréscimo de uma característica leva à diminuição da outra.

No presente trabalho, os frutos das combinações híbridas apresentaram médias de diâmetros transversal (DTF) e longitudinal (DLF) de 27,9868 e 27,1002 mm (Tabela 1), respectivamente, de tamanho pequeno em relação às cultivares comerciais de tomate para mesa e tendendo ao formato “redondo” (Figuras 1 e 2). De acordo com Tanksley *et al.* (2002), em cruzamentos entre espécies cultivadas e espécies silvestres, as progênies segregam de modo contínuo para tamanho de frutos pequenos. Os autores relatam que tal fato evidencia que o processo de domesticação envolve mutações em diferentes

locos, pois não há conhecimentos sobre o caminho evolucionário do tomateiro, pelo qual espécies silvestres foram evoluindo para plantas com frutos grandes e de formatos variáveis, sendo a hipótese mais provável a de que humanos pré-históricos tenham selecionado para mutações associadas à frutos grandes; mutações sucessivas para frutos grandes tenham acumulado para dar origem às nossas cultivares atuais. Existem aproximadamente trinta QTLs para variações em tamanho e formato de frutos, diferentes na magnitude de seus efeitos, sendo que desses trinta menos de dez apresentam a maioria das mudanças em tamanho e formato associados com a domesticação/agricultura do tomateiro. Nas fases seguintes do trabalho de melhoramento, serão necessárias introgressões de genes mutantes para as características tamanho e formato de frutos, de modo a obter uma cultivar de tomateiro para mesa que produza frutos de tamanho grande, de acordo com as exigências do mercado consumidor.

As linhagens pertencentes ao grupo II, utilizadas como genitores masculinos no presente trabalho, são originadas de cruzamento interespecífico entre *S. lycopersicum* ('Santa Clara') e *S. habrochaites* f. *glabratum* (acesso BGH 6902). Em cruzamentos interespecíficos, além da resistência, características indesejáveis de frutos presentes nas espécies silvestres são herdadas pelas gerações segregantes (ABREU, 2005). Ewing *et al.* (2000), trabalhando com populações de batata originadas de cruzamentos interespecíficos entre *Solanum tuberosum* e *Solanum berthaultii*, observaram que a resistência quantitativa à requeima tende a estar associada com a maturidade tardia das plantas. Entre as possíveis explicações para essa observação os autores relatam a possibilidade de existência de ligação gênica entre maturidade tardia de plantas e resistência à requeima ou mesmo que um ou mais polígenes que contribuam para maturidade tardia tenha efeito direto ou pleiotrópico na resistência à requeima. No caso do tomateiro, sugere-se estudos de mapeamento genético com o intuito de verificar a existência de ligação gênica ou mesmo pleiotropia para características comerciais indesejáveis e resistência à requeima.

Os efeitos da capacidade específica de combinação ( $S_{ij}$ ) (Tabela 3) são estimados como desvios de comportamento do híbrido em relação ao que seria esperado com base na CGC, interessando ao melhorista a combinação híbrida de maior estimativa  $S_{ij}$  que envolva pelo menos um dos pais com efeito mais favorável de CGC. Desse modo, esses valores constituem uma indicação importante dos genes com efeitos de dominância e epistasia.

Quanto à resistência à requeima, as melhores combinações híbridas foram Nemo-Netta x 133 A (- 40,58), Alambra x 64 B (- 24,17) e Fanny x 133 A (- 23,00) (Tabela 3). Na melhor combinação híbrida para tal caráter, Nemo-Netta x 133 A, pelo menos um genitor tinha alta CGC, a cultivar Nemo-Netta. As combinações Alambra x 64 B e Fanny x 133 A não possuem genitores com alta CGC para resistência à requeima, podendo esse fato ser explicado pela existência de complementariedade entre os genitores e manifestação de heterose nas progênes, pelas altas estimativas de CEC.

Em relação às oito características de qualidade de frutos avaliadas destacam-se as combinações híbridas Alambra x 163 A, Alambra x 133 A, BGH 1497 x 73 A, Fanny x 133 A, Nemo-Netta x 64 B e Nemo-Netta x 163 A, as quais com genitores com pelo um genitor alta CGC para qualidade de frutos, a cultivar Alambra e as linhagens 133 A e 64 B. A combinação BGH 1497 x 73 A não possuem genitores com alta CGC para qualidade de frutos, fato esse que pode ser explicado pela existência de complementariedade entre os genitores e manifestação de heterose nas progênes.

O presente trabalho faz parte de um programa de pré-melhoramento (pré-breeding) e teve por objetivos a identificação de genótipos possuidores de genes para resistência à requeima e melhor conhecimento desses *per se* e em cruzamentos. Devido ao interesse do estudo ser a resistência genética à requeima, nessa fase inicial do programa de melhoramento as características comerciais de frutos são avaliadas com menor prioridade. A geração segregante conterá características comerciais indesejáveis, porém com níveis significativamente maiores de resistência à requeima em relação às cultivares comerciais. É necessário o planejamento e realização de novos trabalhos, de modo a introgreir genes de características comerciais desejáveis para o produto final, o que acarreta tempo maior para a obtenção de cultivares de tomate para mesa resistentes à requeima com elevada qualidade de frutos.

#### **4. CONCLUSÕES**

Os melhores genitores, quanto à resistência à requeima, foram as cultivares Ikram e Nemo-Netta, pertencentes ao grupo I, e as linhagens 163 A e 127 F, pertencentes ao grupo II;

O híbrido Ikram x 163 A foi o mais indicado para programa de melhoramento genético intrapopulacional visando resistência à requeima;

As melhores combinações híbridas, quanto à resistência à requeima, foram Nemo-Netta x 133 A, Alambra x 64 B e Fanny x 133 A;

Os melhores genitores, quanto a características de qualidade de frutos, foram a cultivar Alambra, pertencente ao grupo I, e as linhagens 133 A e 64 B, pertencentes ao grupo II;

As melhores combinações híbridas, quanto a características de qualidade de frutos, foram Alambra x 163 A, Alambra x 133 A, BGH 1497 x 73 A, Fanny x 133 A, Nemo-Netta x 64 B e Nemo-Netta x 163 A;

Os genitores selecionados para resistência à requeima mostraram-se inferiores em relação às características de qualidade de frutos;

Os genitores utilizados no presente trabalho poderão fazer parte de diferentes programas de melhoramento, de acordo com os objetivos do melhorista, visando à obtenção de novas cultivares;

Há possibilidades de se obter novas cultivares de tomateiro para mesa resistentes à requeima e de qualidade de frutos superiores.

## ANEXOS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Pág. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Tabela 1. Estimativas dos quadrados médios das combinações híbridas, capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, médias e desvio padrão das análises de variância referentes à resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos em tomateiro .....         | 88   |
| Tabela 2. Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação ( $g_i$ ) de um dialelo parcial envolvendo dez genótipos (grupos I e II), para resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos, e desvio padrão da diferença entre duas estimativas .....           | 90   |
| Tabela 3. Estimativas dos efeitos da capacidade específica de combinação ( $S_{ij}$ ) de vinte e cinco combinações híbridas, em relação à resistência à requeima e oito caracteres de qualidade de frutos em tomateiro, e os desvios padrão da diferença entre duas estimativas da CEC ..... | 91   |
| Figura 1. Frutos de tomateiro do híbrido Ikram x Linhagem 163 A .....                                                                                                                                                                                                                        | 93   |
| Figura 2. Frutos de tomateiro do híbrido Ikram x Linhagem 163 A .....                                                                                                                                                                                                                        | 93   |

Tabela 1. Estimativas dos quadrados médios das combinações híbridas, capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, médias e desvios padrão das análises de variância referentes à resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos em tomateiro. Viçosa-MG, 2007.

| FV         | GL | Quadrados Médios <sup>(1)</sup> |            |            |            |           |                      |                      |                      |                       |
|------------|----|---------------------------------|------------|------------|------------|-----------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
|            |    | AACPD                           | MFF        | DTF        | DLF        | RAF       | SST                  | pH                   | AT                   | ‘Sabor’               |
| Híbridos   | 24 | 1946,8684**                     | 772,6744** | 114,2037** | 118,4089** | 8,1014**  | 2,3217**             | 0,0298**             | 0,0151**             | 19,6281 <sup>ns</sup> |
| CGC        | 4  | 3257,4614**                     | 564,4752** | 87,1911**  | 87,9797**  | 13,0200** | 1,8410 <sup>ns</sup> | 0,0640**             | 0,0355**             | 34,2721*              |
| CGC        | 4  | 2681,8524**                     | 580,9121** | 85,6159**  | 88,2643**  | 17,3613** | 7,0160**             | 0,0315 <sup>ns</sup> | 0,0258**             | 23,4338 <sup>ns</sup> |
| CEC I x II | 16 | 1435,4742**                     | 872,6648** | 128,1039** | 133,5523** | 4,5567**  | 1,2683 <sup>ns</sup> | 0,0276 <sup>ns</sup> | 0,0074 <sup>ns</sup> | 15,0156 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 23 | 578,5853                        | 41,3985    | 6,1915     | 5,6711     | 2,3169    | 0,7429               | 0,0125               | 0,0058               | 11,7887               |
| Média      |    | 84,3268                         | 15,3474    | 27,9868    | 27,1002    | 6,0872    | 6,29                 | 4,3866               | 0,3966               | 16,5552               |
| DP         |    | 3,4017                          | 0,9099     | 0,3519     | 0,3368     | 0,2153    | 0,1219               | 0,0158               | 0,0108               | 0,4856                |

<sup>(1)</sup> <sup>ns</sup>, \*\* e \*: respectivamente, não significativo, significativo ao nível de 1% de probabilidade e significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. AACPD: área abaixo da curva de progresso da doença; MFF: massa fresca de frutos; DTF: diâmetro transversal de frutos; DLF: diâmetro longitudinal de frutos; RAF: resistência ao amassamento de frutos; SST: teor de sólidos solúveis totais; AT: acidez titulável e DP: desvios padrão.

Tabela 2. Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (gi) de um dialelo parcial envolvendo dez genótipos (grupos I e II), para resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos, e desvios padrão da diferença entre duas estimativas. Viçosa-MG, 2007.

| Genótipos           |         | Efeitos <sup>(1)</sup> |        |        |        |        |         |         |         |
|---------------------|---------|------------------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|
| Grupo I             | AACPD   | MFF                    | DTF    | DLF    | RAF    | SST    | pH      | AT      | ‘Sabor’ |
| Alambra             | 12,06   | 11,57                  | 4,76   | 4,47   | 0,67   | - 0,43 | 0,13    | - 0,08  | 2,56    |
| BGH 1497            | 9,52    | 3,72                   | 1,02   | 1,52   | - 1,84 | 0,53   | - 0,02  | 0,01    | 1,03    |
| Fanny               | 15,56   | - 5,26                 | - 1,90 | - 2,33 | - 0,34 | - 0,43 | - 0,02  | - 0,007 | - 1,22  |
| Ikram               | - 26,78 | - 5,17                 | - 1,93 | - 2,43 | 0,53   | 0,29   | - 0,08  | 0,07    | - 2,12  |
| Nemo-Netta          | - 10,35 | - 4,85                 | - 1,95 | - 1,22 | 0,96   | 0,04   | - 0,007 | 0,008   | - 0,23  |
| DP ( $G_i - G_i'$ ) | 10,75   | 2,88                   | 1,11   | 1,06   | 0,68   | 0,38   | 0,05    | 0,34    | 1,53    |
| 127 F               | - 12,71 | - 4,14                 | - 1,30 | - 1,38 | - 1,45 | 0,27   | 0,01    | - 0,02  | 1,87    |
| 64B                 | - 5,90  | - 4,89                 | - 1,85 | - 1,92 | 1,88   | 0,55   | - 0,08  | 0,07    | - 2,00  |
| 73 A                | 6,06    | 2,75                   | 1,16   | 1,72   | - 0,20 | - 1,38 | - 0,02  | - 0,04  | - 1,06  |
| 163 A               | - 13,22 | - 5,91                 | - 2,59 | - 2,77 | - 0,90 | 0,71   | 0,05    | 0,02    | 0,68    |
| 133 A               | 25,78   | 12,20                  | 4,59   | 4,36   | 0,68   | - 0,15 | 0,04    | - 0,03  | 0,51    |
| DP ( $G_j - G_j'$ ) | 10,75   | 2,88                   | 1,11   | 1,06   | 0,68   | 0,38   | 0,05    | 0,34    | 1,53    |

<sup>(1)</sup> AACPD: área abaixo da curva de progresso da doença; MFF: massa fresca de frutos; DTF: diâmetro transversal de frutos; DLF: diâmetro longitudinal de frutos; RAF: resistência ao amassamento de frutos; SST: teor de sólidos solúveis totais; AT: acidez titulável e DP ( $G_i - G_i'$ ) e DP ( $G_j - G_j'$ ): desvios padrão da diferença entre duas estimativas.

Tabela 3. Estimativas dos efeitos da capacidade específica de combinação (Sij) de vinte e cinco combinações híbridas, em relação à resistência à requeima e oito caracteres de qualidade de frutos em tomateiro, e desvios padrão da diferença entre duas estimativas da CEC. Viçosa-MG, 2007.

| Efeitos (Sij)    | Caracteres avaliados |         |        |        |        |        |         |         |         |
|------------------|----------------------|---------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|
|                  | AACPD                | MFF     | DTF    | DLF    | RAF    | SST    | pH      | AT      | ‘Sabor’ |
| Alambra x 127 F  | - 21,77              | - 11,08 | - 3,84 | - 3,51 | - 0,99 | 0,52   | 0,02    | 0,006   | 2,15    |
| Alambra x 64 B   | - 24,17              | - 10,77 | - 3,68 | - 3,87 | - 1,91 | - 0,16 | - 0,01  | - 0,01  | - 0,31  |
| Alambra x 73 A   | - 17,18              | - 21,64 | - 6,38 | - 6,34 | 1,89   | 0,42   | - 0,004 | 0,03    | - 1,48  |
| Alambra x 163 A  | 0,55                 | - 11,67 | - 4,74 | - 4,49 | - 1,38 | 1,18   | 0,22    | 0,01    | 2,77    |
| Alambra x 133 A  | 62,58                | 55,17   | 18,64  | 18,22  | 2,39   | - 1,96 | - 0,23  | - 0,04  | - 3,12  |
| BGH 1497 x 127 F | - 21,58              | - 6,51  | - 3,79 | - 4,14 | 1,27   | 0,46   | - 0,05  | 0,06    | - 2,32  |
| BGH 1497 x 64 B  | - 5,18               | - 5,78  | - 2,03 | - 2,27 | - 1,30 | - 0,02 | 0,03    | - 0,008 | - 0,23  |
| BGH 1497 x 73 A  | 28,89                | 41,00   | 18,05  | 19,35  | - 0,65 | - 0,94 | 0,05    | - 0,13  | 5,42    |
| BGH 1497 x 163 A | 11,35                | - 6,13  | - 3,55 | - 4,04 | 0,52   | - 0,68 | - 0,09  | 0,06    | - 4,20  |
| BGH 1497 x 133 A | - 13,48              | - 22,57 | - 8,68 | - 8,90 | 0,16   | 1,18   | 0,06    | 0,02    | 1,33    |
| Fanny x 127 F    | 27,02                | 6,71    | 3,16   | 2,58   | - 0,17 | - 0,33 | - 0,003 | 0,04    | - 2,02  |
| Fanny x 64 B     | 9,52                 | 5,91    | 0,83   | 1,17   | 0,43   | - 0,06 | 0,03    | - 0,03  | 1,26    |
| Fanny x 73 A     | - 1,08               | - 5,58  | - 1,20 | - 2,15 | 0,27   | - 0,03 | - 0,07  | 0,005   | - 1,62  |
| Fanny x 163 A    | - 12,46              | 5,09    | 1,20   | 1,62   | - 0,21 | - 0,37 | - 0,06  | 0,01    | - 1,35  |
| Fanny x 133 A    | - 23,00              | - 12,13 | - 4,00 | - 3,22 | - 0,31 | 0,79   | 0,11    | - 0,02  | 3,74    |

“continua”...

“Tabela 3. Cont.”

|                          |         |         |        |        |         |        |        |        |        |
|--------------------------|---------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|
| Ikram x 127 F            | 0,34    | 5,92    | 3,06   | 2,71   | - 0,64  | - 0,30 | - 0,01 | - 0,04 | 0,43   |
| Ikram x 64 B             | 14,45   | 5,08    | 2,14   | 1,60   | 0,01    | 0,02   | - 0,06 | - 0,01 | 0,82   |
| Ikram x 73 A             | - 13,11 | - 6,37  | - 5,10 | - 5,38 | - 0,06  | 0,15   | 0,06   | 0,08   | - 1,70 |
| Ikram x 163 A            | - 16,17 | 5,06    | 2,49   | 3,02   | 0,69    | 0,21   | - 0,06 | - 0,02 | 0,71   |
| Ikram x 133 A            | 14,49   | - 9,70  | - 2,60 | - 1,95 | - 0,005 | - 0,08 | 0,07   | - 0,01 | - 0,26 |
| Nemo-Netta x 127 F       | 15,99   | 4,96    | 1,41   | 2,37   | 0,54    | - 0,35 | 0,05   | - 0,06 | 1,76   |
| Nemo-Netta x 64 B        | 5,38    | 5,56    | 2,73   | 3,37   | 2,77    | 0,22   | 0,02   | 0,07   | - 1,53 |
| Nemo-Netta x 73 A        | 2,48    | - 7,41  | - 5,37 | - 5,47 | - 1,45  | 0,40   | - 0,04 | 0,01   | - 0,61 |
| Nemo-Netta x 163 A       | 16,73   | 7,66    | 4,59   | 3,89   | 0,38    | - 0,34 | 0,002  | - 0,07 | 2,06   |
| Nemo-Netta x 133 A       | - 40,58 | - 10,77 | - 3,36 | - 4,15 | - 2,24  | 0,07   | - 0,03 | 0,05   | - 1,69 |
| DP ( $S_{ij} - S_{ik}$ ) | 21,51   | 5,75    | 2,22   | 2,13   | 1,36    | 0,77   | 0,99   | 0,68   | 3,07   |
| DP ( $S_{ij} - S_{kl}$ ) | 18,63   | 4,98    | 1,92   | 1,84   | 1,18    | 0,66   | 0,86   | 0,59   | 2,66   |

AACPD: área abaixo da curva de progresso da doença; MFF: massa fresca de frutos; DTF: diâmetro transversal de frutos; DLF: diâmetro longitudinal de frutos; RAF: resistência ao amassamento de frutos; SST: teor de sólidos solúveis totais; AT: acidez titulável e DP ( $S_{ij} - S_{ik}$ ) e DP ( $S_{ij} - S_{kl}$ ): desvios padrão da diferença entre duas estimativas da CEC.



Figura 1. Frutos de tomateiro do híbrido Ikram x Linhagem 163 A.



Figura 2. Frutos de tomateiro do híbrido Ikram x Linhagem 163 A.

**CAPÍTULO 4. ESTUDO DA CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO PARA  
RESISTÊNCIA À REQUEIMA E QUALIDADE DE FRUTOS EM TOMATEIRO  
PARA INDÚSTRIA**

## RESUMO

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2008. **Estudo da capacidade de combinação para resistência à requeima e qualidade de frutos em tomateiro para indústria.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Co-orientadores: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva e Glauco Vieira Miranda.

O presente trabalho teve por objetivos estudar as capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para resistência à requeima e qualidade de frutos em tomateiro para processamento. Foi realizado um dialelo, em esquema dialélico parcial, obtendo-se trinta combinações híbridas, originadas de cruzamentos entre variedades comerciais de tomate para indústria e linhagens  $F_8$  selecionadas para resistência requeima. As combinações híbridas foram avaliadas para resistência à requeima e qualidade dos frutos em experimentos simultâneos, no delineamento em blocos casualizados com duas repetições e cinco plantas por parcela. Para avaliação da resistência à requeima, as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de *P. infestans*, na concentração de  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, oriundos dos municípios mineiros de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa. A característica avaliada foi porcentagem de severidade da doença, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Para qualidade de frutos foram avaliados os seguintes caracteres: massa fresca (MFF), diâmetros transversal e longitudinal (DTF e DLF), resistência ao amassamento – firmeza (RAF), teor de sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez titulável (AT) e ‘Sabor’. No controle da resistência à requeima, estão envolvidos tanto os efeitos gênicos aditivos quanto os não aditivos, sendo de maior importância os efeitos gênicos aditivos. Foram selecionados como melhores genitores, quanto à resistência à requeima, as cultivares Heinz H7155 e IPA 6, pertencentes ao Grupo I, e as linhagens 163 A e 127 F, pertencentes ao Grupo II. As melhores

combinações híbridas foram AP 533 x 73 A, Heinz Caballero x 163 A e APT 410 x 133 A. Entretanto, a maioria dos genitores selecionados para resistência à requeima foram inferiores em relação às características de qualidade de frutos. Os melhores genitores, quanto a características de qualidade de frutos foram as cultivares Heinz H7155 e IPA 6, pertencentes ao Grupo I, e as linhagens 127 F, 133 A e 64 B, pertencentes ao Grupo II. As melhores combinações híbridas foram Heinz Caballero x 163 A e Heinz H7155 x 64 B. O híbrido Heinz H7155 x 163 A foi o mais indicado para programa de melhoramento genético intrapopulacional visando resistência à requeima. Os genitores utilizados no presente trabalho poderão fazer parte de diferentes programas de melhoramento, de acordo com os objetivos do melhorista, visando à obtenção de novas cultivares de tomateiro para indústria resistentes à requeima e de qualidade de frutos superiores.

## ABSTRACT

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march of 2008. **Ability combining for late blight resistance and fruit quality in processing market tomato plant study.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-advisers: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva and Glauco Vieira Miranda.

This present work had as goal the studies of general capacities (CGC) and specific (CEC) matching for late blight resistance and the quality of tomato fruit for processing. A diallel was realized in a partial scheme, obtaining thirty hybrid combinations, originated from commercial varieties of processing market tomato crossing and selected late blight resistant F<sub>8</sub> lineages. The hybrid combinations were evaluated for late blight resistance and fruit quality in two simultaneous experiments, in the outlining by casual blocks with two repetitions and five plants per parcel. For the late blight resistance evaluation, the plants were inoculated with a sporangium mixture of *P. infestans*, in a 10<sup>3</sup> sporangium.mL<sup>-1</sup> concentration, derived from the cities Cajuri, Coimbra, Ervália and Viçosa. The evaluated characteristic was the severity percentage of the disease, presented by the form of the area under the disease progress curve (AACPD). For fruit quality the following characteristics were evaluated: fresh mass (MFF), transversal and longitudinal diameter (DTF and DLF), squashing resistance – firmness (RAF), total solid soluble contents (SST), pH, titratable acidity (AT) and “flavor”. In the late blight resistance control, both additive and non additive gene effects are involved, being most important the additive gene effects. The best genitors were selected, according to late blight resistance, the Heinz H7155 and IPA 6 cultivar, belonging to Group I, and the lineages 163 A and 127 F, belonging to Group II. The best hybrid combination were AP 533 x 73 A, Heinz Caballero x 163 A and APT 410 x

133 A. However, the selected genitors for the late blight resistance were inferior in the characteristics related to fruit quality. The best genitors, for fruit quality, were the Heinz H7155 and IPA 6 cultivar, belonging to Group I, and lineages 127F, 133 A and 64 B, belonging to Group II. The best hybrid combinations were Heinz Caballero x 163 A and Heinz H7155 x 64 B. The hybrid Heinz H7155 x 163 A was the best for intrapopulation genetic improvement seeking late blight resistance. The genitors used in the present work may be part of different improvement programs, according to the researcher's goals, seeking new processing market cultivars that are late blight resistant and with superior fruit quality.

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de cultivares resistentes para controle de doenças é a estratégia mais eficaz e econômica, impedindo ou dificultando o estabelecimento de doenças na lavoura. Nos dias atuais, além do aspecto econômico, o apelo mais expressivo para o uso de cultivares resistentes está relacionado à menor contaminação dos aplicadores de defensivos agrícolas, do solo e dos mananciais hídricos e à redução dos efeitos residuais nos alimentos, implicando diretamente em maior economia e segurança (NOJOSA *et al.*, 2004), bem como a possibilidade de produção orgânica.

Torna-se importante o desenvolvimento de cultivares de tomateiro para indústria resistentes à requeima, por diminuir não só os custos de produção da cultura, mas também os impactos ambientais e de risco à saúde humana causados pela aplicação indiscriminada de defensivos agrícolas.

Entre as exigências impostas pelas indústrias de processamento de tomate destaca-se a qualidade dos frutos, principalmente o alto teor de sólidos solúveis, idealmente entre 5,5 a 6,0 % (quanto maior o teor de sólidos solúveis menos energia para obter a massa); a maior acidez, com pH menor que 4,4 (menor pH, menor tempo para esterilização da massa) e a resistência ao transporte (ALVARENGA, 2000).

No desenvolvimento de cultivares competitivas é importante o estudo da capacidade de combinação, por auxiliar o melhorista na escolha de genitores e combinações híbridas superiores. O termo capacidade combinatória refere-se ao comportamento de linhagens ou cultivares quando utilizadas em combinações híbridas, em um ou vários sentidos entre si, associando-se com esse conceito o efeito transgressivo dos genótipos e a resposta heterótica dos mesmos (SPRAGUE & TATUM, 1942).

Em programas de melhoramento, os cruzamentos dialélicos fornecem informações sobre o tipo de ação gênica predominante e avaliam a heterose e as capacidades geral e específica de combinação, permitindo ao melhorista escolher progenitores baseando-se nos seus valores genéticos e, principalmente, considerando a sua capacidade de se combinarem em híbridos promissores (RAMALHO *et al.*, 1993; CRUZ & REGAZZI, 1997).

A capacidade geral de combinação (CGC) está associada aos efeitos genéticos aditivos e à frequência de genes favoráveis dos genitores enquanto a capacidade específica de combinação (CEC) está associada aos efeitos genéticos não aditivos, devido à dominância e epistasia envolvendo dominância (CRUZ & VENCovsky, 1989).

Com o uso dos cruzamentos dialélicos o melhorista pode conhecer o potencial genético das populações *per se* e em cruzamentos, o que é de grande auxílio na escolha de populações e métodos de melhoramento inter e intrapopulacional a serem utilizados (OLIVEIRA, 2005).

Os objetivos deste estudo foram estudar as capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para resistência à requeima e qualidade de frutos em tomateiro originado de cruzamentos entre variedades comerciais para indústria e linhagens selecionadas para resistência à requeima.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local de Condução dos Experimentos**

Os experimentos foram conduzidos na Horta de Pesquisa da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG. O município de Viçosa está localizado na Região da Zona da Mata de Minas Gerais, a latitude 20° 45' 14'' S, longitude 42° 52' 53'' W e altitude de 648, 74 m. Segundo a classificação de Koppen, o clima regional é do tipo Cwa, com umidade relativa média anual do ar de 80%, temperaturas médias máxima e mínima anual registradas de 26,4 e 14,8 °C, respectivamente, e precipitação média anual de 1221,4 mm.

### **2.2. Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans***

Com o intuito de não selecionar fonte de resistência específica e procurando minimizar os efeitos de genes de resistência vertical, ou seja, de efeito maior, foi utilizado como inóculo uma mistura de esporângios proveniente de diferentes isolados de *P. infestans*, patogênicos ao tomateiro, coletados em diferentes municípios da Região da Zona da Mata de Minas Gerais. Nos locais de coleta (campos de produção de tomate), foram retirados das plantas apenas os folíolos infectados por *P. infestans*, sendo esses colocados dentro de sacos de papel de 1,0 Kg previamente identificados com o nome do município em que foram coletados e armazenados em caixas de isopor à temperatura de 18 °C.

O inóculo foi multiplicado no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os folíolos infectados foram retirados dos sacos de papel e transferidos para bandejas plásticas previamente identificadas, desinfestadas com álcool 70% e forradas com papel toalha umedecido com água destilada. Cada bandeja foi coberta com plástico e mantida em câmara de crescimento a 18 °C por 24 horas, de modo a criar o microclima favorável ao desenvolvimento do patógeno e promover maior esporulação.

Após 24 horas, para cada isolado, foi preparada uma suspensão de esporângios. As partes infectadas dos folíolos em que se observava esporulação do patógeno foram retiradas com o auxílio de uma tesoura e colocadas em um Becker contendo água destilada, previamente identificado de acordo com o local de coleta, sendo levadas para um agitador por 5 minutos, para liberação dos esporângios. Com o auxílio de uma gaze, cada suspensão de esporângios foi separada dos folíolos, homogeneizada, pipetada e colocada em um hemacitômetro, procedendo-se à contagem do número de esporângios em um microscópio óptico. Logo após, ajustou-se a concentração do hemacitômetro para  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, através da fórmula  $C_i V_i = C_f V_f$ , onde  $C_i$  = concentração inicial;  $V_i$  = volume inicial;  $C_f$  = concentração final;  $V_f$  = volume final.

Nas inoculações foram utilizadas suspensões de volumes iguais para cada isolado, os quais constituíram a mistura de esporângios. Após a contagem do número de esporângios, a suspensão foi levada à geladeira por 01 hora, para que houvesse liberação de zoósporos. A inoculação foi feita às 21:00 horas, com o auxílio de um pulverizador costal manual, pulverizando 20 mL da suspensão de esporângios em cada planta. O tempo decorrido entre o preparo da suspensão de esporângios e a inoculação não excedeu duas horas, para que os zoósporos não se tornassem inviáveis (ABREU, 2005).

### **2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima**

Três dias após a inoculação foram feitas as avaliações de severidade da doença. Realizaram-se seis avaliações, de três em três dias.

Para as avaliações de severidade á requeima, os avaliadores foram treinados mediante o uso do programa Severity PRO (NUTTER, 1997), visando corrigir distorções inerentes à estimativa visual de severidade da doença.

No campo, os avaliadores deram notas para cada folha de cada planta, estimando-se a porcentagem de tecido vegetal afetado pela doença, ou seja, a porcentagem de severidade da doença. A nota final de cada planta foi constituída pela média das notas de suas folhas.

## **2.4. Metodologia para Emasculação e Polinização Manuais**

O processo utilizado nas hibridações foi o de emasculação e polinização manuais, de acordo com Maluf (2000), que consistiu em emascular cada botão floral da linhagem materna, polinizando-os com pólen retirado de flores abertas da linhagem paterna.

Na emasculação da linhagem materna as flores já abertas foram removidas, escolhendo-se apenas os botões florais entumescidos. Com a ajuda de uma pinça removeu-se a corola e o cone de anteras dos botões florais entumescidos, ficando o estilo-estigma exposto. Para distinguir na colheita os frutos que continham as sementes  $F_1$ , após realizada a hibridação, foram amarrados fios de lã no pecíolo de cada flor emasculada.

Na extração do pólen, flores recém-abertas foram retiradas da linhagem paterna, no dia da polinização, e, com o auxílio de um estilete, retirou-se o pólen.

Os cruzamentos foram realizados no período da manhã, entre 06:00 e 08:00 horas. Pequenas quantidades de pólen foram colocadas em contato com o estigma das flores emasculadas da linhagem materna, de modo que a massa de pólen aderisse a ele.

## **2.5. Metodologia para Avaliação de Características de Qualidade de Frutos**

Foram avaliadas as seguintes características de qualidade de frutos: massa fresca (g), diâmetros transversal e longitudinal (mm), resistência ao amassamento – firmeza (N), teor de sólidos solúveis totais (expresso em °Brix), acidez total (pH), acidez titulável (expressa em % de ácido cítrico) e ‘sabor’.

Para a avaliação da massa fresca foi utilizada uma balança eletrônica de precisão, marca BEL Engineering, sendo os frutos de cada genótipo pesados. Logo após, para cada genótipo, dividiu-se o peso obtido pelo número de frutos coletados, obtendo-se a massa fresca média por fruto.

Para as avaliações dos diâmetros transversal e longitudinal e resistência ao amassamento (firmeza) de frutos foram tomados ao acaso dez frutos de cada genótipo. Os diâmetros transversal e longitudinal foram medidos com a ajuda de um paquímetro eletrônico marca STARRET e a resistência ao amassamento (firmeza) obtida com a ajuda de um penetrômetro manual com sonda de ponta cilíndrica de oito mm de diâmetro, através da penetração da ponteira no fruto. Após, obteve-se os valores médios para cada caráter, em todos os genótipos avaliados.

Para as avaliações do teor de sólidos solúveis totais, acidez total (pH) e acidez titulável os frutos de cada genótipo foram previamente triturados em um multiprocessador marca ARNO. O teor de sólidos solúveis totais foi obtido por refratometria, utilizando um refratômetro digital portátil marca QUIMIS Aparelhos Científicos Ltda. e a acidez total (pH) obtida com um medidor de pH de bancada, portátil, marca MS TECNOPON Instrumentação Científica. Determinou-se a acidez titulável por titulometria com solução 0,01 mol.L<sup>-1</sup> de NaOH, previamente padronizada com biftalato de potássio, retirando-se 5,0 g de massa da polpa triturada, transferindo-a para um balão volumétrico e completando o volume para 100 mL de água destilada. Após, foram pipetadas 10 mL dessa solução, colocando-a em um erlenmeyer e adicionando três gotas de fenolftaleína 1% e procedendo-se a titulação, sob agitação.

O ‘sabor’ foi obtido pela relação sólidos solúveis totais/acidez titulável, conforme descrito por Kader *et al.* (1978).

## 2.6. Condução dos Experimentos

Foram realizados:

- Dialelo parcial entre variedades comerciais de tomateiro para indústria e cinco linhagens F<sub>8</sub> selecionadas para resistência à requeima (vide Capítulo 2);
- Avaliações para resistência à requeima e características de qualidade de frutos dos híbridos originados dos dialelos;
- Estudo da capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação para resistência à requeima e características de qualidade de frutos.

### 2.6.1. Cruzamentos em Esquema de Dialelo Parcial Entre Seis Variedades Comerciais de Tomateiro para Indústria e Cinco Linhagens F<sub>8</sub> Consideradas Resistentes à Requeima

Para a realização do dialelo foram utilizados os seguintes genótipos:

A) Genótipos de Tomate para Indústria Pertencentes ao Grupo I, Utilizados como Genitores Femininos:

- ‘AP 529’ (*Solanum lycopersicum* L.): tomate de médio brix, média a alta viscosidade, boa coloração e excelente firmeza, sendo indicado para processamento. Produz frutos de formato periforme, com ciclo de 122-125 dias. Apresenta resistência à *Verticillium dahliae* raça 1, *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* raça 1, *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* raça 2, nematóides (todas as raças) e pinta bacteriana raça 0. Comercializado pela Asgrow;
- ‘AP 533’ (*Solanum lycopersicum* L.): ciclo de 125-127 dias, indicada para processamento. Produz frutos de tamanho médio a grande, formato periforme, médio brix, média viscosidade, coloração e firmeza muito boas. Apresenta resistência à *Verticillium dahliae* raça 1, *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* raça 1, *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* raça 2, nematóides (todas as raças) e pinta bacteriana raça 0. Comercializado pela Asgrow;
- ‘APT 410’ (*Solanum lycopersicum* L.): híbrido precoce, indicado para processamento. Frutos com excelente coloração e teor de sólidos solúveis médio a alto, muito firmes, consistentes, amplamente adaptados. Apresenta hábito de crescimento determinado. Resistente a *Verticillium* raça 1, *Fusarium* raças 1 e 2, nematóides e bactéria speck. Comercializado pela Asgrow;
- ‘Heinz Caballero’ (*Solanum lycopersicum* L.): híbrido precoce, com colheita de 75 dias após o transplântio, aproximadamente. Produz frutos firmes e macios, de bom tamanho, com excelente coloração. Apresenta hábito de crescimento indeterminado, podendo ser cultivado em sistema rasteiro, tanto em campo como em casa de vegetação, sendo resistente aos seguintes patógenos: *Verticillium* (raça 1), *Fusarium* (raças 1 e 2), *Meloidogyne incognita*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (raça 0) e *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*. Boa adaptação tanto em climas áridos como úmidos. Boa qualidade de frutos a altas temperaturas. Comercializado pela Heinz;
- ‘Heinz H7155’ (*Solanum lycopersicum* L.): tomate indicado para processamento. Produz frutos de formato oval. Planta grande, prostrada, de

maturidade mediana e pedicelo 'jointless'. Resistente a *Fusarium* raça 1 e *Verticillium* raça 1. Adaptado a climas úmidos. Comercializado pela Heinz;

- 'IPA-6' (*Solanum lycopersicum* L.): apresenta hábito de crescimento determinado. Plantas vigorosas e compactas. Frutos grandes, firmes, de boa coloração, pesando entre 100 a 150 g. Resistente a *Fusarium* raças 1 e 2, *Verticillium* e nematóides. Comercializado pela empresa Hortec.

B) Genótipos Pertencentes ao Grupo II, Utilizados como Genitores Masculinos:

- Cinco linhagens F<sub>8</sub> oriundas do programa de melhoramento de tomateiro para resistência à requeima do Prof. Derly José Henriques da Silva, da Universidade Federal de Viçosa (UFV); linhagens estas provenientes do cruzamento entre *Solanum lycopersicum* L. cv. Santa Clara e *Solanum habrochaites* f. *glabratum*, as quais foram anteriormente selecionadas nas gerações F<sub>5</sub> (Abreu, 2005) e F<sub>8</sub> (vide Capítulo 2) para resistência à requeima.

O dialelo foi realizado em casa de vegetação, durante o período de Novembro de 2006 a Março de 2007.

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. O transplântio das mudas para os canteiros, em casa de vegetação, ocorreu no dia 10/12/2006, quando essas estavam com seis folhas definitivas. O espaçamento utilizado foi de 1,00 x 0,60 m, deixando-se duas hastes por planta.

Os cruzamentos foram feitos conforme Metodologia para Emasculação e Polinização Manuais (item 2.4).

Todas as plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, além de receberem tratamentos culturais normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários.

Foram obtidas trinta combinações híbridas.

### **2.6.2. Avaliações para Resistência à Requeima e Características de Qualidade de Frutos em Trinta Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial e Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência e Qualidade de Frutos**

Foram avaliados para resistência à requeima e características de qualidade de frutos, em dois experimentos simultâneos, trinta híbridos obtidos de cruzamentos em esquema de dialelo parcial (item 2.6.2).

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. Quando as plântulas estavam com quatro folhas definitivas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo substrato comercial para hortaliças, sendo mantidas em casa de vegetação até o momento do transplântio para o campo.

No experimento para avaliação da resistência à requeima o transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 30/05/2007, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários, sendo estes tratamentos interrompidos dez dias antes da inoculação e durante as avaliações para resistência à requeima. Foi deixada apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Para avaliação da resistência à requeima, no dia 11/07/2007 as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de 5 isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomate, oriundos dos municípios de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa (Zona Rural e Horta de Pesquisa da UFV – Horta Velha), conforme Metodologia de Inoculação para *Phytophthora infestans* (item 2.2). Após a inoculação, no dia 12/07/2007 as plantas passaram a ser irrigadas por aspersão, para garantir alta umidade ao ambiente. Com o intuito de garantir a penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, o sistema de irrigação por aspersão foi ligado às 10:00h, e, a partir daí, foi programado para ser ligado três vezes ao dia, às 10:00h, 13:00h e 17:00h, durante vinte minutos. A irrigação por aspersão foi realizada entre os dias 12/07/2007 a 29/07/2007.

As avaliações tiveram início e término nos dias 14/07/2007 e 29/07/2007, respectivamente, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.3).

Entre os dias 11/07/2007 e 29/07/2007, no município de Viçosa/MG foram observadas as temperaturas médias máxima e mínima de 25,5 e 12,8 °C, respectivamente, umidade relativa média de 77% e precipitação de 6,1 mm.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições e 5 plantas/parcela. Os dados analisados foram os valores médios de porcentagem de severidade da doença, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.3), apresentados sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conforme descrito por Campbell & Madden (1990). A partir dos valores de área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD) obtidos estimou-se os efeitos fixos pelo método da melhor estimativa linear não viesada (BLUE) (SAS, 1996), propiciando adequada correção ou ajuste dos dados para os efeitos ambientais, procedendo-se à análise dialética.

No experimento para avaliação de características de qualidade de frutos o transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 04/07/2007, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições e 5 plantas/parcela.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários. Foi deixada apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Foram avaliadas as seguintes características de qualidade de frutos: massa fresca, diâmetros transversal e longitudinal, resistência ao amassamento (firmeza), teor de sólidos solúveis totais, acidez total (pH), acidez titulável e 'Sabor', conforme Metodologia de Avaliação para Características de Qualidade de Frutos (item 2.5). As avaliações para qualidade de frutos foram realizadas entre os dias 12/09/2007 e 18/09/2007, coletando-se apenas frutos maduros dos três primeiros cachos das plantas, ou seja, frutos de coloração amarelo-alaranjado.

Para as características resistência à requeima e de qualidade de frutos, foram estimados os efeitos das capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação dos trinta híbridos. A análise dialética parcial foi realizada de acordo com o método 1 (somente  $F_1$ 's), modelo I (efeito de genótipo fixo), adaptando o modelo proposto por Griffing (1956) para descrever as observações experimentais. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2001).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Estudo da Capacidade de Combinação para Resistência à Requeima e Qualidade de Frutos em Trinta Híbridos Obtidos de Esquema em Dialelo Parcial**

Para a maioria das características avaliadas, observa-se a existência de diferenças significativas para as capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação entre os híbridos (Tabela 1), podendo-se inferir que existem variações genotípicas significativas entre esses. A não significância para as características acidez titulável (AT) e ‘Sabor’ evidencia comportamento médio semelhante entre esses.

Apenas para a característica diâmetro transversal de frutos (DTF), os valores dos quadrados médios referentes às capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação foram significativos ao nível de 1% de probabilidade, evidenciando que tanto os efeitos gênicos aditivos quanto os não aditivos estão envolvidos no controle desse caráter. Para as características área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), massa fresca (MFF), diâmetro longitudinal (DLF), resistência ao amassamento (RAF), sólidos solúveis totais (SST) e pH, para os dois grupos, apenas a capacidade geral de combinação (CGC) foi significativa, indicando a presença de alelos aditivos favoráveis para esses caracteres em alguns dos genitores. Para as características acidez titulável e ‘Sabor’, apenas a capacidade geral de combinação do grupo II foi significativa ao nível de 1% de probabilidade, indicando a presença de alelos favoráveis para esses caracteres em alguns dos genitores do grupo II. A não significância da capacidade geral de combinação do grupo I para as características acidez titulável e ‘Sabor’ é evidência de que há um conjunto de alelos favoráveis entre os genitores.

A superioridade dos valores dos quadrados médios da CGC sobre os da CEC é indicativo da maior importância da variabilidade gênica aditiva sobre a não aditiva. Excluindo a característica 'Sabor', para todas as outras os quadrados médios de CGC foram maiores que os da CEC, evidenciando que os efeitos gênicos aditivos são mais importantes que os não aditivos. Zhang *et al.* (2007) e Ferrão *et al.* (1994), em análise dialélica visando resistência do algodoeiro ao nematóide das galhas *Meloidogyne incognita* raça 3 e estabilidade de híbridos de milho em diferentes localidades, respectivamente, também verificaram maior importância dos efeitos gênicos aditivos.

Com base nestes resultados há possibilidade de se obter novas cultivares de tomate para indústria resistentes à requeima, de longa conservação pós-colheita e qualidade de frutos superiores, a partir de melhoramento intrapopulacional na população resultante da combinação dos genitores superiores.

Uma vez que houve não significância da capacidade específica de combinação (CEC) para a maioria dos caracteres, exceto diâmetro transversal de frutos (DTF), pode-se comentar que os efeitos aditivos dos alelos são superiores aos efeitos não aditivos no conjunto de genitores dos dois grupos.

Baixas estimativas dos efeitos de CGC ( $g_i$ ), positivas ou negativas, indicam genótipos com combinações que não diferem muito da média geral da população dialélica, enquanto altas estimativas de  $g_i$ , positivas ou negativas, indicam que o genitor em questão é muito superior ou inferior aos demais genitores do dialelo, com relação ao desempenho médio das progênies (Cruz & Regazzi, 2001; Sprague & Tatum 1942), evidenciando a importância dos genes predominantemente aditivos.

Na prática, a interpretação dos efeitos de CGC ( $g_i$ ) depende do interesse do melhorista. A seleção para resistência à requeima é feita no sentido negativo, ou seja, quanto menor a AACPD maior o grau de resistência do indivíduo; valores altos e negativos de  $g_i$  são os de maior interesse, pois indicam que a média dos cruzamentos que envolvem os progenitores em questão é menor do que a média geral dos cruzamentos no dialelo. Adicionalmente, esses valores são indicativos da importância dos genes considerados aditivos na variabilidade genética dos materiais utilizados no presente trabalho.

Para a característica área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), as cultivares Heinz H7155 e IPA 6, pertencentes ao grupo I, e as linhagens 163 A e 127 F, pertencentes ao grupo II, com valores negativos para  $g_i$ , indicam boa frequência de alelos favoráveis para resistência à requeima. Os altos valores negativos de  $g_i$  observados para Heinz H7155 (- 17,90) e para a linhagem 163 A (- 20,65) evidenciam a

superioridade desses genitores em relação aos demais (Tabela 2). Entretanto, no presente trabalho, tais genitores foram superiores para poucas características de qualidade de frutos.

A cultivar Heinz H7155, pertencente ao grupo I, além de ter obtido altas estimativas de gi para resistência à requeima, também foi considerada superior para as características de qualidade massa fresca de frutos (MFF), diâmetro transversal de frutos (DTF), resistência ao amassamento de frutos (RAF) e pH. O caráter pH foi selecionado no sentido negativo, de modo a se obter genitores com baixos valores, pois para a indústria frutos ácidos são interessantes, por necessitar menor tempo para esterilização da massa. A cultivar IPA 6, além de apresentar altas estimativas de gi para AACPD (-8,06), também apresentou altos valores de gi para sólidos solúveis totais (SST), outro importante atributo para qualidade de frutos para indústria; quanto maior o teor de sólidos solúveis totais menor energia se gasta para obtenção do extrato de tomate. A linhagem 163 A, com o maior valor de gi para sólidos solúveis totais e 'Sabor', indica boa frequência de alelos favoráveis para esses caracteres.

Entre os genitores pertencentes ao grupo II, para características de qualidade de frutos, destaca-se a superioridade das linhagens 127 F para: massa fresca (MFF) e diâmetro transversal de frutos (DTF); 133 A para: diâmetro longitudinal de frutos (DLF) e 64 B para: resistência ao amassamento de frutos (RAF), devido às altas estimativas de gi para tais caracteres. Entretanto, observa-se que, em relação à resistência à requeima, essas linhagens são consideradas como piores genitores do grupo II.

Diante dos resultados, verifica-se que tais genótipos podem ser utilizados em diferentes programas de melhoramento, de acordo com os objetivos do melhorista, visando à obtenção de novas cultivares.

Abreu (2005), trabalhando com as mesmas linhagens utilizadas no presente trabalho, verificou que as características massa fresca (MFF) e diâmetros transversal (DTF) e longitudinal (DLF) de frutos foram significativamente e positivamente correlacionadas entre si, de modo que a seleção de uma das características pode gerar progressos em qualquer uma das outras. Porém, verificou correlações negativas entre área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e massa fresca de frutos (MFF) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e diâmetro transversal de frutos (DTF), observando que o acréscimo de uma característica leva à diminuição da outra.

No presente trabalho, os frutos das combinações híbridas apresentaram médias de diâmetros transversal (DTF) e longitudinal (DLF) de 23,3648 e 25,9752 mm (Tabela

1), respectivamente, de tamanho pequeno em relação às cultivares comerciais de tomate para indústria e tendendo ao formato “alongado” (Figuras 1 e 2). De acordo com Tanksley *et al.* (2002), as espécies silvestres de tomateiro contém genes/alelos que, quando transferidos para genótipos de frutos grandes, mudam a forma dos frutos de “redondo” para “alongado” ou “quadrado” e que a seleção de variedades com frutos firmes resulta em mudança no formato de “redondo” para “alongado” ou “torpedo-alongado”. Adicionalmente, as variedades comerciais de tomateiro utilizadas como genitores femininos no presente trabalho possuem formato “alongado”. O formato “alongado” das combinações híbridas pode ter sido resultado de complementação gênica entre os genitores utilizados nas hibridações ou mesmo de introgressões de genes mutantes presentes ou nos genitores femininos ou nos genitores masculinos, visto que esses são originados de cruzamento entre espécie cultivada e espécie silvestre. Os autores relatam que estudos genéticos evidenciam que mudanças na forma dos frutos estão associadas com aumentos na sua firmeza, sendo resultados de mutações em três genes. Os frutos avaliados no presente trabalho, além de ter apresentado formato “alongado”, também obtiveram altos valores médios para firmeza (Tabela 1). Existem aproximadamente trinta QTLs para variações em tamanho e formato de frutos, diferentes na magnitude de seus efeitos, sendo que desses trinta menos de dez apresentam a maioria das mudanças em tamanho e formato associados com a domesticação/agricultura do tomateiro. Nas fases seguintes do trabalho de melhoramento, serão necessárias introgressões de genes mutantes para as características tamanho e formato de frutos, de modo a obter uma cultivar de tomateiro para indústria que produza frutos de tamanho grande, de formato “alongado” e firmes, de acordo com as exigências da indústria.

As linhagens pertencentes ao grupo II, utilizadas como genitores masculinos no presente trabalho, são originadas de cruzamento interespecífico entre *S. lycopersicum* (‘Santa Clara’) e *S. habrochaites* f. *glabratum* (acesso BGH 6902). Em cruzamentos interespecíficos, além da resistência, características indesejáveis de frutos presentes nas espécies silvestres são herdadas pelas gerações segregantes (ABREU, 2005). Ewing *et al.* (2000), trabalhando com populações de batata originadas de cruzamentos interespecíficos entre *Solanum tuberosum* e *Solanum berthaultii*, observaram que a resistência quantitativa à requeima tende a estar associada com a maturidade tardia das plantas. Entre as possíveis explicações para essa observação os autores relatam a possibilidade de existência de ligação gênica entre maturidade tardia de plantas e resistência à requeima ou mesmo que um ou mais poligenes que contribuam para

maturidade tardia tenha efeito direto ou pleiotrópico na resistência à requeima. No caso do tomateiro, sugere-se estudos de mapeamento genético com o intuito de verificar a existência de ligação gênica ou mesmo pleiotropia para características comerciais indesejáveis e resistência à requeima.

Os efeitos da capacidade específica de combinação ( $S_{ij}$ ) são estimados como desvios de comportamento do híbrido em relação ao que seria esperado com base na CGC, interessando ao melhorista a combinação híbrida de maior estimativa  $S_{ij}$  que envolva pelo menos um dos pais que tenha apresentado o efeito mais favorável de CGC. Desse modo, esses valores constituem uma indicação importante dos genes que exibem efeitos de dominância e epistasia.

Quanto à resistência à requeima, as melhores combinações híbridas foram AP 533 x 73 A (- 26,31), Heinz Caballero x 163 A (- 23,47) e APT 410 x 133 A (- 23,02) (Tabela 3). A melhor combinação híbrida para tal caráter, AP 533 x 73 A, juntamente com APT 410 x 133 A, não possui genitores com alta CGC, podendo esse fato ser explicado pela existência de complementariedade entre os genitores e manifestação de heterose nas progênies, pelas altas estimativas de CEC. Já a combinação Heinz Caballero x 163 A apresentou pelo menos um genitor com alta CGC, a linhagem 163 A.

Em relação às oito características de qualidade de frutos avaliadas destacam-se as combinações híbridas Heinz Caballero x 163 A e Heinz H7155 x 64 B, as quais possuem genitores com alta CGC para qualidade de frutos, a cultivar Heinz H 7155 e a linhagem 163 A.

O presente trabalho faz parte de um programa de pré-melhoramento (pré-breeding) e teve por objetivos a identificação de genótipos possuidores de genes para resistência à requeima e melhor conhecimento desses *per se* e em cruzamentos. Devido ao interesse do estudo ser a resistência genética à requeima, nessa fase inicial do programa de melhoramento a atenção dispensada as características comerciais dos frutos é secundária. A geração segregante conterá características comerciais indesejáveis, porém com níveis significativamente maiores de resistência à requeima em relação às cultivares comerciais. É necessário o planejamento e realização de novos trabalhos, de modo a introgridir genes de características comerciais desejáveis para o produto final, acarretando em um tempo maior para a obtenção de cultivares de tomate para indústria resistentes à requeima com elevada qualidade de frutos.

#### **4. CONCLUSÕES**

No controle da resistência à requeima, tanto efeitos os gênicos aditivos quanto os não aditivos estão envolvidos, sendo de maior importância os efeitos gênicos aditivos;

Os melhores genitores, quanto à resistência à requeima, foram as cultivares Heinz H7155 e IPA 6, pertencentes ao grupo I, e as linhagens 163 A e 127 F, pertencentes ao grupo II;

O híbrido Heinz H7155 x 163 A foi o mais indicado para programa de melhoramento genético intrapopulacional visando resistência à requeima;

As melhores combinações híbridas, quanto à resistência à requeima, foram AP 533 x 73 A, Heinz Caballero x 163 A e APT 410 x 133 A;

Os melhores genitores, quanto a características de qualidade de frutos, foram as cultivares Heinz H7155 e IPA 6, pertencentes ao grupo I, e as linhagens 127 F, 133 A e 64 B, pertencentes ao grupo II;

As melhores combinações híbridas, quanto a características de qualidade de frutos, foram Heinz Caballero x 163 A e Heinz H7155 x 64 B;

A maioria dos genitores selecionados para resistência à requeima mostraram-se inferiores em relação às características de qualidade de frutos;

Os genitores utilizados no presente trabalho poderão fazer parte de diferentes programas de melhoramento, de acordo com os objetivos do melhorista, visando à obtenção de novas cultivares;

Há possibilidades de se obter novas cultivares de tomate para indústria resistentes à requeima e de qualidade de frutos superiores.

## ANEXOS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Pág. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Tabela 1. Estimativas dos quadrados médios das combinações híbridas capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, médias e desvio padrão das análises de variância referentes à resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos em tomateiro .....   | 118  |
| Tabela 2. Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação ( $g_i$ ) de um dialelo parcial envolvendo onze genótipos (grupos I e II), para resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos, e desvio padrão da diferença entre duas estimativas .....   | 119  |
| Tabela 3. Estimativas dos efeitos da capacidade específica de combinação ( $S_{ij}$ ) de trinta combinações híbridas, em relação à resistência à requeima e oito caracteres de qualidade de frutos em tomateiro, e os desvios padrão da diferença entre duas estimativas da CEC ..... | 121  |
| Figura 1. Frutos de tomateiro do híbrido Heinz H7155 x Linhagem 163 A ....                                                                                                                                                                                                            | 123  |
| Figura 2. Frutos de tomateiro do híbrido Heinz H7155 x Linhagem 163 A ....                                                                                                                                                                                                            | 123  |

Tabela 1. Estimativas dos quadrados médios das combinações híbridas, capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, médias e desvios padrão das análises de variância referentes à resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos em tomateiro. Viçosa-MG, 2007.

| FV         | GL | Quadrados Médios <sup>(1)</sup> |                      |           |                      |                      |                      |                      |                      |                      |
|------------|----|---------------------------------|----------------------|-----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|            |    | AACPD                           | MFF                  | DTF       | DLF                  | RAF                  | SST                  | pH                   | AT                   | ‘Sabor’              |
| Híbridos   | 29 | 1300,7661*                      | 7,4100**             | 10,8425** | 17,5481**            | 4,1057**             | 1,4039**             | 0,0109*              | 0,0091 <sup>ns</sup> | 9,8877 <sup>ns</sup> |
| CGC        | 5  | 1738,3177*                      | 5,0754*              | 18,6137** | 31,0647**            | 7,6952**             | 2,6522**             | 0,0196**             | 0,0114 <sup>ns</sup> | 8,8742 <sup>ns</sup> |
| CGC        | 4  | 2904,5483**                     | 32,3436**            | 31,9980** | 47,4794**            | 9,5622**             | 3,4198**             | 0,0256**             | 0,0237**             | 31,6244**            |
| CEC I x II | 20 | 870,6217 <sup>ns</sup>          | 3,0069 <sup>ns</sup> | 4,6686**  | 8,1826 <sup>ns</sup> | 2,1171 <sup>ns</sup> | 0,6886 <sup>ns</sup> | 0,0057 <sup>ns</sup> | 0,0055 <sup>ns</sup> | 5,7937 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 29 | 665,4191                        | 2,0795               | 1,5136    | 6,0671               | 1,5433               | 0,5600               | 0,0057               | 0,0057               | 8,0499               |
| Média      |    | 68,1367                         | 8,3507               | 23,3648   | 25,9750              | 6,6583               | 6,095                | 4,3828               | 0,3859               | 16,2037              |
| DP         |    | 3,33                            | 0,18                 | 0,16      | 0,31                 | 0,16                 | 0,09                 | 0,009                | 0,009                | 0,36                 |

<sup>ns</sup>, \*\* e \*: respectivamente, não significativo, significativo ao nível de 1% de probabilidade e significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F. AACPD: área abaixo da curva de progresso da doença; MFF: massa fresca de frutos; DTF: diâmetro transversal de frutos; DLF: diâmetro longitudinal de frutos; RAF: resistência ao amassamento de frutos; SST: teor de sólidos solúveis totais; AT: acidez titulável e DP: desvios padrão.

Tabela 2. Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (gi) de um dialelo parcial envolvendo onze genótipos (grupos I e II), para resistência à requeima e oito características de qualidade de frutos, e desvios padrão da diferença entre duas estimativas. Viçosa-MG, 2007.

| Genótipos                             | Efeitos <sup>(1)</sup> |        |        |        |        |        |        |        |         |
|---------------------------------------|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
|                                       | AACPD                  | MFF    | DTF    | DLF    | RAF    | SST    | pH     | AT     | ‘Sabor’ |
| AP 529                                | 18,70                  | - 0,48 | - 1,10 | 0,27   | 0,28   | - 0,15 | 0,26   | - 0,02 | 0,09    |
| AP 533                                | - 2,03                 | - 0,43 | - 1,64 | 2,90   | 0,33   | - 0,14 | 0,32   | 0,001  | - 0,56  |
| APT 410                               | 11,24                  | 0,74   | 1,37   | 0,06   | 0,18   | - 0,18 | 0,29   | 0,005  | - 0,72  |
| Heinz Caballero                       | - 1,94                 | - 0,90 | - 0,90 | - 2,17 | - 1,49 | - 0,43 | 0,19   | - 0,05 | 1,25    |
| Heinz H7155                           | - 17,90                | 0,83   | 1,39   | 0,42   | 1,11   | - 0,14 | - 0,78 | 0,02   | - 1,03  |
| IPA 6                                 | - 8,06                 | 0,24   | 0,89   | - 1,47 | - 0,41 | 1,03   | - 0,03 | 0,40   | 0,98    |
| DP (G <sub>i</sub> - G <sub>j</sub> ) | 11,53                  | 0,64   | 0,55   | 1,10   | 0,55   | 0,33   | 0,03   | 0,03   | 1,26    |
| 127 F                                 | - 2,91                 | 1,63   | 1,65   | 1,15   | - 0,56 | 0,16   | 0,02   | 0,03   | - 0,76  |
| 64B                                   | 22,70                  | 0,76   | 1,39   | 0,57   | 1,11   | 0,25   | - 0,03 | 0,06   | - 1,58  |
| 73 A                                  | - 2,53                 | - 2,73 | - 2,35 | - 3,21 | - 1,02 | - 0,91 | - 0,06 | - 0,04 | - 1,07  |
| 163 A                                 | - 20,65                | 0,11   | - 0,01 | - 0,44 | - 0,25 | 0,47   | 0,02   | - 0,02 | 2,22    |
| 133 A                                 | 3,39                   | 0,22   | - 0,67 | 1,93   | 0,72   | 0,04   | 0,05   | - 0,02 | 1,19    |
| DP (G <sub>j</sub> - G <sub>j</sub> ) | 10,53                  | 0,59   | 0,50   | 1,00   | 0,50   | 0,30   | 0,03   | 0,03   | 1,15    |

AACPD: área abaixo da curva de progresso da doença; MFF: massa fresca de frutos; DTF: diâmetro transversal de frutos; DLF: diâmetro longitudinal de frutos; RAF: resistência ao amassamento de frutos; SST: teor de sólidos solúveis totais; AT: acidez titulável e DP ( $G_i - G_j$ ) e DP ( $G_j - G_i$ ): desvios padrão da diferença entre duas estimativas.

Tabela 3. Estimativas dos efeitos da capacidade específica de combinação (Sij) de trinta combinações híbridas, em relação à resistência à requeima e oito caracteres de qualidade de frutos em tomateiro, e desvios padrão da diferença entre duas estimativas da CEC. Viçosa-MG, 2007.

| Efeitos (Sij)   | Caracteres avaliados |        |        |        |        |        |         |          |         |
|-----------------|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|----------|---------|
|                 | AACPD                | MFF    | DTF    | DLF    | RAF    | SST    | pH      | AT       | ‘Sabor’ |
| AP 529 x 127 F  | - 16,72              | 0,16   | 0,59   | - 1,63 | 0,75   | 0,05   | - 0,01  | 0,01     | - 0,75  |
| AP 529 x 64 B   | - 4,45               | 1,42   | 1,61   | 0,55   | - 1,12 | 0,06   | - 0,008 | 0,02     | - 1,04  |
| AP 529 x 73 A   | 2,08                 | - 0,04 | 1,38   | - 1,08 | - 0,11 | - 0,80 | - 0,05  | - 0,03   | - 0,85  |
| AP 529 x 163 A  | 15,57                | - 1,47 | - 2,62 | - 0,91 | - 0,04 | 0,68   | 0,03    | 0,03     | 0,21    |
| AP 529 x 133 A  | 3,52                 | - 0,06 | - 0,97 | 3,07   | 0,52   | 0,01   | 0,04    | - 0,04   | 2,44    |
| AP 533 x 127 F  | 43,01                | - 0,27 | - 0,26 | 0,50   | - 0,10 | 1,24   | - 0,04  | 0,06     | 0,16    |
| AP 533 x 64 B   | - 18,42              | 0,17   | - 0,27 | 0,54   | - 0,48 | - 0,86 | 0,11    | - 0,11   | 1,92    |
| AP 533 x 73 A   | - 26,31              | 1,42   | 1,55   | 2,24   | 0,46   | 0,70   | - 0,01  | 0,04     | 0,11    |
| AP 533 x 163 A  | - 14,02              | - 0,62 | - 0,87 | - 4,07 | - 1,30 | - 0,98 | - 0,04  | - 0,04   | - 0,71  |
| AP 533 x 133 A  | 15,75                | - 0,70 | - 0,15 | 0,80   | 1,42   | - 0,09 | - 0,01  | 0,03     | - 1,48  |
| APT 410 x 127 F | - 16,61              | - 0,93 | - 1,40 | - 1,30 | 0,55   | 0,08   | 0,004   | - 0,05   | 2,07    |
| APT 410 x 64 B  | 25,97                | - 0,41 | - 0,87 | - 1,57 | 0,26   | 0,13   | - 0,06  | 0,05     | - 0,86  |
| APT 410 x 73 A  | 10,82                | 0,92   | 1,37   | 1,89   | - 0,23 | - 0,31 | 0,05    | - 0,0005 | - 0,60  |
| APT 410 x 163 A | 2,83                 | 1,52   | 2,17   | 1,47   | 0,18   | 0,36   | 0,01    | 0,01     | 0,48    |
| APT 410 x 133 A | - 23,02              | - 1,09 | - 1,29 | - 0,49 | - 0,75 | - 0,26 | - 0,005 | - 0,007  | - 1,09  |

“continua”...

“Tabela 3. Cont.”

|                          |         |        |        |        |        |        |         |         |        |
|--------------------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|
| Heinz Caballero x 127 F  | - 7,75  | - 1,52 | - 0,17 | - 1,23 | 0,48   | 0,08   | 0,008   | - 0,001 | 0,73   |
| Heinz Caballero x 64 B   | - 1,26  | 0,15   | 0,43   | 0,06   | - 0,88 | - 0,09 | 0,09    | - 0,05  | 1,49   |
| Heinz Caballero x 73 A   | 36,35   | - 1,52 | - 2,40 | - 2,03 | 0,47   | 0,11   | - 0,01  | 0,01    | - 0,18 |
| Heinz Caballero x 163 A  | - 23,47 | 2,26   | 1,90   | 3,11   | 1,30   | - 0,13 | - 0,03  | 0,03    | - 1,58 |
| Heinz Caballero x 133 A  | - 3,86  | 0,63   | 0,24   | 0,08   | - 1,37 | - 0,05 | - 0,05  | 0,003   | - 0,46 |
| Heinz H7155 x 127 F      | 1,78    | 1,40   | 0,32   | 2,41   | - 0,26 | - 0,97 | 0,03    | 0,02    | - 2,87 |
| Heinz H7155 x 64 B       | - 9,96  | - 0,53 | 0,36   | 0,66   | 1,48   | 0,44   | - 0,08  | 0,05    | - 1,07 |
| Heinz H7155 x 73 A       | - 17,57 | - 0,45 | - 0,15 | 0,16   | - 1,16 | 0,35   | 0,04    | - 0,02  | 1,72   |
| Heinz H7155 x 163 A      | 25,49   | - 1,31 | - 1,09 | - 1,16 | 0,71   | - 0,13 | 0,01    | - 0,007 | - 0,57 |
| Heinz H7155 x 133 A      | 0,26    | 0,89   | 0,56   | - 2,07 | - 0,75 | 0,30   | - 0,008 | - 0,05  | 2,79   |
| IPA 6 x 127 F            | - 3,71  | 1,16   | 0,92   | 1,25   | - 1,41 | - 0,46 | 0,01    | - 0,05  | 0,65   |
| IPA 6 x 64 B             | 8,13    | - 0,79 | - 1,26 | - 0,23 | 0,74   | 0,23   | - 0,04  | 0,02    | - 0,43 |
| IPA 6 x 73 A             | - 5,37  | - 0,33 | - 1,75 | - 1,18 | 0,58   | - 0,06 | - 0,01  | 0,002   | - 0,18 |
| IPA 6 x 163 A            | - 6,39  | - 0,38 | 0,49   | 1,55   | - 0,84 | 0,21   | 0,005   | - 0,03  | 2,17   |
| IPA 6 x 133 A            | 7,34    | 0,33   | 1,60   | - 1,39 | 0,93   | 0,09   | 0,04    | 0,06    | - 2,20 |
| DP ( $S_{ij} - S_{ik}$ ) | 23,54   | 1,31   | 1,12   | 2,25   | 1,13   | 0,68   | 0,69    | 0,069   | 2,59   |
| DP ( $S_{ij} - S_{kl}$ ) | 20,53   | 1,14   | 0,98   | 1,96   | 0,99   | 0,59   | 0,60    | 0,060   | 2,25   |

AACPD: área abaixo da curva de progresso da doença; MFF: massa fresca de frutos; DTF: diâmetro transversal de frutos; DLF: diâmetro longitudinal de frutos; RAF: resistência ao amassamento de frutos; SST: teor de sólidos solúveis totais; AT: acidez titulável e DP ( $S_{ij} - S_{ik}$ ) e DP ( $S_{ij} - S_{kl}$ ): desvios padrão da diferença entre duas estimativas da CEC.



Figura 1. Frutos de tomateiro do híbrido Heinz H7155 x Linhagem 163 A.



Figura 2. Frutos de tomateiro do híbrido Heinz H7155 x Linhagem 163 A.

**CAPÍTULO 5. TESTES DE AGRUPAMENTOS EM GENÓTIPOS DE  
TOMATEIRO PARA MESA E COMPARAÇÃO DE SUAS CURVAS DE  
PROGRESSO DE REQUEIMA**

## RESUMO

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2008. **Testes de agrupamentos em genótipos de tomateiro para mesa e comparação de suas curvas de progresso de requeima.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Co-orientadores: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva e Glauco Vieira Miranda.

Entre as metodologias disponíveis para a identificação de genótipos resistentes a determinado patógeno cita-se o estudo de curvas de progresso de uma doença, as quais representam as interações que ocorrem entre patógeno e hospedeiro, sob a influência do ambiente. Os objetivos deste trabalho foram aplicar o método de agrupamento de Scott-Knott em genótipos de tomateiro para mesa utilizando a variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e obter curvas de progresso de doença, as quais foram agrupadas de acordo com a análise de cluster. Foram utilizados como genótipos vinte e cinco híbridos de tomateiro, provenientes de cruzamentos entre quatro variedades comerciais mais o acesso BGH 1497 e cinco linhagens F<sub>8</sub> selecionadas para resistência à requeima, juntamente com as testemunhas suscetível e resistente ‘Santa Clara’ e acesso BGH 6902, respectivamente. Foram realizadas seis avaliações para resistência à requeima, em experimento em campo no delineamento em blocos casualizados, onde as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de *Phytophthora infestans*, na concentração de 10<sup>3</sup> esporângios.mL<sup>-1</sup>, oriundos dos municípios mineiros de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa. Para a realização do teste de agrupamento de Scott-Knott, a característica avaliada foi porcentagem de severidade de requeima, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Pelo teste de Scott-Knott, vinte e quatro dos vinte e cinco híbridos foram

alocados no mesmo grupo da testemunha resistente, o acesso BGH 6902, apresentando comportamento semelhante ao da testemunha resistente. Quatro desses vinte e quatro híbridos, Alambra x 127 F, Ikram x 163 A, Ikram x 127 F e Ikram x 73 A, apresentaram médias de AACPD inferiores à da testemunha resistente. O híbrido Alambra x 133 A foi alocado para um grupo distinto e não foi observado comportamento semelhante ao das testemunhas, sugerindo que tal genótipo possa ser classificado como moderadamente resistente. Ajustou-se o modelo exponencial aos dados médios temporais de porcentagem de severidade de requeima obtendo-se as estimativas geradas para  $y_0$  e  $r$ , as quais foram submetidas à análise multivariada. As médias ajustadas por quadrados mínimos foram submetidas à análise de agrupamento, obtendo-se os valores dos desvios-padrão da raiz do quadrado médio em relação ao número de cluster, gerando um gráfico para a identificação do número ótimo de cluster. Através do número ótimo de cluster foi gerado um dendograma, no qual foi verificado quais os genótipos que pertenciam aos diferentes grupos obtidos pela discriminação estatística em relação aos vetores dos parâmetros  $y_0$  e  $r$ . Para cada grupo obtido foi gerada uma curva de progresso da doença. Após, comparou-se as diferentes curvas de progresso da requeima geradas para cada grupo. Pela análise de cluster foram obtidos oito grupos. As testemunhas suscetível e resistente foram alocadas para grupos distintos e nenhum dos vinte e cinco híbridos foram alocados em seus grupos, evidenciando que os híbridos não se comportam de maneira semelhante à cv. Santa Clara, mas também não se comportam do mesmo modo que o acesso BGH 6902, quanto à taxa de progresso de requeima. Nessa análise, os híbridos com as menores taxas de progresso de doença foram Ikram x 73 A, Nemo-Netta x 133 A, Ikram x 163 A, Nemo-Netta x 163 A, pertencentes ao Grupo I. Já os híbridos BGH 1497 x 133 A, Fanny x 127 F, Alambra x 73 A, Alambra x 133 A, pertencentes ao Grupo II, apresentaram maior taxa de progresso de requeima. Pelo teste de Scott-Knott obteve-se apenas três grupos para os genótipos avaliados enquanto pela análise de cluster foram obtidos oito grupos. Apesar dos diferentes parâmetros avaliados, AACPD,  $y_0$  e  $r$ , verifica-se que os híbridos Ikram x 163 A e Ikram x 73 A, que no teste de Scott-Knott tiveram duas das menores médias de AACPD, inferiores à da testemunha resistente BGH 6902, na análise de cluster ficaram alocados no grupo com menor taxa de progresso de requeima. Os resultados obtidos evidenciam a importância da resistência genética à requeima, contribuindo para uma menor ocorrência da doença no campo.

## ABSTRACT

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march of 2008. **Gathering tests in fresh market tomato genotypes and late blight progress curves comparison.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-advisers: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva and Glauco Vieira Miranda.

Among available methodologies for certain pathogen resistant genotype identification it is mentioned the progress curve of a given disease, which represents the relations between pathogen and host, under the environment influence. The objectives of this work were to apply the Scott-Knott gathering method in fresh market tomato genotypes using the area under the disease progress curve (AACPD) and to obtain the disease progress curve, which were gathered according to cluster analysis. Twenty five hybrid tomato plants were used as genotypes, originating from crossings between four commercial varieties plus the access BGH 1497 and five F<sub>8</sub> lineages selected for late blight resistance, along with the susceptible testimony and ‘Santa Clara’ resistant and access BGH 6902, respectively. Six evaluations were realized for late blight resistance, in a field experiment in the outlining by casual blocks, where the plants were inoculated with a sporangium mixture of *Phytophthora infestans*, in a 10<sup>3</sup> sporangium mL<sup>-1</sup> concentration, derived from the cities Cajuri, Coimbra, Ervália and Viçosa. For the accomplishment of the Scott-Knott gathering test, the evaluated characteristic was the late blight severity percentage, presented as the form of the area under the disease progress curve (AACPD). By the Scott-Knott test, twenty four out of the twenty five hybrids were allocated in the same resistant testimony, the BGH 6902, presenting similar behavior to the resistant testimony. Four out of these twenty four, Alambra x 127 F, Ikram x 163 A, Ikram x 127 F and Ikram x 73 A presented AACPD averages

inferior to the resistant testimony. The hybrid Alambra x 133 A was allocated to a distinguished group and similar behavior was not observed to the testimonies, suggesting that this genotype may be classified as moderately resistant. The exponential Model was adjusted to the averages temporal data of late blight severity percentage obtaining the generated estimation for  $y_0$  and  $r$ , which were submitted to a multi variety analysis. The adjusted averages by minimal squares were submitted to a gathering analysis, obtaining the standard deviation value of the root of the average square related to the cluster number, generating a graphic for the optimaç cluster number identification. Through the optima cluster number a dendrogram was generated, verifying which genotypes belonged to different groups obtained by statistics discrimination related to the parameters vectors  $y_0$  and  $r$ . For each obtained group a disease progress curve was generated. Afterwards, different late blight progress curves were compared for each group. By the cluster analysis, eight groups were obtained. The susceptible and resistant testimonies were allocated in distinguished groups and none of the twenty five hybrids were allocated in their groups, making evident that the hybrids do not behave as cv. 'Santa Clara', but also do not behave the same way as the access BGH 6902, according to the late blight progress rate. In this analysis, the hybrids with the lower disease progress rates were Ikram x 73 A, Nemo-Netta x 133 A, Ikram x 163 A and Nemo-Netta x 163 A, belonging to Group I. On the other hand, the hybrids BGH 1497 x 133 A, Fanny x 127 F, Alambra x 73 A and Alambra x 133 A, belonging to Group II presented a higher late blight progress rate. By the Scott-Knott test, only three groups were obtained for the evaluated genotypes while by the cluster analysis eight groups were obtained. Although the different evaluated parameters, AACPD,  $y_0$  and  $r$ , it was verified that the hybrids Ikram x 163 A and Ikram x 73 A, that in the Scott-Knott test had two of the lowest averages of AACPD, inferior to the BGH 6902 resistant testimony, in the cluster analysis they were allocated in the group with the lower late blight progress rate. The obtained results make evident the importance of genetic late blight resistance, contributing to a smaller occurrence in the field.

## 1. INTRODUÇÃO

Entre as metodologias disponíveis para a identificação de genótipos resistentes a determinado patógeno cita-se o estudo de curvas de progresso de uma doença (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004; WAGGONER, 1986). A curva de progresso da doença é expressa pela plotagem da proporção de doença versus o tempo (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004; MICHEREFF, \_\_\_\_\_), representando todas as interações que ocorrem entre patógeno e hospedeiro, sob a influência do ambiente (TENG & ZADOCKS, 1980).

Uma forma prática e objetiva de avaliar o comportamento da requeima no tomateiro é por meio do ajuste de modelos de progresso de doença, cujos parâmetros possibilitem interpretação biológica, evidenciando que a taxa de progresso da doença é diretamente proporcional à quantidade de doença (e indiretamente, ao inóculo) (CAMPBELL & MADDEN, 1990).

Quando o pesquisador dispõe de vários tratamentos é usual comparar a forma da curva de progresso da doença entre estes. Quando o número de tratamentos é elevado, alguns métodos tradicionais que realizam comparações duas a duas, como os descritos por Campbell & Maden (1990), tornam-se inviáveis.

De acordo com Khattree & Naik (2000), a utilização da técnica multivariada de agrupamento, também conhecida como análise de cluster, pode ser uma boa solução para este problema, uma vez que tende a agrupar tratamentos com curvas semelhantes, ou seja, com vetores de parâmetros de modelo de progresso estatisticamente iguais.

Os objetivos deste trabalho foram aplicar o método de agrupamento de Scott-Knott em genótipos de tomateiro para mesa utilizando a variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e obter curvas de progresso de doença, as quais foram agrupadas de acordo com a análise de cluster.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local de Condução do Experimento**

O experimento foi conduzido na Horta de Pesquisa da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG. O município de Viçosa está localizado na Região da Zona da Mata de Minas Gerais, a latitude 20° 45' 14'' S, longitude 42° 52' 53'' W e altitude de 648, 74 m. Segundo a classificação de Koppen, o clima regional é do tipo Cwa, com umidade relativa média anual do ar de 80%, temperaturas médias máxima e mínima anual registradas de 26,4 e 14,8 °C, respectivamente, e precipitação média anual de 1221,4 mm.

### **2.2. Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans***

Com o intuito de não selecionar fonte de resistência específica e procurando minimizar os efeitos de genes de resistência vertical, ou seja, de efeito maior, foi utilizado como inóculo uma mistura de esporângios proveniente de isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomateiro, coletados em diferentes municípios da Região da Zona da Mata de Minas Gerais. Nos locais de coleta (campos de produção de tomate), foram retirados das plantas apenas os folíolos infectados por *P. infestans*, sendo esses colocados dentro de sacos de papel de 1,0 Kg previamente identificados com o nome do município em que foram coletados e armazenados em caixas de isopor à temperatura de 18 °C.

O inóculo foi multiplicado no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os folíolos infectados foram retirados dos sacos de papel e transferidos para bandejas plásticas previamente identificadas, desinfestadas com álcool 70% e forradas com papel toalha umedecido com água destilada. Cada bandeja foi coberta com plástico e mantida em câmara de crescimento a 18 °C por 24 horas, de modo a criar o microclima favorável ao desenvolvimento do patógeno e promover maior esporulação.

Após 24 horas, para cada isolado, foi preparada uma suspensão de esporângios. As partes infectadas dos folíolos em que se observava esporulação do patógeno foram retiradas com o auxílio de uma tesoura e colocadas em um Becker contendo água destilada, previamente identificado de acordo com o local de coleta, sendo levadas para um agitador por 5 minutos, para liberação dos esporângios. Com o auxílio de uma gaze, cada suspensão de esporângios foi separada dos folíolos, homogeneizada, pipetada e colocada em um hemacitômetro, procedendo-se à contagem do número de esporângios em um microscópio óptico. Logo após, ajustou-se a concentração do hemacitômetro para  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, através da fórmula  $C_i V_i = C_f V_f$ , onde  $C_i$  = concentração inicial;  $V_i$  = volume inicial;  $C_f$  = concentração final;  $V_f$  = volume final.

Nas inoculações foram utilizadas suspensões de volumes iguais para cada isolado, os quais constituíram a mistura de esporângios. Após a contagem do número de esporângios, a suspensão foi levada à geladeira por 01 hora, para que houvesse liberação de zoósporos. A inoculação foi feita às 21:00 horas, com o auxílio de um pulverizador costal manual, pulverizando 20 mL da suspensão de esporângios em cada planta. O tempo decorrido entre o preparo da suspensão de esporângios e a inoculação não excedeu duas horas, para que os zoósporos não se tornassem inviáveis (ABREU, 2005).

### **2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima**

Três dias após a inoculação foram feitas as avaliações de severidade da doença. Realizaram-se seis avaliações, de três em três dias.

Para as avaliações de severidade à requeima, os avaliadores foram submetidos a um treinamento mediante o uso do programa Severity PRO (NUTTER, 1997), visando corrigir distorções inerentes à estimativa visual de severidade da doença.

No campo, os avaliadores deram notas para cada folha de cada planta, estimando-se a porcentagem de tecido vegetal afetado pela doença, ou seja, a porcentagem de severidade da doença. A nota final de cada planta foi constituída pela média das notas de suas folhas.

## **2.4. Metodologia para Ajuste do Modelo Exponencial $y = y_0 \exp(r_e t)$**

Realizou-se seis avaliações para resistência à requeima, de três em três dias, obtendo-se dados médios temporais de porcentagem de severidade de requeima para cada planta de cada genótipo avaliado, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.3).

A severidade de doença aumenta com o tempo, até que esta se estabiliza. Devido à coleta dos dados ter sido efetuada antes de se observar o ponto de inflexão, ou seja, ponto em que a doença avança com maior velocidade, não foi possível verificar a forma sigmóide da curva e os modelos mais complexos (Monomolecular, Logístico e Gompertz), que contemplam a fase de estabilização da doença, não puderam ser utilizados. Esse impedimento é devido ao fato destes modelos serem não-lineares, cujo ajuste necessita de métodos iterativos, que, nessa situação, não atingem a convergência, inviabilizando o processo de estimação.

Uma solução para este problema é adotar modelos mais simples, como o Exponencial, que descreve apenas o desenvolvimento da doença em sua fase inicial, e o seu principal parâmetro é caracterizado pela taxa de progresso até o ponto de inflexão. Portanto, ajustou-se o modelo exponencial, dado por  $y = y_0 \exp(r_e t)$ , aos dados médios temporais de porcentagem de severidade de requeima para descrever o comportamento da severidade de requeima ( $y$ ) em função do tempo, sendo  $y_0$  a quantidade de inóculo inicial,  $r_e$  a taxa de progresso para o modelo exponencial e  $t$  o tempo necessário para a ocorrência da intensidade  $y$  de doença. Tal ajuste foi realizado para cada repetição de cada genótipo, mediante o PROC MODEL (SAS, 1996), o que possibilitou a obtenção de um arquivo com as estimativas geradas por  $y_0$  e  $r_e$ .

Realizou-se uma análise de variância multivariada utilizando o PROC GLM (SAS, 1996) com a opção MANOVA, com o intuito de avaliar a influência dos genótipos sobre as estimativas dos parâmetros por meio do critério de Roy (KHATTREE & NAIK, 2000). Sendo constatada essa influência, extraíram-se as médias ajustadas por quadrados mínimos (LSMEANS), submetendo-as à análise de

agrupamento no PROC CLUSTER (SAS, 1996) pelo método centróide. Nessa última análise obtiveram-se os valores dos desvios-padrão da raiz do quadrado médio (RMSSTD) em relação ao número de clusters, gerando um gráfico que disponibilizou a identificação do número ótimo de cluster em relação à máxima curvatura.

Como complemento dessa análise utilizou-se o PROC TREE (SAS, 1996) para visualizar o dendograma e verificar quais genótipos pertenciam aos diferentes grupos obtidos pela discriminação estatística em relação aos vetores dos parâmetros  $y_o$  e  $r_e$ .

## **2.5. Condução do Experimento**

### **2.5.1. Genótipos Utilizados**

Foram utilizados como genótipos híbridos provenientes de cruzamentos entre quatro variedades comerciais de tomateiro para mesa mais o acesso BGH 1497 e cinco linhagens  $F_8$  selecionadas para resistência à requeima (vide Capítulo 3). Além dos híbridos, foram incluídas nas análises a cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902, testemunhas suscetível e resistente à requeima, respectivamente.

### **2.5.2. Avaliações para Resistência à Requeima em Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro e Análise Temporal do Progresso da Requeima**

Foram avaliados para resistência à requeima vinte e cinco híbridos, obtidos de cruzamentos entre variedades comerciais pertencentes ao grupo de tomate para mesa mais o acesso do BGH-UFV '1497' e cinco linhagens selecionadas para resistência à requeima (vide Capítulo 3), além da cultivar Santa Clara e do acesso BGH 6902, utilizados com testemunhas suscetível e resistente, respectivamente.

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. Quando as plântulas estavam com quatro folhas definitivas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo substrato comercial para hortaliças, sendo mantidas em casa de vegetação até o momento do

transplântio para o campo. O transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 30/05/2007, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários, sendo os tratamentos fitossanitários interrompidos dez dias antes da inoculação e durante as avaliações para resistência à requeima. Deixou-se apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Para avaliação da resistência à requeima, no dia 11/07/2007 as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de cinco isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomate, oriundos dos municípios de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa (Zona Rural e Horta de Pesquisa da UFV – Horta Velha), conforme Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans* (item 2.2). Após a inoculação, no dia 12/07/2007 as plantas passaram a ser irrigadas por aspersão, para garantir alta umidade ao ambiente. Com o intuito de garantir a penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, o sistema de irrigação por aspersão foi ligado às 10:00h, e, a partir daí, foi programado para ser ligado três vezes ao dia, às 10:00h, 13:00h e 17:00h, durante vinte minutos. A irrigação por aspersão foi realizada entre os dias 12/07/2007 a 29/07/2007.

As avaliações tiveram início e término nos dias 14/07/2007 e 29/07/2007, respectivamente, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.3).

Entre os dias 11/07/2007 e 29/07/2007, o município de Viçosa/MG apresentou temperaturas médias máxima e mínima de 25,5 e 12,8 °C, respectivamente, umidade relativa média de 77% e precipitação de 6,1 mm.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições e 5 plantas/parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de Scott-Knott (1974), sendo a característica avaliada a porcentagem de severidade de requeima, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Ajustou-se o modelo exponencial  $y = y_0 \exp(r_e t)$  aos valores médios temporais de porcentagem de severidade de requeima para cada planta de cada genótipo. A partir das estimativas geradas para  $y_0$  e  $r_e$ , através da análise de cluster, foi gerado um dendograma, identificando-se os diferentes grupos quanto à taxa de progresso de requeima, conforme Metodologia para Ajuste do Modelo Exponencial  $y = y_0 \exp(r_e t)$  (item 2.4). Para cada grupo obtido foi gerada uma curva de progresso da doença. Após, comparou-se as diferentes curvas de progresso da requeima geradas para cada grupo.

Adicionalmente, comparou-se os resultados obtidos nos testes de agrupamento de Scott-Knott e “cluster”.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Análise de Variância e Teste de Agrupamento de Scott-Knott para a Característica Resistência à Requeima em Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro

Observou-se que os genótipos avaliados diferiram estatisticamente entre si, pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância referente à característica área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) na cultivar de tomateiro Santa Clara, no acesso BGH 6902 e em vinte e cinco híbridos. Viçosa-MG, 2007.

| <b>FV</b>   | <b>GL</b> | <b>QM</b>   |
|-------------|-----------|-------------|
| Blocos      | 1         | 18497,6282  |
| Tratamentos | 26        | 5166,2856** |
| Resíduo     | 25        | 461,3149    |
| Média       | 88,9622   |             |
| CV (%)      | 24,14     |             |

\*\* significativo a 1% pelo teste F.

Foi possível visualizar a fase inicial da doença 3 a 6 dias após a inoculação da requeima. Verificou-se para as testemunhas suscetível e resistente, cv. Santa Clara e acesso BGH 6902, respectivamente, valores médios extremos de AACPD, correspondentes à maior suscetibilidade (cv. Santa Clara) e maior resistência (acesso BGH 6902). As médias de AACPD dos vinte e cinco híbridos avaliados e das

testemunhas suscetível e resistente foram 81,16, 288 e 53,50, respectivamente; os vinte e cinco híbridos avaliados foram posicionados entre os genitores suscetível e resistente, porém com tendência de maior aproximação do genitor resistente (Figura 1).

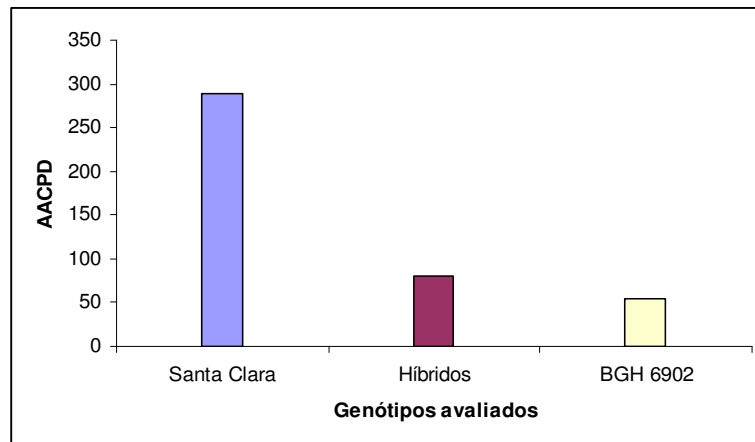


Figura 1. Valores médios de AACPD em plantas de tomateiro da cv. Santa Clara, de vinte e cinco híbridos e do acesso BGH 6902, avaliados para resistência a requeima. Viçosa-MG, 2006.

Ao comparar as médias de AACPD da cultivar suscetível Santa Clara (288) e dos vinte e cinco híbridos (81,16) verificou-se diferença de 206 unidades, evidenciando que tais híbridos possuem bom nível de resistência à requeima. Analisando-se os resultados obtidos observa-se que a introgressão de genes de resistência à requeima presentes em *Solanum habrochaites* f. *glabratum* para cultivar comercial foi efetiva, possibilitando reduções nos níveis de desenvolvimento da doença.

Pelo teste de Scott-Knott foram formados três grupos. Vinte e quatro híbridos ficaram no mesmo grupo da testemunha resistente, o acesso BGH 6902. Em quatro desses vinte e quatro híbridos (Alambra x 127 F, Ikram x 163 A, Ikram x 127 F e Ikram x 73 A) foram observadas médias de AACPD inferiores à da testemunha resistente. O híbrido Alambra x 133 A e a cultivar suscetível Santa Clara ficaram alocados em dois grupos distintos (Tabela 2). Novamente, foi evidenciado que a maioria dos híbridos apresentaram bons níveis de resistência à requeima.

Tabela 2. Médias de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da cultivar de tomateiro Santa Clara, do acesso BGH 6902 e de vinte e cinco híbridos. Viçosa-MG, 2007.

| Tratamentos      | Médias de AACPD | Tratamentos        | Médias de AACPD |
|------------------|-----------------|--------------------|-----------------|
| Alambra x 127 F  | 26,00 c         | Ikram x 127 F      | 40,00 c         |
| Alambra x 64 B   | 66,00 c         | Ikram x 64 B       | 62,00 c         |
| Alambra x 73 A   | 85,00 c         | Ikram x 73 A       | 50,00 c         |
| Alambra x 163 A  | 69,50 c         | Ikram x 163 A      | 28,00 c         |
| Alambra x 133 A  | 185,00 b        | Ikram x 133 A      | 80,00 c         |
| BGH 1497 x 127 F | 59,50 c         | Nemo-Netta x 127 F | 77,50 c         |
| BGH 1497 x 64 B  | 83,00 c         | Nemo-Netta x 64 B  | 73,50 c         |
| BGH 1497 x 73 A  | 128,50 c        | Nemo-Netta x 73 A  | 82,50 c         |
| BGH 1497 x 163 A | 92,00 c         | Nemo-Netta x 163 A | 77,00 c         |
| BGH 1497 x 133 A | 106,00 c        | Nemo-Netta x 133 A | 59,00 c         |
| Fanny x 127 F    | 114,00 c        | 'Santa Clara'      | 288,00 a        |
| Fanny x 64 B     | 103,50 c        | BGH 6902           | 53,50 c         |
| Fanny x 73 A     | 105,00 c        |                    |                 |
| Fanny x 163 A    | 74,00 c         |                    |                 |
| Fanny x 133 A    | 102,50 c        |                    |                 |

Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott.

### 3.2. Análise Temporal do Progresso da Requeima em Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro

Foi ajustado o modelo exponencial, cujo  $R^2$  médio foi de 99%. As estimativas dos parâmetros foram utilizadas como variáveis aleatórias independentes na análise de variância multivariada, onde observou-se, para todas as quatro estatísticas utilizadas, efeito significativo dos genótipos de tomateiro sobre o vetor de parâmetros  $y_0$  e  $r$  (Tabela 3), ao nível de 1% de probabilidade, evidenciando que para os vinte e cinco híbridos, a cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902 foram ajustadas diferentes curvas de progresso de requeima. Segundo Souza (2006), o qual avaliou o progresso da mancha parda do pessegueiro, o modelo exponencial apresentou ótimo ajuste, com  $R^2$  variando entre 0,85 e 0,94 para todos os tratamentos considerados. Ayitondji e Wydra (2004) também descreveram o progresso de *Ralstonia solanacearum* em genótipos de tomate por meio do modelo exponencial e relataram que foi possível detectar genótipos tolerantes de acordo com parâmetros derivados da curva de progresso.

Tabela 3. Estatísticas utilizadas para verificação do efeito de tratamentos sobre o vetor de parâmetros  $y_0$  e  $r$ . Viçosa-MG, 2007.

| Estatística      | Valor da Estatística | Valor de F | GL | Pr>F   |
|------------------|----------------------|------------|----|--------|
| Wilks' Lambda    | 0,03640271           | 3,91       | 52 | <,0001 |
| Pillai's Trace   | 1,60541669           | 3,91       | 52 | <,0001 |
| Hotelling-Lawley | 8,83939471           | 3,94       | 52 | <,0001 |
| Roy's Root       | 5,79905776           | 5,58       | 26 | <,0001 |

Portanto, para complementar esta análise de variância tornou-se necessário a aplicação de um teste de agrupamento multivariado, sendo o mais usual a análise de cluster. Entretanto, o número de clusters é determinado subjetivamente, de acordo com o dendograma apresentado na Figura 2. Para evitar este problema, foram confeccionados gráficos com o objetivo de selecionar o número ótimo de cluster dado pelo ajustamento de modelos de regressão segmentado, cujo ponto de transição representa este número ótimo (Figura 3).

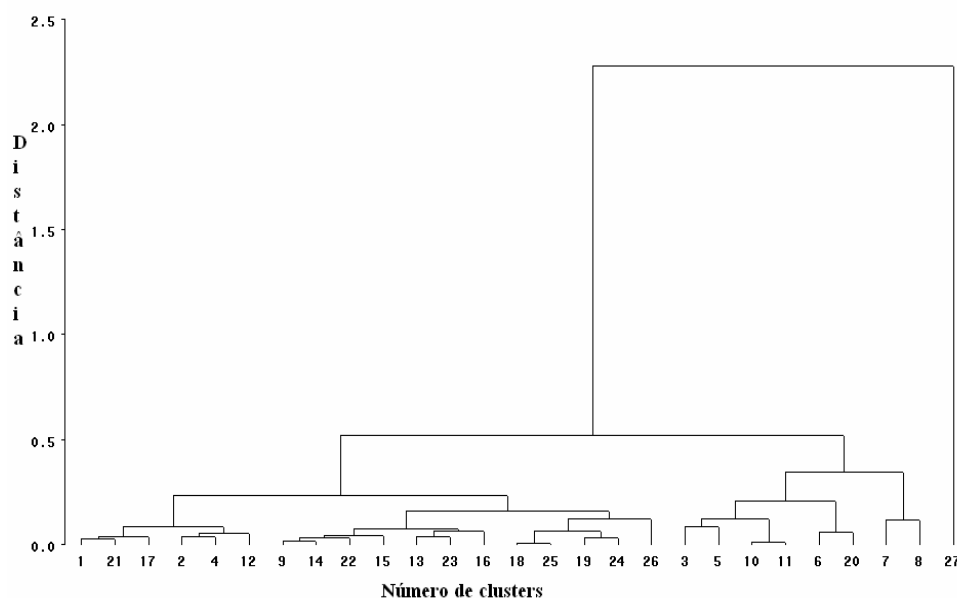


Figura 2. Dendograma de dissimilaridade genética quanto à taxa de progresso de requeima entre vinte e sete genótipos de tomateiro, obtido por meio da análise de cluster, com base em duas características quantitativas. Viçosa-MG, 2007.

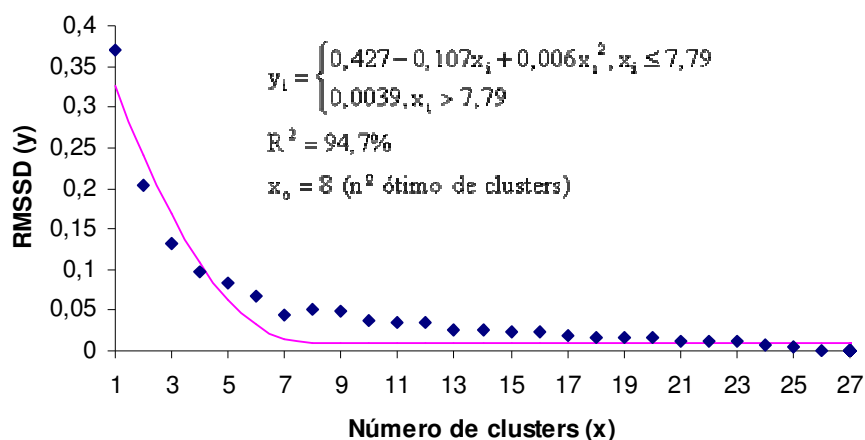


Figura 3. Modelo de regressão segmentado, representando o número ótimo de cluster. Viçosa-MG, 2007.

Através do número ótimo de cluster, estabelecido por meio da análise gráfica dos desvios-padrão da raiz do quadrado médio, foram obtidos oito grupos, indicando a existência de variabilidade quanto à curvas de progresso da requeima.

A cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902, utilizados como testemunhas suscetível e resistente à requeima, respectivamente, ficaram alocados em grupos distintos. Os vinte e cinco híbridos não ficaram alocados nos mesmos grupos pertencentes às testemunhas (Tabela 4).

Tabela 4. Grupos obtidos pela análise de cluster, com base em duas características quantitativas em vinte e cinco híbridos de tomateiro, cultivar Santa Clara (*S. lycopersicum* L.) e acesso BGH 6902 (*S. habrochaites* f. *glabratum*). Viçosa-MG, 2007.

| Grupos | Genótipos                                                                                                        |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I      | Ikram x 73 A, Nemo-Netta x 133 A, Ikram x 163 A, Nemo-Netta x 163 A                                              |
| II     | BGH 1497 x 133 A, Fanny x 127 F, Alambra x 73 A, Alambra x 133 A                                                 |
| III    | BGH 1497 x 73 A, Fanny x 163 A, Nemo-Netta x 64 B, Fanny x 73 A, Nemo-Netta x 73 A, Fanny x 133 A, Ikram x 127 F |
| IV     | Alambra x 127 F, Nemo-Netta x 127 F, BGH 1497 x 64 B, Alambra x 64 B, Alambra x 163 A, Fanny x 64 B              |
| V      | BGH 1497 x 127 F, Ikram x 133 A                                                                                  |
| VI     | BGH 1497 x 64 B, BGH 1497 x 133 A                                                                                |
| VII    | BGH 6902                                                                                                         |
| VIII   | ‘Santa Clara’                                                                                                    |

De acordo com os resultados da Tabela 4 e Figura 4, verificou-se que os vinte e sete genótipos foram alocados para oito diferentes grupos, de acordo com os vetores dos parâmetros  $y_0$  e  $r$ .

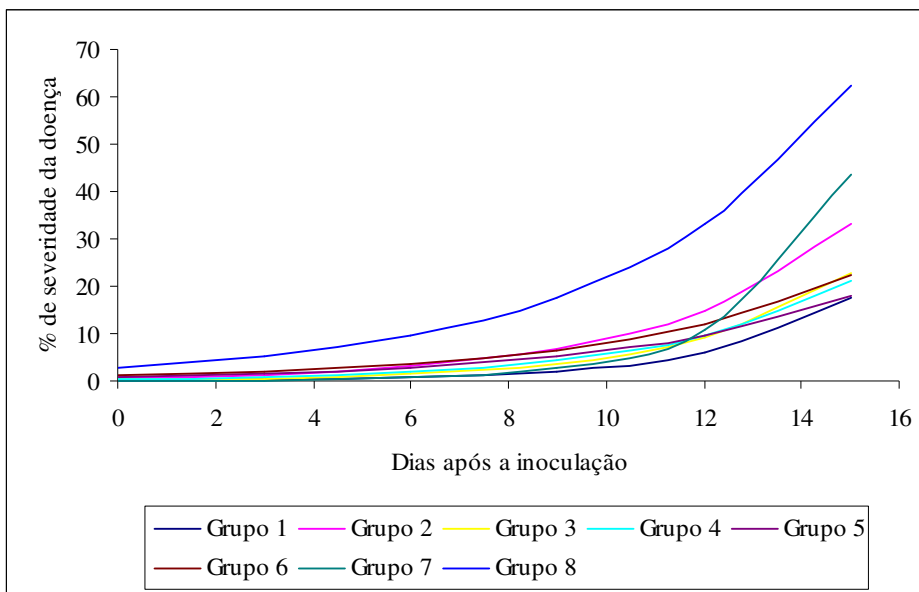


Figura 4. Curvas de progresso da requeima obtidas para oito grupos de tomateiro contendo diferentes genótipos. Viçosa-MG, 2007.

A cultivar Santa Clara foi alocada para o grupo VIII, com a maior taxa de progresso de doença, confirmando sua suscetibilidade à requeima. O acesso BGH 6902, pertencente ao grupo VII, apresentou comportamento diferenciado em relação aos demais genótipos, quanto à taxa de progresso da doença, pois até o décimo segundo dia após a inoculação foi observado taxa de progresso de doença muito inferior à da cultivar Santa Clara, pertencente ao grupo VIII. Após este período, a taxa de progresso da requeima se elevou abruptamente, superando as proporções finais de doença obtidas para os grupos I, II, III, IV, V e VI. Foi observado para a curva de progresso de requeima obtida, para o acesso em questão, proporção final de doença de cerca de 69% do valor observado para a cultivar Santa Clara, pertencente ao Grupo VIII. Diante desse resultado, sugere-se a realização de novos estudos sobre taxa de progresso da doença envolvendo tal acesso, visto que é considerado resistente à requeima.

O desenvolvimento da requeima em tomateiro é dependente do genótipo, das condições climáticas e do manejo aplicado à cultura. Nas curvas de progresso de requeima foi evidenciada menor taxa de progresso da doença no Grupo I, sendo a proporção final de doença observada cerca de 28% em relação ao valor obtido para a

cultivar Santa Clara, pertencente ao Grupo VIII. No presente trabalho, em função das condições climáticas e do manejo aplicado à cultura ter sido o mesmo para todos os genótipos, pode-se inferir que a menor taxa de progresso de requeima observada para o Grupo I foi ocasionada por diferença na resistência genética entre genótipos, sendo os híbridos Ikram x 73 A, Nemo-Netta x 133 A, Ikram x 163 A e Nemo-Netta x 163 A com maior resistência à requeima. Zadoks & Schein (1979), citados por Jesus Júnior *et al.* (2004), verificaram taxas de infecção aparente ( $r$ ), expressas em unidades.dia<sup>-1</sup>, de 0,42 e 0,16 para variedades de batata suscetível e moderadamente resistente à requeima, respectivamente. Nunes *et al.* (2002), trabalhando com análise de curvas de progresso de vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiro, verificaram que plantas enxertadas apresentaram menor incidência de doença em relação à plantas obtidas por multiplicação de sementes, devido, provavelmente, à sua maior resistência genética. Os resultados obtidos no presente trabalho e no trabalho de Zadoks & Schein (1979) demonstram a importância da resistência genética à requeima, contribuindo para uma menor ocorrência da doença no campo.

De acordo com Jesus Júnior *et al.* (2004), *Phytophthora infestans* é um patógeno policíclico, que produz estruturas de reprodução de forma contínua durante a presença do hospedeiro, gerando vários ciclos da doença durante o mesmo plantio e produzindo grande quantidade de inóculo durante a safra do tomateiro, contribuindo, desse modo, para o rápido progresso da doença na cultura. O aumento da população de *Phytophthora infestans*, em hospedeiro suscetível, sob condições favoráveis, pode ser exponencial em curto intervalo de tempo. Por ser um patógeno policíclico, devido suas características de reprodução, o manejo de *Phytophthora infestans* no campo necessita de especial atenção.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que, em comparação com a cultivar Santa Clara, os híbridos pertencentes ao grupo I possuem menor taxa de progresso de requeima e, conseqüentemente, maior resistência à doença. Tais híbridos poderão contribuir em futuros programas de melhoramento genético que visem à obtenção de variedades de tomateiro para mesa resistentes à requeima, acarretando em menores níveis de desenvolvimento da doença no campo e, conseqüentemente, contribuindo para a diminuição do uso de fungicidas, mediante a diminuição do número de pulverizações.

### **3.3. Comparação de Testes de Agrupamento para Vinte e Sete Genótipos de Tomateiro**

Os vinte e cinco híbridos e as testemunhas suscetível e resistente cv. Santa Clara e acesso BGH 6902, respectivamente, foram submetidos aos testes de agrupamento de Scott-Knott e “cluster”. O teste de Scott-Knott é apresentado na Tabela 2 item 3.1 e os grupos obtidos pela análise de cluster apresentados na Tabela 4 item 3.2.

Pelo teste de Scott-Knott foram formados apenas três grupos enquanto por meio da análise de cluster foram obtidos oito grupos. A cultivar Santa Clara, nos dois testes, foi alocada para grupos distintos, evidenciando que os vinte e cinco híbridos não apresentam comportamento semelhante a essa cultivar, que é considerada suscetível à requeima. Por esses resultados, para os dois testes, pode-se inferir que os híbridos não são suscetíveis à requeima.

Pelo teste de Scott-Knott, vinte e quatro dos vinte e cinco híbridos ficaram alocados no mesmo grupo da testemunha resistente, o acesso BGH 6902, apresentando comportamento semelhante ao da testemunha resistente. Quatro desses vinte e quatro híbridos, Alambra x 127 F, Ikram x 163 A, Ikram x 127 F e Ikram x 73 A, com médias de AACPD inferiores à da testemunha resistente. O híbrido Alambra x 133 A foi alocado para um grupo distinto, apresentando comportamento diferente ao das testemunhas, sugerindo que tal genótipo possa ser classificado como moderadamente resistente. Já pela análise de cluster, as testemunhas suscetível e resistente foram alocadas para grupos distintos e nenhum dos vinte e cinco híbridos ficaram alocados em seus grupos, evidenciando que os híbridos não se comportam de maneira semelhante à cv. Santa Clara, mas também não se comportam do mesmo modo que o acesso BGH 6902, quanto à taxa de progresso de requeima. Nessa análise, os híbridos com a menor curva de progresso de doença foram Ikram x 73 A, Nemo-Netta x 133 A, Ikram x 163 A, Nemo-Netta x 163 A, pertencentes ao Grupo I. Já os híbridos BGH 1497 x 133 A, Fanny x 127 F, Alambra x 73 A, Alambra x 133 A, pertencentes ao Grupo II, apresentaram maior curva de progresso de requeima.

No teste de Scott-Knott a característica avaliada foi a porcentagem de severidade de requeima, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), enquanto na análise de cluster os genótipos foram agrupados com base em estimativas das características quantidade de inóculo inicial ( $y_0$ ) e taxa de progresso ( $r$ ). Apesar dos diferentes parâmetros avaliados, verificou-se que os híbridos Ikram x 163 A e Ikram x 73 A, que no teste de Scott-Knott tiveram duas das menores médias de

AACPD, inferiores à da testemunha resistente BGH 6902, na análise de cluster ficaram alocados no grupo que apresentou a menor curva de progresso de requeima, o Grupo I. Foi observado neste cluster proporção final de doença cerca de 28% do valor observado para a cultivar Santa Clara, pertencente ao Grupo VIII. Quanto aos híbridos BGH 1497 x 133 A, Fanny x 127 F, Alambra x 73 A, Alambra x 133 A, com maior curva de progresso de requeima, também foi observado as maiores médias AACPD no teste de Scott-Knott.

De acordo com Campbell & Madden (1990), a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) é um resumo da curva de progresso da doença e nela estão incluídas as variações no tempo, taxa de progresso ( $r$ ) e severidade final ( $y_f$ ) da doença. Diante dos resultados obtidos sugere-se que, além de selecionar genótipos resistentes à requeima com base na AACPD, também seja realizado estudos sobre curvas de progresso de doença, com o intuito de avaliar comportamento desses diante da doença e das condições ambientais.

#### **4. CONCLUSÕES**

Pelo teste de Scott-Knott, vinte e quatro híbridos ficaram alocados no mesmo grupo da testemunha resistente (acesso BGH 6902);

Nos híbridos Alambra x 127 F, Ikram x 163 A, Ikram x 127 F e Ikram x 73 A foram observadas médias de AACPD inferiores à da testemunha resistente;

Por meio do número ótimo de cluster foram obtidos oito grupos;

A testemunha suscetível ‘Santa Clara’ e a testemunha resistente BGH 6902 ficaram alocadas em grupos distintos;

Os híbridos não ficaram alocados nos mesmos grupos pertencentes às testemunhas ‘Santa Clara’ e acesso BGH 6902;

A maior suscetibilidade à requeima da cultivar Santa Clara propiciou maior taxa de progresso de doença;

A maior resistência à requeima dos híbridos Ikram x 73 A, Nemo-Netta x 133 A, Ikram x 163 A e Nemo-Netta x 163 A, pertencentes ao Grupo I, propiciou menor taxa de progresso da requeima;

O teste de agrupamento de Scott-Knott e a análise de cluster não foram concordantes quanto ao número de grupos obtidos;

Os híbridos com as menores áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no teste de agrupamento de Scott-Knott apresentaram menor taxa de progresso de requeima na análise de cluster.

**CAPÍTULO 6. TESTES DE AGRUPAMENTOS ENTRE GENÓTIPOS DE  
TOMATEIRO PARA INDÚSTRIA E COMPARAÇÃO DE SUAS CURVAS DE  
PROGRESSO DE REQUEIMA**

## RESUMO

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2008. **Testes de agrupamentos entre genótipos de tomateiro para indústria e comparação de suas curvas de progresso de requeima.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Co-orientadores: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva e Glauco Vieira Miranda.

Os objetivos deste trabalho foram aplicar o método de agrupamento de Scott-Knott em genótipos de tomateiro para indústria utilizando a variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e obter curvas de progresso de doença, as quais foram agrupadas de acordo com a análise de cluster. Foram utilizados como genótipos trinta híbridos, provenientes de cruzamentos entre seis variedades comerciais de tomate para indústria e cinco linhagens  $F_8$  selecionadas para resistência à requeima, juntamente com as testemunhas suscetível e resistente Santa Clara e acesso BGH 6902, respectivamente. Foram realizadas seis avaliações para resistência à requeima, em experimento em campo no delineamento em blocos casualizados, onde as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de *Phytophthora infestans*, na concentração de  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, oriundos dos municípios mineiros de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa. Para a realização do teste de agrupamento de Scott-Knott, a característica avaliada foi porcentagem de severidade de requeima, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Pelo teste de Scott-Knott, todos os híbridos ficaram alocados no mesmo grupo da testemunha resistente, o acesso BGH 6902, apresentando comportamento semelhante ao da testemunha resistente. Sete híbridos, Heinz Caballero x 163 A, Heinz H7155 x 73 A, AP 533 x 163 A, IPA 6 x 163 A, AP 533 x 73 A, Heinz H7155 x 127 F e IPA 6 x 73 A, com médias de AACPD

inferiores à da testemunha resistente. Ajustou-se o modelo exponencial aos dados médios temporais de porcentagem de severidade de requeima obtendo-se as estimativas geradas para  $y_0$  e  $r$ , as quais foram submetidas à análise multivariada. As médias ajustadas por quadrados mínimos foram submetidas à análise de agrupamento, obtendo-se os valores dos desvios-padrão da raiz do quadrado médio em relação ao número de cluster, gerando um gráfico para a identificação do número ótimo de cluster. Mediante o número ótimo de cluster foi gerado um dendograma, no qual foi verificado quais os genótipos que pertenciam aos diferentes grupos obtidos pela discriminação estatística em relação aos vetores dos parâmetros  $y_0$  e  $r$ . Para cada grupo obtido foi gerada uma curva de progresso da doença. Após, comparou-se as diferentes curvas de progresso da requeima geradas para cada grupo. Pela análise de cluster foram obtidos dez grupos. As testemunhas suscetível e resistente foram alocadas em grupos distintos e nenhum dos trinta híbridos foram alocados em grupos com genitores comuns, evidenciando que tais híbridos não se comportam de maneira semelhante à cv. Santa Clara, mas também não se comportam do mesmo modo que o acesso BGH 6902, quanto à taxa de progresso de requeima. Nessa análise, os híbridos com as menores taxas de progresso de requeima foram Heinz Caballero x 163 A e Heinz Caballero x 133 A, pertencentes aos Grupos VI e IX, respectivamente. Já no híbrido APT 410 x 64 B, pertencente ao Grupo VIII, obteve-se maior taxa de progresso de requeima. Pelo teste de Scott-Knott obteve-se apenas dois grupos para os genótipos avaliados enquanto pela análise de cluster foram obtidos dez grupos. Apesar dos diferentes parâmetros avaliados, AACPD,  $y_0$  e  $r$ , verifica-se que o híbrido Heinz Caballero x 163 A, que no teste de Scott-Knott teve a menor média de AACPD, inferior à da testemunha resistente BGH 6902, na análise de cluster ficou alocado no grupo com a menor curva de progresso de requeima. Pelos resultados obtidos evidencia-se a importância da resistência genética à requeima, contribuindo para uma menor ocorrência da doença no campo.

## ABSTRACT

FIORINI, Cibelle Vilela Andrade, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march of 2008. **Gathering tests in processing market tomato genotypes and late blight progress curves comparison.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-advisers: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Fabyano Fonseca e Silva and Glauco Vieira Miranda.

The objectives of this work were to apply the Scott-Knott gathering method in processing market tomato genotypes using the area under the disease progress curve (AACPD) and to obtain the disease progress curve, which were gathered according to cluster analysis. Thirty hybrid tomato plants were used as genotypes, originating from crossings between six commercial varieties and five  $F_8$  lineages selected for late blight resistance, along with the susceptible testimony and ‘Santa Clara’ resistant and access BGH 6902, respectively. Six evaluations were realized for late blight resistance, in a field experiment in the outlining by casual blocks, where the plants were inoculated with a sporangium mixture of *Phytophthora infestans*, in a  $10^3$  sporangium.mL<sup>-1</sup> concentration, derived from the cities Cajuri, Coimbra, Ervália and Viçosa. For the accomplishment of the Scott-Knott gathering test, the evaluated characteristic was the late blight severity percentage, presented as the form of the area under the disease progress curve (AACPD). By the Scott-Knott test, all hybrids were allocated in the same resistant testimony, the BGH 6902, presenting similar behavior to the resistant testimony. Seven, Heinz Caballero x 163 A, Heinz H7155 x 73 A, AP 533 x 163 A, IPA 6 x 163 A, AP 533 x 73 A, Heinz H7155 x 127 F and IPA 6 x 73 A presented AACPD averages inferior to the resistant testimony. The exponential Model was adjusted to the averages temporal data of late blight severity percentage obtaining the generated estimation for  $y_0$  and  $r$ , which were submitted to a multi variety analysis. The adjusted

averages by minimal squares were submitted to a gathering analysis, obtaining the standard deviation value of the root of the average square related to the cluster number, generating a graphic for the optima cluster number identification. Through the optima cluster number a dendrogram was generated, verifying which genotypes belonged to different groups obtained by statistics discrimination related to the parameters vectors  $y_0$  and  $r$ . For each obtained group a disease progress curve was generated. Afterwards, different late blight progress curves were compared for each group. By the cluster analysis, ten groups were obtained. The susceptible and resistant testimonies were allocated in distinguished groups and none of the thirty hybrids were allocated in their groups, making evident that the hybrids do not behave as cv. 'Santa Clara', but also do not behave the same way as the access BGH 6902, according to the late blight progress rate. In this analysis, the hybrids with the lower disease progress rates were Heinz Caballero x 163 A and Heinz Caballero x 133 A, belonging to Groups VI and IX, respectively. On the other hand, the hybrid APT 410 x 64 B, belonging to Group VIII presented a higher late blight progress rate. By the Scott-Knott test, only two groups were obtained for the evaluated genotypes while by the cluster analysis ten groups were obtained. Although the different evaluated parameters, AACPD,  $y_0$  and  $r$ , it was verified that the hybrid Heinz Caballero x 163 A, that in the Scott-Knott test had the lowest average of AACPD, inferior to the BGH 6902 resistant testimony, in the cluster analysis they were allocated in the group with the lower late blight progress rate. The obtained results make evident the importance of genetic late blight resistance, contributing to a smaller occurrence in the field.

## 1. INTRODUÇÃO

O estudo de curvas de progresso de uma doença, expressas pela plotagem da proporção de doença versus o tempo, está entre as metodologias disponíveis para a identificação de genótipos resistentes a determinado patógeno, representando todas as interações que ocorrem entre patógeno e hospedeiro, sob a influência do ambiente (JESUS JÚNIOR *et al.*, 2004; WAGGONER, 1986; TENG & ZADOCKS, 1980; MICHEREFF, \_\_\_\_\_).

Uma forma prática e objetiva de avaliar o comportamento da requeima no tomateiro é por meio do ajuste de modelos de progresso de doenças, cujos parâmetros possibilitem interpretação biológica, evidenciando que a taxa de progresso da doença é diretamente proporcional à quantidade de doença (e indiretamente, ao inóculo) (CAMPBELL & MADDEN, 1990).

Quando o pesquisador dispõe de vários tratamentos é usual comparar a forma da curva de progresso da doença entre estes. Quando o número de tratamentos é elevado, alguns métodos tradicionais que realizam comparações duas a duas, como os descritos por Campbell & Maden (1990), tornam-se inviáveis.

De acordo com Khattree & Naik (2000), a utilização da técnica multivariada de agrupamento, também conhecida como análise de cluster, pode ser uma boa solução para este problema, uma vez que tende a agrupar tratamentos com curvas semelhantes, ou seja, com vetores de parâmetros do modelo de progresso estatisticamente iguais.

Os objetivos deste trabalho foram aplicar o método de agrupamento de Scott-Knott em genótipos de tomateiro para mesa utilizando a variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e obter curvas de progresso de doença, as quais foram agrupadas de acordo com a análise de cluster.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local de Condução do Experimento**

O experimento foi conduzido na Horta de Pesquisa da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG. O município de Viçosa está localizado na Região da Zona da Mata de Minas Gerais, a latitude 20° 45' 14'' S, longitude 42° 52' 53'' W e altitude de 648, 74 m. Segundo a classificação de Koppen, o clima regional é do tipo Cwa, com umidade relativa média anual do ar de 80%, temperaturas médias máxima e mínima anual registradas de 26,4 e 14,8 °C, respectivamente, e precipitação média anual de 1221,4 mm.

### **2.2. Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans***

Com o intuito de não selecionar fonte de resistência específica e procurando minimizar os efeitos de genes de resistência vertical, ou seja, de efeito maior, foi utilizado como inóculo uma mistura de esporângios proveniente de isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomateiro, coletados em diferentes municípios da Região da Zona da Mata de Minas Gerais. Nos locais de coleta (campos de produção de tomate), foram retirados das plantas apenas os folíolos infectados por *P. infestans*, sendo esses colocados dentro de sacos de papel de 1,0 Kg previamente identificados com o nome do município em que foram coletados e armazenados em caixas de isopor à temperatura de 18 °C.

O inóculo foi multiplicado no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os folíolos infectados foram retirados dos sacos de papel e transferidos para bandejas plásticas previamente identificadas, desinfestadas com álcool 70% e forradas com papel toalha umedecido com água destilada. Cada bandeja foi coberta com plástico e mantida em câmara de crescimento a 18 °C por 24 horas, de modo a criar o microclima favorável ao desenvolvimento do patógeno e promover maior esporulação.

Após 24 horas, para cada isolado, foi preparada uma suspensão de esporângios. As partes infectadas dos folíolos em que se observava esporulação do patógeno foram retiradas com o auxílio de uma tesoura e colocadas em um Becker contendo água destilada, previamente identificado de acordo com o local de coleta, sendo levadas para um agitador por 5 minutos, para liberação dos esporângios. Com o auxílio de uma gaze, cada suspensão de esporângios foi separada dos folíolos, homogeneizada, pipetada e colocada em um hemacitômetro, procedendo-se à contagem do número de esporângios em um microscópio óptico. Logo após, ajustou-se a concentração do hemacitômetro para  $10^3$  esporângios.mL<sup>-1</sup>, através da fórmula  $C_i V_i = C_f V_f$ , onde  $C_i$  = concentração inicial;  $V_i$  = volume inicial;  $C_f$  = concentração final;  $V_f$  = volume final.

Nas inoculações foram utilizadas suspensões de volumes iguais para cada isolado, os quais constituíram a mistura de esporângios. Após a contagem do número de esporângios, a suspensão foi levada à geladeira por 01 hora, para que houvesse liberação de zoósporos. A inoculação foi feita às 21:00 horas, com o auxílio de um pulverizador costal manual, pulverizando 20 mL da suspensão de esporângios em cada planta. O tempo decorrido entre o preparo da suspensão de esporângios e a inoculação não excedeu duas horas, para que os zoósporos não se tornassem inviáveis (ABREU, 2005).

### **2.3. Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima**

Três dias após a inoculação foram feitas as avaliações de severidade da doença. Realizaram-se seis avaliações, de três em três dias.

Para as avaliações de resistência à requeima, os avaliadores foram submetidos a um treinamento mediante o uso do programa Severity PRO (NUTTER, 1997), visando corrigir distorções inerentes à estimativa visual de severidade da doença.

No campo, os avaliadores deram notas para cada folha de cada planta, estimando-se a porcentagem de tecido vegetal afetado pela doença, ou seja, a porcentagem de severidade da doença. A nota final de cada planta foi constituída pela média das notas de suas folhas.

## **2.4. Metodologia para Ajuste do Modelo Exponencial $y = y_0 \exp(r_e t)$**

Realizou-se seis avaliações para resistência à requeima, de três em três dias, obtendo-se dados médios temporais de porcentagem de severidade de requeima para cada planta de cada genótipo avaliado, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.3).

Devido à coleta dos dados ter sido efetuada antes de se observar o ponto de inflexão, ou seja, ponto em que a doença avança com maior velocidade, não foi possível verificar a forma sigmóide da curva e os modelos mais complexos (Monomolecular, Logístico e Gompertz), que contemplam a fase de estabilização da doença, não puderam ser utilizados. Esse impedimento é devido ao fato destes modelos serem não-lineares, cujo ajuste necessita de métodos iterativos, que, nessa situação, não atingem a convergência, inviabilizando o processo de estimação.

Uma solução para este problema é adotar modelos mais simples, como o Exponencial, que descreve apenas o desenvolvimento da doença em sua fase inicial, e o seu principal parâmetro é caracterizado pela taxa de progresso até o ponto de inflexão. Portanto, ajustou-se o modelo exponencial, dado por  $y = y_0 \exp(r_e t)$ , aos dados médios temporais de porcentagem de severidade de requeima para descrever o comportamento da severidade de requeima ( $y$ ) em função do tempo, sendo  $y_0$  a quantidade de inóculo inicial,  $r_e$  a taxa de progresso para o modelo exponencial e  $t$  o tempo necessário para a ocorrência da intensidade  $y$  de doença. Tal ajuste foi realizado para cada repetição de cada genótipo, mediante o PROC MODEL (SAS, 1996), o que possibilitou a obtenção de um arquivo com as estimativas geradas por  $y_0$  e  $r_e$ .

Realizou-se uma análise de variância multivariada utilizando o PROC GLM (SAS, 1996) com a opção MANOVA, com o intuito de avaliar a influência dos genótipos sobre as estimativas dos parâmetros por meio do critério de Roy (KHATTREE & NAIK, 2000). Sendo constatada essa influência, extraíram-se as médias ajustadas por quadrados mínimos (LSMEANS), submetendo-as à análise de agrupamento no PROC CLUSTER (SAS, 1996) pelo método centróide. Nessa última

análise obtiveram-se os valores dos desvios-padrão da raiz do quadrado médio (RMSSTD) em relação ao número de clusters, gerando um gráfico que disponibilizou a identificação do número ótimo de cluster em relação à máxima curvatura.

Como complemento dessa análise utilizou-se o PROC TREE (SAS, 1996) para visualizar o dendograma e verificar quais genótipos pertenciam aos diferentes grupos obtidos pela discriminação estatística em relação aos vetores dos parâmetros  $y_0$  e  $r_e$ .

## **2.5. Condução do Experimento**

### **2.5.1. Genótipos Utilizados**

Foram utilizados como genótipos híbridos provenientes de cruzamentos entre seis variedades comerciais de tomateiro para indústria e cinco linhagens  $F_8$  selecionadas para resistência à requeima (vide Capítulo 3). Além dos híbridos, foram utilizadas como testemunhas suscetível e resistente à requeima a cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902, respectivamente.

### **2.5.2. Avaliações para Resistência à Requeima em Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro e Análise Temporal do Progresso da Requeima**

Foram avaliados para resistência à requeima trinta híbridos, obtidos de cruzamentos entre seis variedades comerciais pertencentes ao grupo de tomate para indústria e cinco linhagens selecionadas para resistência à requeima (vide Capítulo 3), além da cultivar Santa Clara e do acesso BGH 6902, utilizados com testemunhas suscetível e resistente, respectivamente.

A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial para hortaliças, semeando-se 5 sementes por célula. Após a germinação das sementes, procedeu-se ao desbaste. Quando as plântulas estavam com quatro folhas definitivas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo substrato comercial para hortaliças, sendo mantidas em casa de vegetação até o momento do transplântio para o campo. O transplântio das mudas para o campo foi realizado no dia 30/05/2007, no espaçamento de 1,00 x 0,50 m.

As plantas foram irrigadas e adubadas regularmente, recebendo os tratamentos normais da cultura, como desbrotas, amarrios e tratamentos fitossanitários, sendo os tratamentos fitossanitários interrompidos dez dias antes da inoculação e durante as avaliações para resistência à requeima. Deixou-se apenas uma haste por planta. Plantas da cv. Santa Clara foram utilizadas como bordadura.

Para avaliação da resistência à requeima, no dia 11/07/2007 as plantas foram inoculadas com uma mistura de esporângios de 5 isolados de *P. infestans*, patogênicos a tomate, oriundos dos municípios de Cajuri, Coimbra, Ervália e Viçosa (Zona Rural e Horta de Pesquisa da UFV – Horta Velha), conforme Metodologia de Inoculação de *Phytophthora infestans* (item 2.2). Após a inoculação, no dia 12/07/2007 as plantas passaram a ser irrigadas por aspersão, para garantir alta umidade ao ambiente. Com o intuito de garantir a penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, o sistema de irrigação por aspersão foi ligado às 10:00h, e, a partir daí, foi programado para ser ligado três vezes ao dia, às 10:00h, 13:00h e 17:00h, durante vinte minutos. A irrigação por aspersão foi realizada entre os dias 12/07/2007 a 29/07/2007.

As avaliações tiveram início e término nos dias 14/07/2007 e 29/07/2007, respectivamente, conforme Metodologia para Avaliação da Resistência à Requeima (item 2.3).

Entre os dias 11/07/2007 e 29/07/2007, o município de Viçosa/MG apresentou temperaturas médias máxima e mínima de 25,5 e 12,8 °C, respectivamente, umidade relativa média de 77% e precipitação de 6,1 mm.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 2 repetições e 5 plantas/parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de Scott-Knott (1974), sendo a característica avaliada a porcentagem de severidade de requeima, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Ajustou-se o modelo exponencial  $y = y_0 \exp(r_e t)$  aos valores médios temporais de porcentagem de severidade de requeima para cada planta de cada genótipo. A partir das estimativas geradas para  $y_0$  e  $r_e$ , através da análise de cluster, foi gerado um dendograma, identificando-se os diferentes grupos quanto à taxa de progresso de requeima, conforme Metodologia para Ajuste do Modelo Exponencial  $y = y_0 \exp(r_e t)$  (item 2.4). Para cada grupo obtido foi gerada uma curva de progresso da doença. Após, comparou-se as diferentes curvas de progresso da requeima geradas para cada grupo. Adicionalmente, comparou-se os resultados obtidos nos testes de agrupamento de Scott-Knott e “cluster”.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Análise de Variância e Teste de Agrupamento de Scott-Knott para a Característica Resistência à Requeima em Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro

Observou-se que os genótipos avaliados diferiram estatisticamente entre si, pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância referente à característica área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) na cultivar de tomateiro Santa Clara, no acesso BGH 6902 e em trinta híbridos. Viçosa-MG, 2007.

| FV          | GL      | QM          |
|-------------|---------|-------------|
| Blocos      | 1       | 7077,0156   |
| Tratamentos | 31      | 4233,4188** |
| Resíduo     | 31      | 660,2092    |
| Média       | 76,2343 |             |
| CV (%)      | 33,70   |             |

\*\* significativo a 1% pelo teste F.

Foi possível visualizar a fase inicial da doença 3 a 6 dias após a inoculação. Verificou-se para as testemunhas suscetível e resistente, cv. Santa Clara e acesso BGH 6902, respectivamente, valores médios extremos de AACPD, correspondentes à maior suscetibilidade (cv. Santa Clara) e maior resistência (acesso BGH 6902). As médias de AACPD dos trinta híbridos avaliados e das testemunhas suscetível e resistente foram

69,93, 288 e 53,50, respectivamente; os trinta híbridos avaliados se posicionaram entre os genitores suscetível e resistente, porém com tendência de maior aproximação do genitor resistente (Figura 1).

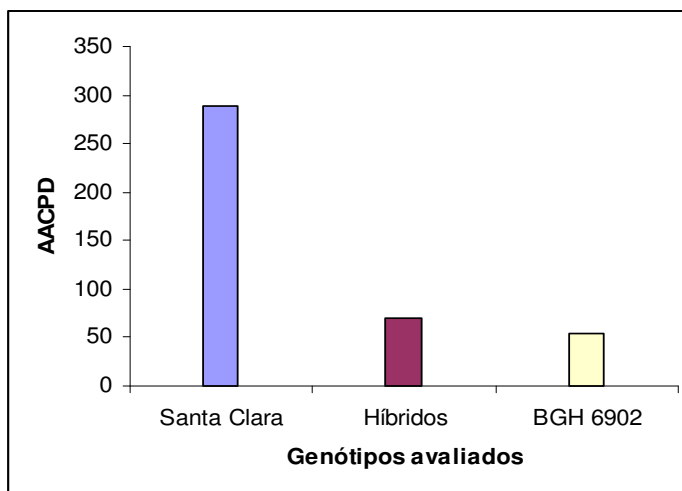


Figura 1. Valores médios de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas de tomateiro da cv. Santa Clara, de trinta híbridos e do acesso BGH 6902, avaliados para resistência a requeima. Viçosa-MG, 2007.

Ao comparar as médias de AACPD da cultivar suscetível Santa Clara (288) e dos trinta híbridos (69,93) verificou-se diferença de 218 unidades, evidenciando que tais híbridos possuem bons níveis de resistência à requeima. Em face dos resultados obtidos, pode-se introgreir genes de resistência à requeima presentes em *Solanum habrochaites* f. *glabratum* em cultivar comercial de tomateiro para indústria, possibilitando reduções nos níveis de desenvolvimento da doença.

Com base no teste de Scott-Knott foram formados apenas dois grupos. Os trinta híbridos ficaram no mesmo grupo da testemunha resistente, o acesso BGH 6902; sete desses trinta híbridos, Heinz Caballero x 163 A, Heinz H7155 x 73 A, AP 533 x 163 A, IPA 6 x 163 A, AP 533 x 73 A, Heinz H7155 x 127 F e IPA 6 x 73 A, com médias de AACPD inferiores à da testemunha resistente. A cultivar suscetível Santa Clara formou um grupo distinto (Tabela 2).

Tabela 2. Médias de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da cultivar de tomateiro Santa Clara, do acesso BGH 6902 e de vinte e cinco. Viçosa-MG, 2007.

| Tratamentos     | Médias de AACPD | Tratamentos             | Médias de AACPD |
|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------|
| AP 529 x 127 F  | 67,00 b         | Heinz Caballero x 127 F | 72,00 b         |
| AP 529 x 64 B   | 105,00 b        | Heinz Caballero x 64 B  | 87,50 b         |
| AP 529 x 73 A   | 86,50 b         | Heinz Caballero x 73 A  | 100,00 b        |
| AP 529 x 163 A  | 82,00 b         | Heinz Caballero x 163 A | 22,00 b         |
| AP 529 x 133 A  | 94,00 b         | Heinz Caballero x 133 A | 66,00 b         |
| AP 533 x 127 F  | 106,50 b        | Heinz H7155 x 127 F     | 49,00 b         |
| AP 533 x 64 B   | 70,00 b         | Heinz H7155 x 64 B      | 63,00 b         |
| AP 533 x 73 A   | 41,50 b         | Heinz H7155 x 73 A      | 30,00 b         |
| AP 533 x 163 A  | 31,50 b         | Heinz H7155 x 163 A     | 71,00 b         |
| AP 533 x 133 A  | 90,00 b         | Heinz H7155 x 133 A     | 54,00 b         |
| APT 410 x 127 F | 60,00 b         | IPA 6 x 127 F           | 53,50 b         |
| APT 410 x 64 B  | 128,00 b        | IPA 6 x 64 B            | 91,00 b         |
| APT 410 x 73 A  | 100,00 b        | IPA 6 x 73 A            | 52,50 b         |
| APT 410 x 163 A | 61,50 b         | IPA 6 x 163 A           | 33,00 b         |
| APT 410 x 133 A | 59,50 b         | IPA 6 x 133 A           | 70,50 b         |
|                 |                 | ‘Santa Clara’           | 288,00 a        |
|                 |                 | BGH 6902                | 53,50 b         |

Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott.

### 3.2. Análise Temporal do Progresso da Requeima em Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro

Foi ajustado o modelo exponencial, cujo  $R^2$  médio foi de 99%. As estimativas dos parâmetros foram utilizadas como variáveis aleatórias independentes na análise de variância multivariada, onde observou-se, para todas as quatro estatísticas utilizadas, efeito significativo dos genótipos de tomateiro sobre o vetor de parâmetros  $y_0$  e  $r$  (Tabela 3), ao nível de 1% de probabilidade, evidenciando que para os trinta híbridos, a cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902 foram ajustadas diferentes curvas de progresso de requeima.

Tabela 3. Estatísticas utilizadas para verificação do efeito de tratamentos sobre o vetor de parâmetros  $y_0$  e  $r$ . Viçosa-MG, 2007.

| Estatística      | Valor da Estatística | Valor de F | GL | Pr>F   |
|------------------|----------------------|------------|----|--------|
| Wilks' Lambda    | 0,04328382           | 3,68       | 62 | <,0001 |
| Pillai's Trace   | 0,04328382           | 2,94       | 62 | <,0001 |
| Hotelling-Lawley | 0,04328382           | 4,57       | 62 | <,0001 |
| Roy's Root       | 0,04328382           | 8,21       | 31 | <,0001 |

Portanto, para complementar esta análise de variância tornou-se necessário a aplicação de um teste de agrupamento multivariado, sendo o mais usual a análise de cluster. Entretanto, o número de clusters é determinado subjetivamente, de acordo com o dendograma apresentado na Figura 2. Para evitar este problema, foram confeccionados gráficos com o objetivo de selecionar o número ótimo de cluster dado pelo ajustamento de modelos de regressão segmentado, cujo ponto de transição representa este número ótimo (Figura 3).

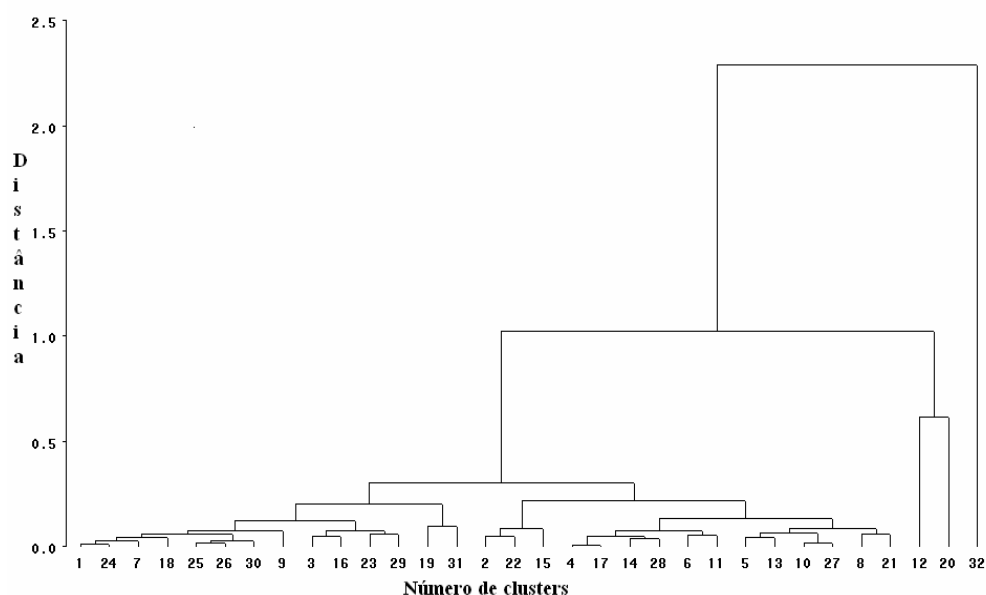


Figura 2. Dendograma de dissimilaridade genética quanto à taxa de progresso de requeima entre trinta e dois genótipos de tomateiro, obtido por meio da análise de cluster, com base em duas características quantitativas. Viçosa-MG, 2007.

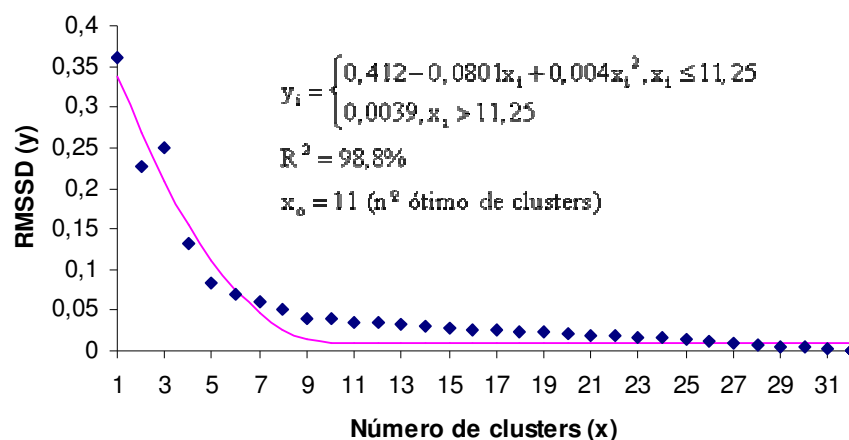


Figura 3. Modelo de regressão segmentado, representando o número ótimo de cluster. Viçosa-MG, 2007.

Mediante a obtenção do número ótimo de cluster, estabelecido por meio da análise gráfica dos desvios-padrão da raiz do quadrado médio, foram obtidos dez grupos, indicando a existência de variabilidade quanto à curvas de progresso da requeima.

A cultivar Santa Clara e o acesso BGH 6902, utilizados como testemunhas suscetível e resistente à requeima, respectivamente, ficaram alocados em grupos distintos. Os trinta híbridos não ficaram alocados nos mesmos grupos pertencentes às testemunhas (Tabela 4).

Tabela 4. Grupos obtidos pela análise de cluster, com base em duas características quantitativas em trinta híbridos de tomateiro, cultivar Santa Clara (*S. lycopersicum* L.) e acesso BGH 6902 (*S. habrochaites* f. *glabratum*). Viçosa-MG, 2007.

| Grupos | Genótipos                                                                                                                                     |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I      | AP 524 x 163 A, Heinz Caballero x 64 B, APT 410 x 163 A, IPA 6 x 73 A, AP 533 x 127 F, APT 410 x 127 F                                        |
| II     | AP 529 x 127 F, Heinz H7155 x 163 A, Heinz H7155 x 133 A, IPA 6 x 127 F, AP 533 x 64 B, IPA 6 x 133 A, Heinz Caballero x 73 A, AP 533 x 163 A |
| III    | AP 533 x 133 A, IPA 6 x 64 B, AP 529 x 133 A, APT 410 x 73 A, AP 533 x 73 A, Heinz H7155 x 127 F                                              |
| IV     | AP 529 x 73 A, Heinz Caballero x 127 F, Heinz H7155 x 73 A, IPA 6 x 163 A                                                                     |
| V      | Heinz H7155 x 64 B, APT 410 x 133 A                                                                                                           |
| VI     | Heinz Caballero x 163 A                                                                                                                       |
| VII    | BGH 6902                                                                                                                                      |
| VIII   | APT 410 x 64 B                                                                                                                                |
| IX     | Heinz Caballero x 133 A                                                                                                                       |
| X      | ‘Santa Clara’                                                                                                                                 |

De acordo com os resultados da Tabela 4 e Figura 4, verificou-se que os trinta e dois genótipos foram alocados para dez diferentes grupos, de acordo com os vetores dos parâmetros  $y_0$  e  $r$ .

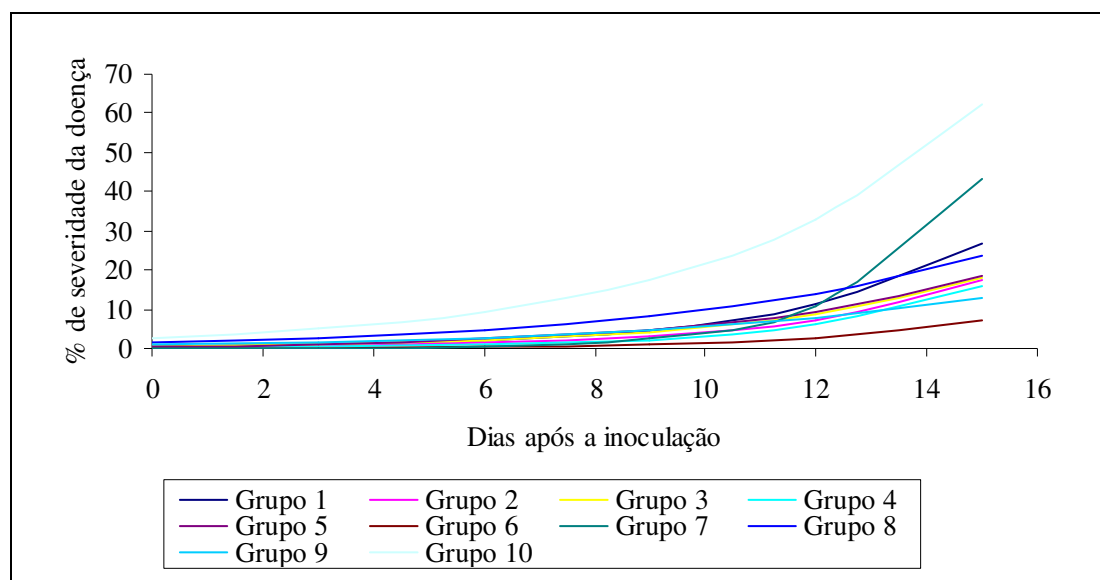


Figura 4. Curvas de progresso da requeima obtidas para dez grupos de tomateiro contendo diferentes genótipos. Viçosa-MG, 2007.

A cultivar Santa Clara foi alocada para o grupo X, com a maior taxa de progresso de doença, confirmando sua suscetibilidade à requeima. O acesso BGH 6902, pertencente ao grupo VII, apresentou comportamento diferenciado em relação aos demais genótipos, quanto à taxa de progresso da doença, pois até o décimo segundo dia após a inoculação observou-se taxa de progresso da doença muito inferior à da cultivar Santa Clara, pertencente ao grupo X. Após este período, a taxa de progresso da requeima se elevou abruptamente, superando as proporções finais de doença obtidas para os grupos I, II, III, IV, V, VI, VIII e IX. Foi observado para a curva de progresso de requeima obtida, para o acesso em questão, proporção final de doença cerca de 69% do valor observado para a cultivar Santa Clara, pertencente ao Grupo X. Diante desse resultado, sugere-se a realização de novos estudos sobre taxa de progresso da doença envolvendo tal acesso, visto que é considerado resistente à requeima.

O desenvolvimento da requeima em tomateiro é dependente do genótipo, das condições climáticas e do manejo aplicado à cultura. Foi evidenciado, mediante as curvas de progresso de requeima, menor taxa de progresso da doença nos Grupo VI e IX, sendo as proporções finais de doença observada cerca de 11% e 20%, respectivamente, em relação ao valor obtido para a cultivar Santa Clara, pertencente ao Grupo X. No presente trabalho, em função das condições climáticas e do manejo aplicado à cultura ter sido igual para todos os genótipos, pode-se inferir que as menores taxas de progresso de requeima observada para o Grupos VI e IX foram ocasionadas por diferenças na resistência genética entre genótipos, sendo os híbridos Heinz Caballero x 163 A e Heinz Caballero x 133 A com maior resistência à requeima. Zadoks & Schein (1979), citados por Jesus Júnior *et al.* (2004), verificaram taxas de infecção aparente ( $r$ ), expressas em unidades.dia<sup>-1</sup>, de 0,42 e 0,16 para variedade de batata suscetível e moderadamente resistente à requeima, respectivamente. Alves *et al.* (2006), trabalhando com análise de curvas de progresso de vassoura-de-bruxa em cacaueiros enxertados, verificaram a existência de diferenças significativas entre genótipos, com relação à incidência de doença, devido, possivelmente, a diferenças na resistência genética entre esses. Os resultados obtidos no presente trabalho e no trabalho de Zadoks & Schein (1979) demonstram a importância da resistência genética à requeima, contribuindo para uma menor ocorrência da doença no campo.

De acordo com Jesus Júnior *et al.* (2004), *Phytophthora infestans* é um patógeno policíclico, que produz estruturas de reprodução de forma contínua durante a presença do hospedeiro, gerando vários ciclos da doença durante o mesmo plantio e produzindo grande quantidade de inóculo durante a safra do tomateiro, contribuindo, desse modo, para o rápido progresso da doença na cultura. O aumento da população de *Phytophthora infestans*, em hospedeiro suscetível, sob condições favoráveis, pode ser exponencial em curto intervalo de tempo. Por ser um patógeno policíclico, devido suas características de reprodução, o manejo de *Phytophthora infestans* no campo necessita de especial atenção.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que, em comparação com a cultivar Santa Clara, os híbridos pertencentes aos grupos VI e IX possuem menores taxas de progresso de requeima e, conseqüentemente, maior resistência à doença. Tais híbridos poderão contribuir em futuros programas de melhoramento genético que visem à obtenção de variedades resistentes à requeima do tomateiro. Tais híbridos poderão contribuir com futuros programas de melhoramento genético que visem à obtenção de variedades de tomateiro para indústria resistentes à

requeima, acarretando em menores níveis de desenvolvimento da doença no campo e, conseqüentemente, contribuindo para a diminuição do uso de fungicidas, mediante a diminuição do número de pulverizações.

### **3.3. Comparação de Testes de Agrupamento para Trinta e Dois Genótipos de Tomateiro**

Os trinta híbridos e as testemunhas suscetível e resistente cv. Santa Clara e acesso BGH 6902, respectivamente, foram submetidos aos testes de agrupamento de Scott-Knott e “cluster”.

Pelo teste de Scott-Knott foram formados apenas dois grupos enquanto por meio da análise de cluster foram obtidos dez grupos. A cultivar Santa Clara, nos dois testes, foi alocada para grupos distintos, evidenciando que os trinta híbridos não apresentam comportamento semelhante a essa cultivar, que é considerada suscetível à requeima. Por esses resultados, para os dois testes, pode-se inferir que os híbridos não são suscetíveis à requeima.

Pelo teste de Scott-Knott, todos os híbridos ficaram alocados no mesmo grupo da testemunha resistente, o acesso BGH 6902, apresentando comportamento semelhante ao da testemunha resistente. Sete híbridos, Heinz Caballero x 163 A, Heinz H7155 x 73 A, AP 533 x 163 A, IPA 6 x 163 A, AP 533 x 73 A, Heinz H7155 x 127 F e IPA 6 x 73 A, apresentaram médias de AACPD inferiores à da testemunha resistente. Já pela análise de cluster, as testemunhas suscetível e resistente foram alocadas para grupos distintos e nenhum dos trinta híbridos ficaram alocados em seus grupos, evidenciando que os híbridos não se comportam de maneira semelhante à cv. Santa Clara, mas também não se comportam do mesmo modo que o acesso BGH 6902, quanto à taxa de progresso de requeima. Nessa análise, os híbridos com a menor curva de progresso de doença foram Heinz Caballero x 163 A e Heinz Caballero x 133 A, pertencentes aos Grupos VI e IX. Já para o híbrido APT 410 x 64 B, pertencente ao Grupo VIII, obteve-se maior curva de progresso de requeima.

No teste de Scott-Knott a característica avaliada foi a porcentagem de severidade de requeima, apresentada sob a forma de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), enquanto na análise de cluster os genótipos foram agrupados com base em estimativas das características quantidade de inóculo inicial ( $y_0$ ) e taxa de progresso ( $r$ ). Apesar dos diferentes parâmetros avaliados, verifica-se que o híbrido Heinz Caballero x 163 A, que no teste de Scott-Knott teve a menor média de AACPD, inferior à da

testemunha resistente BGH 6902, na análise de cluster ficou alocado no grupo que apresentou a menor curva de progresso de requeima, o Grupo VI. Neste grupo, na análise de cluster, foi observada proporção final de doença de cerca de 11% do valor observado para a cultivar Santa Clara, pertencente ao Grupo VIII. Quanto ao híbrido APT 410 x 64 B, com a maior curva de progresso de requeima, também foi observada a maior média de AACPD em relação aos demais, no teste de Scott-Knott.

De acordo com Campbell & Madden (1990), a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) é um resumo da curva de progresso da doença e nela estão incluídas as variações no tempo, taxa de progresso ( $r$ ) e severidade final ( $y_f$ ) da doença. Diante dos resultados obtidos sugere-se que, além de selecionar genótipos resistentes à requeima com base na AACPD, também seja realizado estudos sobre curvas de progresso de doença, com o intuito de avaliar comportamento desses diante da doença e das condições ambientais.

#### **4. CONCLUSÕES**

Pelo teste de Scott-Knott, todos os híbridos ficaram alocados no mesmo grupo da testemunha resistente (acesso BGH 6902);

Nos híbridos Heinz Caballero x 163 A, Heinz H7155 x 73 A, AP 533 x 163 A, IPA 6 x 163 A, AP 533 x 73 A, Heinz H7155 x 127 F e IPA 6 x 73 A foram observadas médias de AACPD inferiores à da testemunha resistente;

Por meio do número ótimo de cluster foram obtidos dez grupos;

A testemunha suscetível ‘Santa Clara’ e a testemunha resistente BGH 6902 ficaram alocadas em grupos distintos;

Os híbridos não ficaram alocados nos mesmos grupos pertencentes às testemunhas ‘Santa Clara’ e acesso BGH 6902;

A maior suscetibilidade à requeima da cultivar Santa Clara propiciou maior taxa de progresso de doença;

A maior resistência à requeima dos híbridos Heinz Caballero x 163 A e Heinz Caballero x 133 A, pertencentes aos Grupos VI e IX, propiciaram menores taxas de progresso de requeima;

O teste de agrupamento de Scott-Knott e a análise de cluster não foram concordantes quanto ao número de grupos obtidos;

Os híbridos com as menores áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) apresentaram menores taxa de progresso de requeima.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, FB. **Herança da resistência a *Phytophthora infestans*, de características de frutos e seleção de genótipos resistentes na geração F<sub>5</sub> de cruzamento interespecífico em tomateiro.** 2005. 95 p. Dissertação (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira.** São Paulo: Agrios Comunicação, 2007, p.490-496.

AGRIDATA. 2005. Disponível em [www.agridata.com.br](http://www.agridata.com.br).

ALLARD, RW. **Princípios de melhoramento genético das plantas.** São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.

ALVARENGA, MAR. **Cultivares.** In: ALVARENGA, MAR. Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Editora UFLA, MG, 2004, p. 39-59.

ALVARENGA, MAR. **Cultura do tomateiro.** Lavras: UFLA, 2000. 91p. (Textos Acadêmicos, 2).

ALVARENGA, MAR; SOUZA, RAM. **Comercialização, colheita, classificação e embalagens.** In: ALVARENGA, MAR. Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Editora UFLA, MG, 2004, p. 367-393.

ALVES, SAM; POMELLA, AWV; AITKEN, WM; BERGAMIM FILHO, A. Curvas de progresso e gradientes da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) em cacaueiros enxertados em Uruçuca, Bahia. Fitopatologia Brasileira, v.31, n.5, set-out 2006, p. 483-491.

DANNON, EA; WYDRA, K. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.64, n.5, p.233-243, 2004.

BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995, v.1, p.602-626.

BORÉM, A; MIRANDA, GV. **Melhoramento de plantas**. 4 ed. Viçosa: UFV, 2005. 525 p.

BORGES, MF; MARCHI, CE; MIZUBUTI, ESG; SILVA, DJH. Reação de genótipos de *Lycopersicon* à *Phytophthora infestans*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, suplemento, p.53, 2005.

BRIM, CA. A modified pedigree method of selection in soybeans. **Crop Science**, v.6, 1966, p.220.

BROMMONSCHENKEL, SH. **Patogenicidade, compatibilidade, citogenética e padrões enzimáticos de isolados de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary do Brasil**. 1998. 82 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BUENO, LCS; MENDES, ANG; CARVALHO, SP. **Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos**. Ed. UFLA. Lavras: UFLA, 2001, 282p.

CALIMAN, FRB. **Produção e qualidade de frutos de genótipos de tomateiro em ambiente protegido e no campo**. 2003. 72 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CALIMAN, FRB; MARIM, BG; MOREIRA, GR; SILVA, DJH; STRINGHETA, PC. Divergência genética entre acessos de tomateiro do BGH – UFV, com base em características de qualidade de frutos. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 43., 2003, Recife. **Anais...** Recife: SOB/UFRPE, 2003.

CAMPBELL, CL; MADDEN, LV. **Introduction to plant disease epidemiology**. John Willey & Sons, New York, 1990.

CANÇADO JÚNIOR, FL; CAMARGO FILHO, WP; ESTANISLAU, MLL; PAIVA, BM; MAZZEI, AR; ALVES, HS. Aspectos econômicos da produção e comercialização do tomate para mesa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.24, n.219, p.7-18, 2003.

CHARCOSSET, A; BONISSEAU, TOUCHEBUF, O; BURSTIN, J; DUBREUIL, P; BARRIÈRE, Y; GALLAIS, A; DENIS, JB. Prediction of maize hybrid silage performance using marker data: comparison of several models for specific combining ability. **Crop Science**, Madison, v.38, p. 38-44, 1998.

CONCHA L., A. El cultivo de tomate para procesamiento en Chile. **Seminário Internacional en Producción de Tomate para Procesamiento**. Talca – Chile, 2005.

COSTA, H; ZAMBOLIM, L; VETURA, JA. Doenças de hortaliças que se constituem em desafio para o controle. In: ZAMBOLIM, L; LOPES, CA; PICANÇO, MC; COSTA, H. Manejo integrado de doenças e pragas – hortaliças. Viçosa: UFV, DFP, 2007, p.319-348.

CRUZ, CD; REGAZZI, A J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2 ed. Viçosa, MG. UFV, 1997. 390 p.

CRUZ, CD. **Programa Genes (versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.

CRUZ, CD; REGAZZI, AJ. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2 ed. Viçosa, MG. UFV, 2001. 390 p.

CRUZ, CD; REGAZZI, AJ; CARNEIRO, PCS. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: Ed. UFV, 2004, 480 p.

CRUZ, CD; VENCovsky, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.12, n.2, p. 425-238, 1989.

DE BARY, A. Researches into the nature of the potato fungus, *Phytophthora infestans*. **Journal of the Royal Agricultural Society of England**. Series 2 12: 239-269. 1876.

EWING, EE; SIMKO, I; SMART, CD; BONIERBALE, MW; MIZUBUTI, ESG; MAY, GD; FRY, WE. Genetic mapping from field tests of qualitative and quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in a population derived from *Solanum tuberosum* and *Solanum berthaultii*. **Molecular Breeding**, v.6, p.25-36, 2000.

ERWIN, DC & RIBEIRO, OK. **Phytophthora diseases world-wide**. Editora St. Paul. APS Press. 1996.

FERRÃO, RG; GOMES E GAMA, EE; CARVALHO, HWL; FERRÃO, MAG. Avaliação da capacidade combinatória de vinte linhagens de milho em um dialelo parcial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.12, p.1933-1939, dez. 1994.

FILGUEIRA, FAR. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. 402p.

FRY, WE. **Principles of plant disease management**. New York. Academic Press, 1982.

FRY, WE & GOODWIN, SB. Re-emergence of potato and tomato late blight in the United States. **Plant Disease**, v. 81, p. 1349-1357. 1997.

GALLEGLY, ME & GALINDO, J. Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. **Phytopathology**, v. 48, p. 274-277. 1958.

GALLEGLY, ME; MARVEL, ME. Inheritance of resistance to tomato race 0 of *Phytophthora infestans*. **Phytopathology**, v.45, p.103-109. 1955.

GARDNER, CO; EBERHART, SA. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, North Carolina, v.22, p.439-452, 1966.

GIORDANO, LB; ARAGÃO, FAS; BOITEUX, LS. **Melhoramento genético do tomateiro**. Informe Agropecuário: Tomate para Mesa, Belo Horizonte, v.24, n.219, p.43-57, 2003.

GOODWIN, SB. The population genetics of *Phytophthora*. **Phytopathology**, v. 87, p. 462-473. 1997.

GOODWIN, SB; DRENTH, A; FRY, WE. Cloning and genetic analyses of two highly polymorphic, moderately repetitive nuclear DNA's from *Phytophthora infestans*. **Current Genetics**, v. 22, p. 107-115. 1992.

GOULDEN, CH. Problems in plant selection. In: BURNETT, RC. (ed.). INTERNATIONAL GENETICS CONGRESS, 7, 1939, Edinburgh. **Proceedings...** Edinburgh: Cambridge University Press, p.132-133.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Austr. J. Biol. Sci.**, East Melbourne, v.9, p.463-493, 1956.

GUIMARÃES, LJM. **Avaliação de testadores e seleção de linhagens de milho**. 2004. 81 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

HALLAUER, AR & MIRANDA FILHO, JB. Quantitative genetics in maize breeding. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

JESUS JÚNIOR, WC; POZZA, EA; VALE, FXR; AGUILERA, GM. Análise temporal de epidemias. In: VALE, FXR; JESUS JÚNIOR, WC; ZAMBOLIM, L. (eds). **Epidemia Aplicada ao Manejo de Plantas**. Belo Horizonte: Editora Perfil, 2004. p. 127-191.

JOHNSON, DA; CUMMINGS, TF; HAMM, PB; ROWE, RC; MILLER, JS; THORNTON, RE; PELTER, GQ; SORENSSEN, EJ. Potato late blight in the Columbian basin: an economic analysis of the 1995 epidemic. **Plant Disease**, v. 81, p. 103-106, 1997.

KADER, AA, MORRIS, LL, STEVENS, MA, ALBRIGHT-HOLTON, M. Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 113, n. 5, p. 742-745, 1978.

KHATTREE, R; NAIK, DN. **Multivariate data reduction and discrimination with SAS software**. New York: BBU Press and John Wiley Sons Inc., 2000. 574 p.

KRANZ, J. Comparison of epidemics. **Ann. Rev. of Phytopathol.** 12:355-374. 1974.

KRANZ, J; ROYLE, DJ. Perspectives in mathematical modelin of plant disease epidemics. In: SCOTT, PR; BAINBRIDGE, A. (eds). **Plant Disease Epidemiology**. Oxford: Blackwell Scientific Pub, 1978. p. 111-121.

KUROZAWA, C & PAVAN, MA. **Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**. In: KIMATI, H; AMORIM, L; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, LEA; REZENDE, JAM. Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. Ed. Agronômica Ceres, SP. 1997. p. 690-719.

LABORY, CRG; SANTA-CECÍLIA, LVC; MALUF, W.R.; CARDOSO, MG; BEARZOTTI, E.; SOUZA, JC. Seleção indireta para teores de 2-tridecanona em tomateiros segregantes e sua relação com a resistência à traça do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 723-739, 1999.

LATERROT, H. Disease resistance in tomato: pratical situation. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 22, n. 3, p. 328-331. 2000.

LOPES, CA; REIS, A; ÁVILA, AC. **Principais doenças do tomate para mesa causadas por fungos, bactérias e vírus**. Informe Agropecuário: Tomate para Mesa, Belo Horizonte, v.24, n.219, p.66-78, 2003.

MACKENZIE, AC. Perspectivas mundiales económicas y de mercado Del tomate industrial. **Seminário Internacional en Producción de Tomate para Procesamiento**. Talca – Chile, 2005.

MAHAKUN, N; LEEPER, PW; BURNS, EE. Acidic constituents of various tomato fruits types. **Journal of Food Science**, v.44, p.1241-1244, 1979.

MALUF, WR. **Melhoramento genético do tomate**. Lavras: UFLA. 2000. (Apostila de aulas da disciplina DAG-527).

MALUF, WR. **Produção de sementes de hortaliças**. Lavras: UFLA, 118p., 1994. (Apostila de aulas da disciplina DAG-509).

MATTEDI, AP; SOARES, BO; ALMEIDA, VS; GRIGOLLI, JFJ; SILVA, LJ; SILVA, DJH. **Introdução á cultura do tomateiro**. In: SILVA, DJH; VALE, FXR. Tomate: tecnologia de produção. Viçosa, MG: UFV, 2007, p. 1-10.

MELO, PCT. Melhoramento genético do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Campinas: Asgrow do Brasil Sementes Ltda., 1989, 55p.

MELO, PCT; VILELA, NJ. Desempenho da cadeia agroindustrial brasileira do

- tomate na década de 90. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, p.154-160, jan-mar, 2004.
- MICHEREFF, SJ. **Epidemiologia de doenças de plantas**. UFRPE. Disponível em [www.google.com.br](http://www.google.com.br).
- MIZUBUTI, ESG. Custo da requeima. **Cultivar – Hortaliças e Frutas**. Jun/Jul 2005, n. 32, p. 23-26, 2005.
- MIZUBUTI, ESG. **Requeima ou mela da batata e do tomate**. In: LUZ, EDMN; SANTOS, AF; MATSUOKA, K; BEZERRA, JL. Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Ed. Rural Campinas, SP. 2001. p.100-174.
- NOJOSA, GBA; FARIA, MV; SILVA, LHCP. **Melhoramento genético visando o controle de doenças**. In: SILVA, LHCP; CAMPOS, JR; NOJOSA, GBA. Manejo integrado – doenças e pragas em hortaliças. UFLA, MG, 2004, p.241-243.
- NUNES, AML; BERGAMIN FILHO, A; AMORIM, L; NUNES, MAL; DIAS, CTS. Análise da curva de progresso temporal da vessoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n. 4, jul-ago 2002, p. 344-348.
- NUTTER, JRFW. Disease severity assessment training. In: FRANCL, LJ; NEHER, DA (Eds.). **Exercises in plant disease epidemiology**. St. Paul, The American Phytopathological Society Press, p. 1-7, 1997.
- OLIVEIRA, LR. **Seleção de genitores de milho para sistema de produção orgânico**. 2005. 29 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- PINHEIRO, JB. **Dialelo parcial entre parentais de soja resistentes e suscetíveis a insetos**. 1993. 143p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- RAMALHO, MAP; SANTOS, JB; ZIMMERMANN, MJO. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG. 1993. 271 p.
- RAMALHO, MAP; ABREU, AFB; SANTOS, JB. Melhoramento de espécies autógamas. In: NASS, LL; VALLOIS, ACC; MELO, IS; VALADARES-INGLIS, MC. (Eds.). **Recursos Genéticos e Melhoramento – Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 201-230.
- RAPOSO, FV. **Comparação de métodos de condução de populações segregantes de feijoeiro**. 1999. 72 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

REIS, A. **Caracterização das populações de *Phytophthora infestans* das regiões Sul e Sudeste do Brasil**. 2001. 76 p. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

REIS, A; RIBEIRO, FHS; MIZUBUTI, ESG. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* do Distrito Federal e de Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 270-276, mai-jun 2006.

REIS, A; SMART, CD; FRY, WE; MAFFIA, LA; MIZUBUTI, ESG. Characterization of *Phytophthora infestans* isolates from Southern and Southeast Brazil from 1998 to 2000. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 8, p. 896-900, 2003.

REIS, A; SUASSUNA, ND; ALFENAS, AC & MIZUBUTI, ESG. Monitoramento da população de *Phytophthora infestans* na região da Zona da Mata de Minas Gerais de 1998 a 2000. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 6, p. 614-620, nov-dez 2002.

RIBEIRO, NB; RODRIGUES, GS; BARRA, VR; SILVA, DJH; MIZUBUTI, ESG. Desempenho de acessos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV, quanto à resistência a *Phytophthora infestans*. **Summa Phytopathologica**, v. 32, supl., p. 9-98, resumo 53, 2006.

RICK, CM. Biosystematic studies in *Lycopersicon* and closed related species of *Solanum*. In: HAWKES, JG; LESTER, RN; SKELDING, AD. (Ed.). **The biology and taxonomy of the Solanaceae**. London: Academic Press, 1979. p. 667-677.

SAS. Statistical Analysis System Institute. **SAS/STAT**. User's guide, version 6.11. 4<sup>th</sup> ed. Cary, v. 2, 842 p., 1996.

SCOTT, TJ; KNOTT, M. Cluster analysis methods for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SEDIYAMA, T; TEIXEIRA, RC; REIS, MS. Melhoramento da soja. In: BORÉM, A. (Ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, p.488-533. 1999.

SILVA, DJH; MOURA, MCCL; CASALI, VWD. Recursos genéticos do banco de germoplasma de hortaliças da UFV: histórico e expedições de coleta. **Horticultura Brasileira**, v.19, n.2, jul 2001.

SILVA, JBC; GIORDANO, LB. **Produção mundial e nacional**. In: SILVA, JBC; GIORDANO, LB. (Orgs.). **Tomate para processamento industrial**. Brasília, DF. Embrapa Hortaliças. 2000. p. 8-11.

SOUZA, DC. Progresso temporal e padrão espacial de epidemias da podridão parda do pessegueiro. 2006. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SOUZA, JC; RAMALHO, MAP; SOUZA, EA; PINTO, CAPB; SANTOS, JB; SOBRINHO, FS; AVELAR, FM; NUNES, GHS; MENDONÇA, HA; REZENDE, VF. **Genética: Notas de aulas práticas**. Lavras: UFLA, 1999, 59p.

SPRAGUE, GF; TATUM, LA. General and specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of American Society of Agronomy**, v. 34, p. 923-932, 1942.

STEVENS, M.A.; RICK, C.M. **Genetics and breeding**. In: ATHERTON, J.G.; RUDISH, J. (Ed.) **The tomato crop**. Cambridge: Chapman and Hall, 1986, p. 35-110.

SUASSUNA, ND; MAFFIA, LA; MIZUBUTI, ESG. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. **Plant Pathology**, v. 53, n. 4, p. 405-413, 2004.

TAVARES, CAM. Ataque dos vírus. **Cultivar – Hortaliças e Frutas**. Dez 2002/Jan 2003, p. 26-29, 2003.

TANKSLEY, SD. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *The Plant Cell*, v. 16, p. 181-189, 2004.

TENG, P.S. & ZADOKS, J.C. Computer simulation of plant disease epidemics. In: McGraw-Hill Yearbook of Science and technology. 1980. p. 23-31.

TURKENSTEEN, LJ; FLIER, WG. Host and non-host resistance against *Phytophthora infestans*, the causal organism of late blight of potatoes and tomatoes. **Eucarpia Leafy Vegetables**, 2003, p. 23-24.

VALE, FXR; JESUS JÚNIOR, WC; RODRIGUES, FA; COSTA, H; SOUZA, CA. **Manejo de doenças fúngicas em tomateiro**. In: SILVA, DJH; VALE, FXR. *Tomate: tecnologia de produção*. Viçosa, MG: UFV, 2007, p. 159-197.

VALE, FXR; ZAMBOLIM, L; ZAMBOLIM, EM; ALVARENGA, MAR. **Manejo integrado das doenças do tomateiro: epidemiologia e controle**. In: ALVARENGA, MAR. *Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia*. Editora UFLA, MG, 2004, p.213-308.

VALOIS, ACC; SALOMÃO, AN; ALLEM, AC. **Glossário de recursos vegenéticos vegetais**. Brasília: SPI, 1996, 62 p.

VEIGA, RFA. Bancos de germoplasma. Acervo dos bancos de germoplasma do Estado de São Paulo. p. 103-109. 2007. Disponível em [www.google.com.br](http://www.google.com.br). Acessado em novembro de 2007.

ZHANG, JF; WADDELL, C; SENGUPTA-GOPALAN, C; POTENZA, C; CANTRELL, RG. Diallel analysis of rott-knot nematode resistance based on galling index in unpland cotton. *Plant Breeding*, v.126, p. 164-168, 2007.

WAGGONER, PE. Progress curves of foliar disease: their interpretation and use. In: Leonard, K.J. & Fry, N. E. eds. **Plant Disease Epidemiology: Population dynamics and management**. New York, MacMillan. 1986. p. 3-54.

WARNOCK, SJ. A review of taxonomy and phylogeny of the genus *Lycopersicon*. **Horticultural Science**, v. 23, n. 4, p. 669-673, 1988.