

## Resposta à mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e ao *Tomato severe rugose virus* de acessos de *Solanum* subgênero *Leptostemonum*

Miguel Michereff-Filho<sup>1</sup>; Wesley DB Machini<sup>1</sup>; José L Mendonça<sup>1</sup>; Maria Esther de N Fonseca<sup>1</sup>; Niday AN Fernandes-Acioli<sup>2</sup>; Leonardo S Boiteux<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70351-970 Brasília-DF; boiteux@cnpq.embrapa.br; <sup>2</sup>UnB, Depto Fitopatologia, 70910-970 Brasília-DF

### RESUMO

A mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e a infecção por espécies de *Begomovirus* são dois graves problemas fitossanitários que afetam a produção e qualidade do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) e de outras solanáceas de importância econômica. O presente trabalho foi conduzido sob condições controladas, em casa de vegetação, visando avaliar a resposta ao *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) e à mosca-branca (*B. tabaci* biótipo B) de 36 acessos de espécies relacionadas ao gênero *Solanum* subgênero *Leptostemonum* (= grupo das solanáceas providas de espinhos). A inoculação de ToSRV foi realizada em mudas (43 dias após o semeio) utilizando-se um colônia virulífera de *B. tabaci* biótipo B. Duas cultivares de tomateiro foram incluídas como testemunhas suscetíveis. A avaliação ao ToSRV foi feita de acordo com uma escala de severidade de sintomas e a presença de infecção sistêmica foi verificada via reação em cadeia da polimerase (PCR) com 'primers' universais para espécies de *Begomovirus*. A maioria dos acessos apresentou uma resposta do tipo resistência ou quase imunidade ao ToSRV, não apresentando sintomas evidentes e nenhum indicio de infecção sistêmica ou acumulação viral. Um grupo reduzido de acessos de *S. stramonifolium*, *S. asperolanatum* e *S. jamaicense* apresentou uma resposta do tipo tolerância, caracterizada por baixa acumulação viral e sintomas suaves. O acesso *S. mammosum* 'CNPH 035', embora tolerante, foi o único que apresentou sintomas mais evidentes de infecção viral e acumulação de ToSRV. O mesmo grupo de 36 acessos foi avaliado em relação à colonização por *B. tabaci* em testes de livre escolha. Diferenças significativas foram observadas entre acessos para oviposição e o número de ninfas no quarto instar, indicando a presença de fatores de resistência ao inseto. Dez acessos de *S. asperolanatum*, *S. stramonifolium*, *S. paniculatum* e *S. syssimbrifolium* se mostraram completamente livres de oviposição. Desta forma, esses acessos do subgênero *Leptostemonum* podem ser considerados potenciais fontes de genes de resistência tanto para *B. tabaci* quanto para ToSRV. Essa diversidade genética pode ser transferida para outras espécies do gênero *Solanum* via técnicas de biologia celular e/ou isolamento e mobilização desses genes via transgenia. Os resultados também sugerem que, em condições naturais, espécies do subgênero *Leptostemonum* não representam importantes fontes de inóculo de ToSRV e/ou hospedeiras alternativas para *B. tabaci*.

**Palavras-chave:** Solanáceas espinhosas, *Begomovirus*, aleirodídeo, resistência, jurubebas.

### ABSTRACT

**Reaction to whitefly (*Bemisia tabaci*) and *Tomato severe rugose virus* of *Solanum* subgenus *Leptostemonum* accessions**

The whitefly (*Bemisia tabaci*) and the infection by *Begomovirus* species are two major problems affecting yield and quality of the tomato (*Solanum lycopersicum*) crop as well as other Solanaceae species of economic importance. The present work was conducted aiming to characterize the reaction of 36 accessions of the genus *Solanum* subgenus *Leptostemonum* (= spiny *Solanum* species) and closely related species to *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) and *B. tabaci*. Seedlings of the accessions (43 days after sowing) were exposed under greenhouse conditions to viruliferous whiteflies (*B. tabaci* biotype B) carrying an isolate of ToSRV. Two susceptible tomato cultivars were used as susceptible controls. Reaction to the virus was evaluated using a symptom severity scale and the systemic ToSRV infection was evaluated via PCR with universal begomovirus primers. A group of accessions from *S. stramonifolium*, *S. asperolanatum*, and *S. jamaicense* displayed mild symptoms and low virus accumulation. The accession *S. mammosum* 'CNPH 035', even though tolerant, was the only one displaying clear ToSRV symptoms and conspicuous systemic spread of the virus. The remaining accessions were found to be free of ToSRV symptoms and with no indication of systemic infection. This germplasm collection was also evaluated to *B. tabaci* in a free-choice assay under greenhouse conditions. Significant differences were observed for the number of eggs and number of 4<sup>th</sup> instar nymphs. A group of ten accessions from *S. asperolanatum*, *S. stramonifolium*, *S. paniculatum*, and *S. syssimbrifolium* displayed no signs of whitefly infestation. Therefore, accessions of the subgenus *Leptostemonum* might represent potential sources of resistance genes to both *B. tabaci* and ToSRV. This genetic diversity might be transferred to other *Solanum* species via conventional and/or transgenic approaches. Our results also indicated that these spiny *Solanum* species might have minor importance either as reservoirs of begomovirus or as alternative hosts of *B. tabaci* under natural conditions.

**Keywords:** spiny solanaceous, *Begomovirus*, whiteflies, resistance, jurubebas.

(Recebido para publicação em 20 de julho de 2011; aceito em 11 de julho de 2012)

(Received on July 20, 2011; accepted on July 11, 2012)

O gênero *Solanum* é o mais numeroso dentro da família Solanaceae, sendo composto por mais de 1.400 espécies, incluindo plantas de importância

econômica tais como o tomateiro (*Solanum lycopersicum*), batata (*S. tuberosum*), berinjela (*S. melongena*) e jiloeiro (*S. gilo*) (Hawkes, 1999).

O gênero *Solanum* possui uma ampla distribuição geográfica, sendo a América do Sul um dos centros de diversidade genética de muitos grupos genéricos

e infra-genéricos (Hawkes, 1999; Agra, 2007). Um grupo importante, que compreende cerca de 450 espécies endêmicas do Brasil e dos Neotrópicos, está classificado dentro do gênero *Solanum* subgênero *Leptostemonum*, também referido como o “grupo das solanáceas espinhosas” (Levin *et al.*, 2006; Chiarini & Barboza, 2007; Agra *et al.*, 2009).

Muitas das espécies do subgênero *Leptostemonum* são dotadas de variáveis densidades e topologia de espinhos sendo conhecidas, de maneira geral, como “jurubebas” (Agra *et al.*, 2009). *Solanum asperolanatum*, *S. stramonifolium*, *S. paniculatum*, *S. subinerme*, *S. jamaiscense*, *S. sisymbriifolium* e *S. mammosum* são algumas das espécies alocadas neste subgênero (Levin *et al.*, 2006; Weese & Bohs, 2007; Agra *et al.*, 2009). *Solanum paniculatum* (“jurubeba verdadeira”) e *S. asperolanatum* são plantas arbustivas com ampla dispersão geográfica desde a Patagônia até regiões da América Tropical (Levin *et al.*, 2006; Weese & Bohs, 2007). *Solanum stramonifolium*, *S. subinerme* e *S. jamaiscense* (mais adaptada a ambientes úmidos) são arbustos com distribuição na região norte da América do Sul, incluindo Brasil, Colômbia, Venezuela, Peru e Guianas (Agra *et al.*, 2009). *Solanum sisymbriifolium* (“joá-vermelho”) é uma planta nativa da América do Sul, de porte ereto, anual ou perene, rizomatosa e com frutos de coloração vermelha. *Solanum mammosum* é uma planta arbustiva que apresenta frutos amarelos (quando maduros) e de formato peculiar, caracterizado pela presença de protuberâncias bem marcantes (Levin *et al.*, 2006; Agra *et al.*, 2009).

O aleirodídeo (mosca-branca) *Bemisia tabaci* Genn. (Ordem: Hemiptera, Subordem: Sternorrhyncha e família: Aleyrodidae) é uma das principais pragas de muitas solanáceas de importância econômica, reproduzindo-se em mais de 300 hospedeiras alternativas (Byrne & Bellows, 1991). As moscas-brancas podem causar injúrias indiretas (sucção da seiva e liberação de toxinas) e indiretas, atuando como vetores de espécies do gênero *Begomovirus*

(família Geminiviridae) (Baldin *et al.*, 2005). Os begomovírus são agentes etiológicos das “geminiviroses”, importantes doenças do tomateiro e de outras solanáceas nas regiões tropicais e subtropicais (Polston & Anderson, 1997). Os sintomas típicos de infecção viral incluem nanismo, mosaico amarelo, clorose generalizada, mosqueado, rugosidade e enrolamento das folhas (Giordano *et al.*, 2005a). Até o início da década de 1990 os begomovírus eram de ocorrência esporádica e sem importância econômica (Boiteux *et al.*, 2008; Melo *et al.*, 2009). Após a década de 1990, um complexo extremamente diverso de espécies de *Begomovirus* emergiu no Brasil (Fernandes *et al.*, 2008), coincidindo com a introdução e dispersão do biótipo B do vetor *B. tabaci* no país (Lourenção & Nagai, 1994). Análises dos genomas virais revelaram um elevado grau de relacionamento genético entre as espécies de *Begomovirus* reportadas em tomateiro e em plantas daninhas e/ou nativas frequentemente associadas com o cultivo desta hortaliça. Esses dados indicam uma provável transferência natural de segmentos virais entre as espécies que infectam esses diferentes grupos de plantas hospedeiras (Ambrozevícius *et al.*, 2002).

Devido ao avanço dos surtos epidêmicos no Brasil, especialmente em cultivos de tomateiro, torna-se de extrema importância conhecer novas espécies de plantas hospedeiras alternativas de begomovírus e populações de *B. tabaci* presentes nas áreas produtoras. De fato, um número reduzido de estudos encontra-se disponível sobre o comportamento de acessos de espécies pertencentes ao subgênero *Leptostemonum* frente ao complexo begomovírus/mosca-branca. É também de extremo interesse para o melhoramento genético a identificação de espécies e/ou acessos do gênero *Solanum* que apresentem resistência aos begomovírus e/ou ao inseto vetor *B. tabaci*. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar as respostas de diferentes acessos de espécies desse subgênero à infecção por begomovírus e ao inseto vetor *B. tabaci*.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Material vegetal** – Foram utilizados

36 acessos do banco de germoplasma de *Solanum* subg. *Leptostemonum* e espécies afins mantidos na Embrapa Hortaliças (Tabela 1). As sementes dos acessos foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido (isopor) de 72 células contendo substrato esterilizado.

**Ensaio para resposta à infecção por ToSRV** - Os experimentos foram realizados em casas de vegetação na Embrapa Hortaliças. As sementes dos acessos das espécies selvagens germinaram de maneira errática. Desta forma, o número de plantas avaliadas foi variável entre os acessos. Para a avaliação da resposta à infecção por uma espécie de *Begomovirus*, as bandejas contendo plantas com 43 dias após a emergência (DAE) foram acondicionadas em uma casa de vegetação infestada com moscas-brancas (*B. tabaci* biótipo B) carregando um isolado *Tomato severe rugose virus* (ToSRV). O inóculo foi mantido em plantas de *S. lycopersicum* ‘Tospodoro’ (Giordano *et al.*, 2010). Como controles foram utilizados, nos ensaios, plantas sadias de *S. lycopersicum* cultivares ‘Viradoro’ (Giordano *et al.*, 2000) e ‘Tospodoro’, ambas suscetíveis a begomovírus. A linhagem ‘TX 468-RG’, resistente a begomovírus (Giordano *et al.*, 2005b; García-Cano *et al.*, 2008) foi utilizada como testemunha resistente ao ToSRV. Foram conduzidas avaliações semanais via observação visual da expressão de sintomas e a incidência de plantas com sintomas típicos de infecção por ToSRV aos 92, 99 e 106 DAE. A resposta à infecção foi estimada visualmente utilizando-se a seguinte escala de notas: 1= ausência de sintomas, 2= amarelamento e mosaico suave, 3= mosaico, enrugamento, clorose internerval e epinastia e 4= mosaico, enrugamento severo e nanismo (Giordano *et al.*, 2005b).

**Purificação e estimativa da concentração do DNA total de tecidos infectados** - A purificação de DNA total dos tecidos foi feita usando o método CTAB, seguindo o protocolo padrão com algumas adaptações (Boiteux *et al.*, 1999). A concentração do DNA foi ajustada para 20 ng/μL em TE (Tris 0,01M; EDTA 0,001M; pH 7,0).

**Avaliação de plantas com infecção sistêmica por *Begomovirus* via PCR** -

Segmentos dos DNA-A e DNA-B viral foram amplificados via PCR, sendo essa realizada em termo-cicladores do tipo *PCR System 9700* (Applied Biosystems). Os componentes, volumes e concentrações foram: 3,0 µL de DNA genômico (3 ng/µL); 1,3 µL de tampão 10X (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8.3) para *Taq* DNA Polimerase; 1,04 µL de dNTPs 2,5 mM; 1,5 µL de iniciadores ('primers') a 10 ng/µL e 0,2 µL de enzima *Taq* DNA Polimerase. O volume final foi completado para 13 µL com 4,92 µL de água deionizada (processo milli-Q®) e autoclavada. Os pares de 'primers' universais utilizados foram 'BegoAFor1'/'BegoARev1' para um segmento do DNA-A (Ha *et al.*, 2006) e 'PBL1v2040'/'PCRC1' para um segmento do DNA-B (Rojas *et al.*, 1993). O perfil de amplificação consistiu de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 4 minutos, anelamento dos 'primers' a 50°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 3 minutos, terminando em 7 minutos a 72°C. Os amplicons foram analisados em géis de agarose 1% (p/v), corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta.

**Sequenciamento de segmentos genômicos dos DNA-A e DNA-B em tecidos dos acessos de *Solanum* subg. *Leptostemonum*** - Os amplicons foram separados em eletroforese e diretamente sequenciados utilizando o protocolo BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit version 3.1 (Applied Biosystems). A identidade do isolado de ToSRV foi feita via sequenciamento, realizado em um sequenciador ABI PRIM 3100 da Embrapa Hortaliças, utilizando o *kit* *ABI Prism BigDye version 3.0 chemistry* (Applied Biosystems).

**Ensaio de preferência de oviposição da mosca-branca** - Foi realizado um teste com chance de escolha em condições de casa de vegetação. Mudas de pepino (*Cucumis sativus*) cv. Cai-pira, transplantadas para vasos de 2 L de substrato, mantidas em uma casa de vegetação isolada, foram utilizadas para multiplicação da população de mosca-branca. As sementes dos acessos de *Solanum* subg. *Leptostemonum* foram semeadas em bandejas de isopor de 72 células. Plantas com 99 DAE foram acondicionadas em telado e colocadas

em gaiola de tubo PVC de 0,50 m cobertas com tecido 'voil', visando manter os acessos temporariamente livres da presença de insetos vetores. Dentro das gaiolas foi instalada uma armadilha amarela adesiva para captura das moscas-brancas. Com 141 DAE as mudas (de cada acesso de *Solanum*) foram transplantadas para vasos de 3 L e dispostas aleatoriamente em seis gaiolas. Cada gaiola correspondeu a um bloco e recebeu uma planta de cada acesso. Aos 142 DAE as plantas de pepino previamente utilizadas para criação de moscas-brancas foram levadas para as gaiolas onde estavam as mudas dos acessos de *Solanum*. Cada planta de pepino continha aproximadamente 100 adultos de *B. tabaci* e antes da sua introdução na gaiola retirou-se a armadilha adesiva. Duas plantas de pepino infestadas com mosca-branca foram deixadas em cada gaiola durante 48 horas. A avaliação dos níveis de oviposição da mosca-branca nos acessos de *Solanum* foi avaliada aos 148 DAE, mediante coleta de cinco folhas/planta, totalizando-se 30 folhas por acesso. As amostras foliares foram ensacadas, etiquetadas e conservadas em freezer, para posterior contagem do número de ovos. O número de ninfas de quarto instar (pupas) foi avaliado aos 160 DAE com o auxílio de um microscópio estereoscópico binocular, com aumento de 40X. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, totalizando seis repetições por acesso, com uma planta por repetição. Os dados foram transformados em log (x+1), submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SAEG.

**Biotipagem molecular da população de mosca-branca usada nos testes de transmissão viral e resistência** - Foram coletados 10 indivíduos adultos por acesso, os quais foram macerados individualmente em tubos de microcentrífuga. Amostras do DNA das moscas-brancas foram purificadas separadamente usando o método de CTAB. O gene mitocondrial da citocromo oxidase subunidade I (mt COI) foi amplificado via PCR usando "primers" específicos (Simon *et al.*,

1994; Frohlich *et al.*, 1999; Brown, 2000; de Barro *et al.*, 2000; Boykin *et al.*, 2007). Uma alíquota do produto de PCR foi utilizada para o sequenciamento direto utilizando-se o Kit BigDye® versão 3 em um sequenciador ABI 3100 do Laboratório de Análise Genômica da Embrapa Hortaliças.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cultivares de tomateiro 'Viradoro' e 'Tospodoro' mostraram severos sintomas, indicando que o sistema de inoculação foi eficiente. A linhagem 'TX 468-RG' apresentou resposta resistente ao ToSRV, confirmando dados anteriores com este e outros begomovírus (Garcia-Cano *et al.*, 2008; Pereira-Carvalho *et al.*, 2010). A maioria dos acessos de *Solanum* subg. *Leptostemonum* apresentou uma resposta do tipo resistência ou quase imunidade ao ToSRV, não apresentando sintomas evidentes e nenhum indício de infecção sistêmica ou acumulação viral (até aos 60 dias pós-inoculação). Um grupo reduzido de acessos de *S. stramonifolium*, *S. asperolanatum* e *S. jamaicense* apresentou uma resposta do tipo tolerância, caracterizada por baixa acumulação viral e sintomas suaves. O acesso *S. mammosum* 'CNPH 035', embora tolerante, foi o único a apresentar sintomas mais nítidos bem como acumulação de ToSRV.

De acordo com os dados de sequenciamento, a população de *B. tabaci* utilizada nos dois ensaios para avaliação dos acessos de *Solanum* subg. *Leptostemonum* apresentaram maior relacionamento genético com o biótipo B (dados não apresentados). Foram observadas diferenças significativas entre acessos considerando-se o número de ovos e de ninfas de quarto instar da mosca-branca nas folhas. Os acessos com menor número de ovos (= menor preferência para oviposição) foram: 'CNPH 001', 'CNPH 002', 'CNPH 004', 'CNPH 019', 'CNPH 023', 'CNPH 027', 'CNPH 029', 'CNPH 034', 'CNPH 045' e 'CNPH 046'. Os acessos 'CNPH 003', 'CNPH 011', 'CNPH 018', 'CNPH 047' e 'CNPH 048' apresentaram uma resposta intermediária. Os demais acessos apresen-

**Tabela 1.** Reação a *Bemisia tabaci* biótipo B de acessos de *Solanum* subgênero *Leptostemonum* e espécies afins em teste com chance de escolha (reaction to *Bemisia tabaci* biotype B of accessions belonging to *Solanum* subgenus *Leptostemonum* in free-choice test). Brasília, Embrapa Hortaliças, 2010.

Código do acesso	Espécie de <i>Solanum</i>	Ocorrência/amostra de cinco folhas por acesso (média ± erro padrão da média)	
		Ovos	Ninfas de 4º instar
'CNPB 001'	<i>S. asperolanatum</i>	0,00 ± 0,00 c <sup>1</sup>	0,00 ± 0,0 c
'CNPB 002'	<i>S. asperolanatum</i>	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,0 c
'CNPB 003'	<i>S. asperolanatum</i>	4,67 ± 2,03 b	1,50 ± 0,5 c
'CNPB 004'	<i>S. asperolanatum</i>	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,0 c
'CNPB 005'	<i>S. asperolanatum</i>	16,00 ± 2,83 a	1,75 ± 0,63 c
'CNPB 006'	<i>S. asperolanatum</i>	27,25 ± 4,87 a	13,00 ± 2,38 b
'CNPB 007'	<i>S. asperolanatum</i>	1,60 ± 1,03 bc	1,20 ± 0,80 c
'CNPB 008'	<i>S. asperolanatum</i>	21,40 ± 2,47 a	8,20 ± 0,89 b
'CNPB 010'	<i>S. asperolanatum</i>	32,67 ± 2,57 a	21,00 ± 7,62 a
'CNPB 011'	<i>S. asperolanatum</i>	4,20 ± 2,46 b	2,00 ± 2,00 c
'CNPB 012'	<i>S. asperolanatum</i>	3,00 ± 3,00 bc	0,50 ± 0,50 c
'CNPB 013'	<i>S. asperolanatum</i>	17,67 ± 1,25 a	7,33 ± 5,23 c
'CNPB 015'	<i>S. asperolanatum</i>	17,00 ± 2,10 a	6,00 ± 0,26 b
'CNPB 016'	<i>S. asperolanatum</i>	18,33 ± 1,77 a	4,33 ± 1,87 c
'CNPB 017'	<i>S. asperolanatum</i>	19,83 ± 2,09 a	6,17 ± 0,46 b
'CNPB 018'	<i>S. asperolanatum</i>	5,75 ± 3,09 b	3,00 ± 2,78 c
'CNPB 019'	<i>S. stramonifolium</i>	0,75 ± 0,75 c	0,75 ± 0,75 c
'CNPB 020'	<i>S. stramonifolium</i>	16,33 ± 2,18 a	0,67 ± 0,67 c
'CNPB 021'	<i>S. stramonifolium</i>	53,00 ± 17,46 a	34,50 ± 9,36 a
'CNPB 023'	<i>S. stramonifolium</i>	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 024'	<i>S. stramonifolium</i>	18,00 ± 3,80 a	16,00 ± 3,60 a
'CNPB 025'	<i>S. stramonifolium</i>	16,00 ± 2,03 a	1,00 ± 1,00 c
'CNPB 027'	<i>S. paniculatum</i>	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 028'	<i>S. paniculatum</i>	1,00 ± 0,70 bc	1,00 ± 1,00 c
'CNPB 029'	<i>S. paniculatum</i>	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 030'	<i>S. paniculatum</i>	2,00 ± 1,81 bc	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 031'	<i>S. subinerme</i>	11,67 ± 2,69 a	7,33 ± 0,84 b
'CNPB 033'	<i>S. jamaiscense</i>	13,67 ± 1,85 a	4,50 ± 0,19 b
'CNPB 034'	<i>S. sisymbriifolium</i>	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 035'	<i>S. mamosum</i>	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 045'	<i>Solanum</i> sp.	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 046'	<i>Solanum</i> sp.	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c
'CNPB 047'	<i>Solanum</i> sp.	2,80 ± 1,02 b	1,80 ± 0,80 c
'CNPB 048'	<i>Solanum</i> sp.	8,67 ± 1,56 b	2,00 ± 1,37 c

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si de acordo com o teste de Scott-Knott (5% de significância) (means followed by the same letter in column do not differ by the Scott-Knott test (p= 0.05)).

taram níveis maiores de oviposição de *B. tabaci* (Tabela 1). Os resultados sugerem a existência de não-preferência para oviposição em alguns acessos do

gênero *Solanum* subg. *Leptostemonum* e de espécies afins. Os acessos que apresentaram as maiores densidades populacionais de ninfas de quarto instar foram

o 'CNPB 021', 'CNPB 024' e 'CNPB 010', respectivamente (Tabela 1). Os acessos com melhor desempenho foram: 'CNPB 001', 'CNPB 002', 'CNPB 004' (*S. asperolanatum*); 'CNPB 023' (*S. stramonifolium*); 'CNPB 027', 'CNPB 029' (*S. paniculatum*); 'CNPB 034' (*S. sisymbriifolium*); 'CNPB 045' e 'CNPB 046' (espécies ainda não-classificadas de *Solanum*). Assim, não surpreende o fato de que estes acessos também se mostraram resistentes ao ToSRV (que pode, desta forma, estar associada com a interferência na transmissão do vírus pela mosca-branca). No entanto, é interessante notar que embora o acesso *S. mamosum* 'CNPB 035' tenha sido o único a apresentar sintomas um pouco mais evidentes de infecção e acumulação de ToSRV, este também não foi eficientemente colonizado pelo vetor.

Os níveis elevados de resistência ao ToSRV observados em diferentes acessos de *Solanum* podem se manifestar em um ou em dois níveis: a entrada do patógeno (referente à eficiência de transmissão do vírus pelo vetor, o que implica o envolvimento de fatores de resistência ao vetor) e/ou a infecção local e/ou sistêmica. A reação dos acessos ao ToSRV foi avaliada com uma escala de notas de severidade de sintomas. A ocorrência de infecção sistêmica foi verificada via reação em cadeia da polimerase (PCR) com 'primers' universais para espécies de *Begomovirus*. Desta forma, as metodologias de avaliação da resposta a ToSRV empregadas não podem discriminar esses dois tipos de resistência. Uma maneira de comprovar que um determinado acesso apresenta resistência simultânea ao ToSRV e à *B. tabaci* será a condução de ensaios adicionais de inoculação via enxertia (com material infectado) ou via bombardeamento (biolística) com DNA viral.

O presente estudo enfatizou metodologicamente, a detecção de fatores de resistência relacionados ao comportamento de seleção da planta hospedeira pela mosca-branca. No entanto, não podem ser descartados efeitos negativos de alguma característica dos diferentes acessos de *Solanum* subg. *Leptostemonum* na biologia do inseto (sobrevivência de ninfas do 1º ao 4º instar), ou seja, a existência de antibiose.

Isto será devidamente avaliado em estudos futuros. Nesse sentido, é interessante mencionar que Mairesse (2005) observou que o extrato aquoso de folhas de *S. paniculatum* (uma das espécies com acessos avaliados no presente estudo) propiciou efeitos deletérios em lagartas de segundo instar de *Spodoptera frugiperda*, quando adicionado à dieta artificial do inseto. Também há relato da ação inseticida do extrato etanólico de frutos de *S. stramonifolium* sobre larvas de terceiro instar do mosquito *Anopheles darlingi*, principal vetor de malária na região amazônica (Rodrigues et al., 2004).

Muitas espécies do gênero *Solanum* subg. *Leptostemonum* são endêmicas no Brasil (Agra, 2007) e apresentam ciclo de vida perene ou semi-perene, podendo, desta forma, manter populações virais e/ou de *B. tabaci* entre as estações de cultivo. Neste aspecto, elas representariam um importante componente epidemiológico, contribuindo para a emergência e/ou a manutenção de espécies virais bem como servir como sítios de geração de novos recombinantes, como tem sido observado em condições naturais no Brasil (Ambrozevícius et al., 2002). Existem registros prévios indicando *S. paniculatum* como uma suposta hospedeira de *B. tabaci* (Arioli & Link, 1986), provavelmente do biótipo A. No entanto, o presente estudo sugere que, em condições naturais, os acessos de várias espécies de 'jurubebas' não representam importantes fontes de inóculo de begomovírus e/ou hospedeiras alternativas para *B. tabaci* biótipo B.

Em conclusão, os resultados obtidos mostram uma grande diversidade de fontes de resistência a ToSRV em acessos do gênero *Solanum* subg. *Leptostemonum* e espécies afins. Devido os níveis de resistência apresentados, muitos destes acessos podem ser considerados promissores para utilização em programas de melhoramento genético. No nosso estudo merecem destaque especial dez acessos distribuídos nas espécies *S. stramonifolium*, *S. asperolanatum*, *S. sisymbriifolium* e *S. paniculatum* que combinaram resistência do tipo imunidade ao ToSRV e não infestação por *B. tabaci* (ausência de oviposição).

A infecção por espécies de *Begomovirus* e as injúrias causadas por seu vetor (biótipos de *B. tabaci*) constituem atualmente um dos mais sérios problemas na cultura do tomateiro no Brasil (Boiteux et al., 2007; Fernandes et al., 2008). Para contornar estes problemas, programas de melhoramento genético têm buscado desenvolver cultivares de *S. lycopersicum* resistentes a partir de fontes de amplo espectro de resistência, incluindo germoplasma de outras espécies do gênero *Solanum* para posterior introgressão (Giordano et al., 2005b).

No aspecto fitotécnico, a ausência de ataque da mosca-branca e resistência ao ToSRV em parte dos acessos do gênero *Solanum* subg. *Leptostemonum* é mais uma característica de interesse que se soma a outras vantagens previamente identificadas nesse germoplasma (Mendonça et al., 2009a; 2009b), incluindo resistência à murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) e a espécies de nematóides-das-galhas (*Meloidogyne javanica* e *M. mayaguensis*). Esses atributos vêm sendo utilizados, atualmente, apenas no desenvolvimento de porta-enxertos multi-resistentes para tomateiro e outras solanáceas. No entanto, essa abundância de características/genes de interesse nesses acessos de *Solanum* subg. *Leptostemonum* e espécies afins podem servir como um estímulo para novas ações de pesquisa visando introgridir essa diversidade para outras espécies do gênero *Solanum* via estratégias de biologia celular e/ou por meio do isolamento e mobilização destes genes via transgenia/cisgenia.

## AGRADECIMENTOS

Wesley Machini (graduando em Agronomia das Faculdades Integradas da Terra de Brasília) foi bolsista PIBIC/CNPq durante o período de realização do presente trabalho. Maria Esther de N Fonseca e Leonardo S Boiteux são bolsistas de produtividade CNPq (MCT).

## REFERÊNCIAS

AGRA MF. 2007. Diversity and distribution of *Solanum* subg. *Leptostemonum* in Brazil. *Acta*

*Horticulturae* 745: 31-43.

- AGRA MF; NURIT-SILVA K; BERGER LR. 2009. Flora da Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae). *Acta Botanica Brasilia* 23: 826-842.
- AMBROZEVIĆIUS LP, CALEGARIO RF, FONTES EPB, CARVALHO MG; ZERBINI FM. 2002. Genetic diversity of *Begomovirus* infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27: 372-377.
- ARIOLI MCS; LINK D. 1986. Nota de ocorrência de *Delphastus argentificus* Nunenmacher, 1937 na região de Santa Maria, RS. *Revista Centro de Ciências Rurais, Santa Maria*, 16: 57-60.
- BALDIN ELL; VENDRAMIM JD; LOURENÇÃO AL. 2005. Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology* 34: 435-441.
- BOITEUX LS; FONSECA MEN; SIMON PW. 1999. Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA-based genetic fingerprinting analysis in carrot. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124: 32-38.
- BOITEUX LS; OLIVEIRA VR; SILVA CH; MAKISHIMA N; INOUE-NAGATA AK; FONSECA MEN; GIORDANO LB. 2007. Reaction of tomato hybrids carrying the *Ty-1* locus to Brazilian bipartite *Begomovirus* species. *Horticultura Brasileira* 25: 20-23.
- BOITEUX LS; MELO PCT; VILELA NJ. 2008. Tomate para Consumo *in natura*. p. 557-567. In: ALBUQUERQUE ACS; SILVAAG (eds). *Desenvolvimento da Agricultura Tropical: Quatro Décadas de Inovações Tecnológicas, Institucionais e Políticas*. Brasília, DF: Embrapa, volume 1.
- BOYKIN LM; SHATTERS JRRG; ROSELL RC; MCKENZIE CL; BAGNALL RA; DE BARRO P; FROHLICH DR. 2007. Global relationships of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) revealed using Bayesian analysis of mitochondrial COI DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 1306-1319.
- BROWN JK. 2000. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector-*Begomovirus* complexes. *Virus Research* 71: 233-260.
- BYRNE DN; BELLOWS JR TS. 1991. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology* 36: 431-457.
- CHIARINI FE; BARBOZA GE. 2007. Placentation patterns and seed number in fruits of South American *Solanum* subgen. *Leptostemonum* (Solanaceae) species. *Darwiniana* 45:163-174.
- DE BARRO PJ; DRIVER F; TRUEMAN JWH; CURRAN J. 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16: 29-36.

- FERNANDES FR; ALBUQUERQUE LC; GIORDANO LB; BOITEUX LS; DE AVILA AC; INOUE-NAGATA AK. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite *Begomovirus* species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36: 251-258.
- FROHLICH DR; TORREZ-JEREZ I; BEDFORD ID; MARKHAM PG; BROWN JK. 1999. A phylogeographic analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology* 8: 1683-1691.
- GARCÍA-CANO E; RESENDE RO; BOITEUX LS; GIORDANO LB; FERNÁNDEZ-MUÑOZ R; MORIONES E. 2008. Phenotypic expression, stability, and inheritance of a recessive resistance to monopartite begomoviruses associated with tomato yellow leaf curl disease in tomato. *Phytopathology* 98: 618-627.
- GIORDANO LB; ÁVILAAC; CHARCHAR JM; BOITEUX LS; FERRAZ E. 2000. 'Viradoro': A tospovirus-resistant processing tomato cultivar adapted to tropical environments. *HortScience* 35: 1368-1370.
- GIORDANO LB; FONSECA MEN; SILVA JBC; INOUE-NAGATA AK; BOITEUX LS. 2005a. Efeito da infecção precoce por *Begomovirus* com genoma bipartido em características de frutos de tomate industrial. *Horticultura Brasileira* 23:815-818.
- GIORDANO LB; SILVA-LOBO VL; SANTANA FM; FONSECA MEN; BOITEUX LS. 2005b. Inheritance of resistance to bipartite *Tomato chlorotic mottle begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv 'Tyking'. *Euphytica* 143: 27-33.
- GIORDANO LB; BOITEUX LS; QUEZADO-DUVAL AM; FONSECA MEN; RESENDE FV; REISA; GONZÁLEZ M; NASCIMENTO WM; MENDONÇA JL. 2010. BRS Tospodoro: a high lycopene processing tomato cultivar adapted to organic crop systems and with multiple resistance to pathogens. *Horticultura Brasileira* 28: 241-245.
- HA C; COOMBS S; REVILL P; HARDING R; VU M; DALE J. 2006. *Corchorus yellow vein virus*, a New World geminivirus from the Old World. *Journal of General Virology* 87: 997-1003.
- HAWKES JG. 1999. The economic importance of the family Solanaceae. In: NEE M; SYMON DE; LESTER RN; JESSOP JP (eds). *Solanaceae IV Advances in Botany and Utilization*. Royal Botanic Gardens, Kew, Surrey, Reino Unido.
- LEVIN RA; MYERS NR; BOHS L. 2006. Phylogenetic relationships among the "spiny Solanums" (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). *American Journal of Botany* 93: 157-169.
- LOURENÇÃO AL; NAGAI H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. *Bragantia* 53: 53-59.
- MAIRESSELAS. 2005. Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos. Santa Maria: UFSM-RS (Tese doutorado).
- MELO PCT, MELO AMT, BOITEUX LS. 2009. Overview and perspectives of tomato breeding for fresh market adapted to mild tropical climates of Brazil. *Acta Horticulturae* 821: 55-62.
- MENDONÇA JL; LOPES CA; BOITEUX LS; MOITA AW; OLIVEIRA AR. 2009a. Compatibilidade de enxertia de tomateiro e jurubeba (*S. stramonifolium* e *S. asperolanatum*). Anais do 3º Congresso Brasileiro de Tomate Industrial e 1º Seminário Nacional de Tomate de Mesa, Goiânia-GO (CD-ROM).
- MENDONÇA JL; ROSSATO M; SILVA BB; LOPES CA. 2009b. Resistência de jurubebas (*Solanum* spp.) a duas biovaras de *Ralstonia solanacearum*. *Tropical Plant Pathology* 34: S32.
- PEREIRA-CARVALHO RC; BOITEUX LS; FONSECA MEN; DÍAZ-PENDÓN JA; MORIONES E; FERNÁNDEZ-MUÑOZ R; CHARCHAR JM; RESENDE RO. 2010. Multiple resistance to *Meloidogyne* spp. and to bipartite and monopartite *Begomovirus* spp. in wild *Solanum* (*Lycopersicon*) accessions. *Plant Disease* 94: 179-185.
- POLSTON JE; ANDERSON PK. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the western hemisphere. *Plant Disease* 81: 1358-1369.
- RODRIGUES AF; ESCOBAR AL; SANTOS F; AZEVEDO MS. 2004. Atividade larvívica de frutos do *Solanum stramonifolium* Jacq. contra *Anopheles darlingi* e a problemática da malária em área indígena. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA (UNIR), 13. Anais... Porto Velho, RO: PROPEX/EDUFRO.
- SIMON C; FRATI F; BECKEMBACH A; CRESPI B; LIU H; FLOOK, P. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of Entomological Society of America* 87: 651-701.
- WEESE TL; BOHS L. 2007. A three-gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). *Systematic Botany* 32: 445-463.