

Reação de acessos de tomateiro portando o gene *Ty-2* (introgridido de *Solanum habrochaites* f. *glabratum*) a um isolado de begomovírus de genoma bipartido.

Leonardo S. Boiteux¹; Rita C. Pereira-Carvalho^{1,2}; Alice K. Inoue-Nagata¹; Maria Esther de N. Fonseca¹; Renato de O. Resende²; Rafael Fernández-Muñoz³

¹Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPQ), CP 218, 70.359-970, Brasília-DF;

²Departamentos de Fitopatologia & Biologia Celular, UnB, Brasília-DF, 70.910-970. ³Est. Exp. “La Mayora”, CSIC, E-29750 Algarrobo-Costa, Málaga, Espanha.

RESUMO

Um complexo de espécies pertencentes ao gênero *Begomovirus* foi observado infectando tomateiro após a introdução e a disseminação do biótipo B de *Bemisia tabaci* (mosca-branca) nas regiões produtoras de tomate no Brasil. As principais estratégias de melhoramento para obter cultivares com resistência durável e estável, dentro deste cenário de extrema variabilidade viral, são: (1) busca de fontes de amplo espectro de resistência e/ou (2) a “piramidização” de diferentes genes de resistência em linhagens elite. O gene *Ty-2* foi introgridido a partir de acessos de (*Solanum habrochaites* f. *glabratum* = *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*) e tem mostrado bons níveis de resistência para isolados asiáticos de *Begomovirus*. O objetivo do nosso trabalho foi avaliar a performance de três linhagens, contendo o gene/locus *Ty-2*, em condição de homozigose, contra um isolado viral pertencente ao complexo de *Begomovirus* do Brasil. As reações das plantas contendo o *Ty-2* variaram de respostas do tipo imune até um leve mosaico. Os testes de hibridização confirmaram a avaliação feita com base em uma escala visual de severidade de sintomas. A identificação de novas fontes poderá permitir a ampliação da base genética dos programas de melhoramento visando resistência a *Begomovirus* e, potencialmente, antecipar os problemas decorrentes do aparecimento de variantes/espécies capazes de superar os genes de resistência atualmente em uso.

Palavras-chave: tomate, *Begomovirus*, melhoramento, resistência.

ABSTRACT – Reaction of tomato accessions with the gene *Ty-2* (introgressed from *Solanum habrochaites* f. *glabratum*) to a bipartite begomovirus isolate.

An extremely diverse tomato-infecting bipartite *Begomovirus* species complex has emerged after the introduction and spread of the whitefly *Bemisia tabaci* biotype B in Brazil. Tomato breeding aiming to develop stable and durable resistant cultivars in this scenario of massive *Begomovirus* variability might concentrate in two major strategies: (1) deployment of wide-spectrum resistance sources, and (2) increase the efforts to pyramidize different resistance factors into single elite inbred lines. The gene *Ty-2*, introgressed from *Solanum habrochaites* f. *glabratum* (= *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*), has been reported controlling tolerance to monopartite *Begomovirus* species in Asia. The main objective of the present work was to evaluate the reaction of lines carrying chromosomal segments with the *Ty-2* against a bipartite *Begomovirus* isolate from the Brazilian viral complex. A set of three inbred lines (carrying the *Ty-2* allele in homozygous condition) was inoculated with a begomovirus. The reaction of the *Ty-2*-carrying lines ranged from an immune-like response to slight vein clearing. Hybridization tests confirmed the results obtained using visual analyses of symptoms. The identification of new sources would allow the broadening of the genetic basis of *Begomovirus* resistance for tomato breeding programs and could anticipate the potential emergence of new variants/species able to “break-down” the resistance genes currently in use.

Keywords: tomato, *Begomovirus*, breeding, resistance.

INTRODUÇÃO

Um notável aumento na diversidade de espécies de *Begomovirus* capazes de infectar tomateiro foi observado após a introdução do biótipo B da mosca-branca (*Bemisia tabaci* Gennadius) no Brasil (RIBEIRO *et al.*, 2003). Um complexo de espécies e recombinantes tem sido caracterizado ao longo dos últimos anos via sequenciamento de segmentos de genomas de isolados coletados nas principais regiões produtoras de tomate no Brasil (RIBEIRO *et al.*, 2003; INOUE-NAGATA *et al.*, 2006). As principais estratégias do melhoramento genético visando desenvolver cultivares com resistência durável e estável dentro deste cenário de extrema variabilidade viral são: (1) busca de fontes de amplo espectro de resistência e/ou (2)

a “piramidização” de diferentes genes de resistência. O gene *Ty-2* foi introgridido a partir de *Solanum habrochaites* Knapp & Spooner f. *glabratum* (= *Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl. f. *glabratum* C.H. Müll.) e que tem mostrado resistência a isolados asiáticos de *Begomovirus* (LAPIDOT & FRIEDMANN, 2002). O objetivo do trabalho foi avaliar a resposta de linhagens contendo o gene *Ty-2* contra um isolado do complexo de espécies de *Begomovirus* bipartidos do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Três linhagens portando o gene *Ty-2* (‘CNPH 1683’; ‘CNPH 1684’ e ‘CNPH 1685’) foram semeadas em bandejas de isopor com substrato. As plantas permaneceram por 15 dias em uma casa de vegetação livre de mosca-branca. As mudas foram então transferidas para uma casa de vegetação com moscas-brancas virulíferas, onde foram mantidas por sete dias. Os insetos foram eliminados com Imidacloprid e as plantas foram transplantadas para vasos com 3L de solo em uma casa de vegetação livre de insetos. A infecção foi estimada visualmente (aos 23 dias após o transplântio) por um índice de severidade, utilizando-se uma escala de notas variando: 1=sem sintomas; 2=amarelecimento e mosaico; 3=mosaico, enrugamento dos folíolos, clorose internerval, epinastia e 4= mosaico, enrugamento severo e nanismo. A cultivar ‘Viradoro’ (suscetível a *Begomovirus*) foi utilizada como testemunha. Amostras foliares foram coletadas na região apical para testes de hibridização. A extração do suco vegetal foi realizada em tampão fosfato de potássio. As amostras foram aplicadas em membrana de Náilon N⁺, hibridizada com uma sonda [correspondendo ao segmento da capa protéica (CP) de um isolado de *Tomato rugose severe virus* (ToRMV) coletado no DF] marcada com digoxigenina e revelada por colorimetria (NBT-BCIP), utilizando anti-soro anti-digoxigenina conjugado com fosfatase alcalina (Roche). Aos 43 dias após o transplântio (13 após o teste de hibridização) as plantas foram avaliadas novamente para sintomas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das três linhagens avaliadas, ‘CNPH 1683’ foi a que apresentou melhor resposta ao *Begomovirus*. Todas as 25 plantas desta linhagem não mostraram sintomas e apenas uma amostra mostrou sinal positivo na hibridização com a sonda. As linhagens ‘CNPH 1684’ e ‘CNPH 1685’ apresentaram inicialmente plantas com

reação variando do tipo imune até sintomas suaves de clorose de nervuras (notas variando de 1,0 a 2,0), resultados confirmados na hibridização para presença ou não do vírus. Entretanto, aos 36 dias após o transplântio, estas plantas apresentaram recuperação com a maioria recebendo nota =1. Desta forma, todas as linhagens portando o “locus” *Ty-2*, apresentam elevados níveis de resistência ao isolado viral utilizado. Folhas foram coletadas para extração de DNA viral e posterior amplificação com “primers” universais visando à identificação da espécie viral usada como inóculo. A identificação de novas fontes de resistência a *Begomovirus* poderá permitir a ampliação da base genética dos programas de melhoramento e, potencialmente, antecipar os problemas decorrentes do aparecimento de novas variantes/espécies capazes quebrar a resistência das fontes atualmente em uso.

LITERATURA CITADA

- INOUE-NAGATA AK; MARTIN DP; BOITEUX LS; GIORDANO LB; BEZERRA IC; ÁVILA AC. 2006. New species emergence via recombination among isolates of the Brazilian tomato infecting *Begomovirus* complex. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, p.1329-1332.
- LAPIDOT M; FRIEDMANN M. 2002. Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. *Annals of Applied Biology*, v.140, p.109-127
- RIBEIRO SG; AMBROZEVICIUS LP; ÁVILA AC; BEZERRA IC; CALEGARIO RF; FERNANDES JJ; LIMA MF; MELLO RN; ROCHA H; ZERBINI FM. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology*, v.148, p.281-295.