



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

**BEGOMOVIROSES NO CULTIVO DO TOMATEIRO  
NO BRASIL: VARIABILIDADE E CARACTERIZAÇÃO  
DE NOVAS ESPÉCIES VIRAIS E DIVERSIDADE DO  
VETOR *Bemisia tabaci*.**

**NIDAY ALLINE NUNES FERNANDES**

**Brasília – DF**

**2015**

**NIDAY ALLINE NUNES FERNANDES**

**BEGOMOVIROSES NO CULTIVO DO TOMATEIRO NO BRASIL:  
VARIABILIDADE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES VIRAIS E  
DIVERSIDADE DO VETOR *Bemisia tabaci*.**

Tese apresentada à Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Fitopatologia pelo Programa de Pós-graduação em Fitopatologia.

**Orientador**

Dr. Leonardo Silva Boiteux, Ph.D.

**BRASÍLIA  
DISTRITO FEDERAL - BRASIL**

**2015**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Fernandes, Niday Aline Nunes.

Begomoviroses no cultivo do tomateiro no Brasil: variabilidade e caracterização de novas espécies virais e diversidade do vetor *Bemisia tabaci*. / Niday Aline Nunes Fernandes.

Brasília, 2015.

200 p.

Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília.

1 – *Begomovirus*. 2 – *Bemisia tabaci*. 3 – Diversidade.

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Begomoviroses no cultivo do tomateiro no Brasil: variabilidade e caracterização de novas espécies virais e diversidade do vetor *Bemisia tabaci*.

À minha mãe Carmosa Nunes, que mesmo fisicamente distante,  
se fez presente de forma incondicional em cada momento  
desta conquista e de tantas outras, *dedico*.

## **AGRADECIMENTOS**

Querido Deus, te agradeço pelas bênçãos sem fim e pela alegria de viver em Tua presença.  
(Salmo 21:6)

Agradeço à minha Grande Família, pelo amor, força, torcida e incentivo durante toda esta caminhada. Agradeço por estarem sempre ao meu lado, apesar dos quilômetros de distância.

Com muita admiração e respeito, agradeço ao Dr. Leonardo Boiteux e à Dra. Maria Esther Fonseca, pela orientação, oportunidade de crescimento profissional, amizade, paciência, confiança e valiosos ensinamentos.

Agradeço aos amigos do Laboratório de Genômica, Melhoramento Vegetal e Fitopatologia da Embrapa Hortaliças, pela amizade e alegria de todos os dias. Nada somos se não tivermos o apoio, o carinho e o amor de todos que nos cercam.

À Universidade de Brasília e ao Departamento de Fitopatologia pela oportunidade da realização do Doutorado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (Embrapa Hortaliças e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) pela disponibilidade da infraestrutura para o desenvolvimento científico deste trabalho.

À CAPES e ao CNPQ pelo auxílio financeiro.

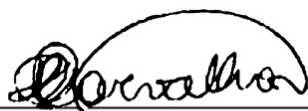
A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, minha sincera gratidão.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Doutor **Leonardo Silva Boiteux**, com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**Begomoviroses no cultivo do tomateiro no Brasil: variabilidade e caracterização de novas espécies virais e diversidade do vetor *Bemisia tabaci*.**

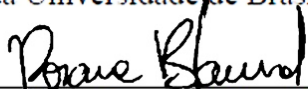
**Niday Alline Nunes Fernandes**

TESE APROVADA em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ por:



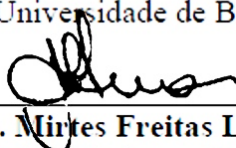
**Dra. Rita de Cássia Pereira Carvalho**

Dep. de Fitopatologia da Universidade de Brasília – Examinador Interno



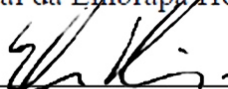
**Dra. Rosana Blawid**

Dep. de Biologia Celular da Universidade de Brasília – Examinador Externo



**Dra. Mirtes Freitas Lima**

Laboratório de Virologia Vegetal da Embrapa Hortaliças – Examinador Externo

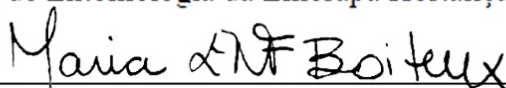


**Dr. Érico de Campos Dianese**

Setor de Fitossanidade da Universidade Federal de Goiás – Examinador Externo


**Dr. Jorge Anderson Guimarães**

Laboratório de Entomologia da Embrapa Hortaliças – Suplente



**Dra. Maria Esther de Noronha Fonseca**

Laboratório de Genômica da Embrapa Hortaliças – Suplente



**Dr. Leonardo Silva Boiteux**

Laboratório de Melhoramento Vegetal da Embrapa Hortaliças – Orientador – Presidente

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	iv
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vi
<b>RESUMO GERAL</b> .....	ix
<b>GENERAL ABSTRACT</b> .....	xi
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	3
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	3
<b>CAPÍTULO 1. Revisão de Literatura</b> .....	4
1. O tomateiro .....	5
2. Os geminivírus .....	6
3. Características do gênero <i>Begomovirus</i> .....	13
4. Mecanismos de replicação dos geminivírus .....	21
5. Variabilidade genética em begomovírus .....	23
6. Diversidade de begomovírus em tomateiro no Brasil .....	28
7. <i>Bemisia tabaci</i> e a transmissão de begomovírus .....	31
8. Literatura citada .....	37
<b>CAPÍTULO 2. Duas décadas das begomoviroses do tomateiro no Brasil após a invasão de <i>Bemisia tabaci</i> MEAM 1: vírus predominantes, ocorrência endêmica, declínio e extinção de espécies virais em um cenário de extrema diversidade e constante evolução.</b> .....	57
Resumo .....	58
Abstract .....	60
1. Introdução .....	62
2. Material e Métodos .....	65
2.1. Obtenção dos isolados .....	65
2.2. Análise do DNA viral .....	66
2.3. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação obtidos ...	66
2.4. Comparações de sequências .....	66
3. Resultados e Discussão .....	67
4. Literatura citada .....	81

<b>CAPÍTULO 3. Caracterização molecular e análise filogenética de novas espécies de begomovírus infectando o tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) de maneira endêmica na região Norte do Brasil.</b> .....	88
Resumo .....	89
Abstract .....	91
1. Introdução .....	93
2. Material e Métodos .....	95
2.1. Obtenção dos isolados .....	95
2.2. Análises iniciais do DNA viral .....	95
2.3. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação obtidos ...	96
2.4. Comparações de sequências .....	96
2.5. Obtenção da sequência completa do componente DNA-A dos isolados AM-10, TO-45, TO-83 e TO-167 .....	96
2.6. Alinhamento das sequências e análise filogenética .....	97
3. Resultados e Discussão .....	97
4. Literatura citada .....	111
<b>CAPÍTULO 4. Primeiro relato e sequência completa do genoma do DNA-A de variantes do vírus Sida yellow net virus infectando tomateiro no Brasil.</b> .....	119
Resumo .....	120
Abstract .....	122
1. Introdução .....	124
2. Material e Métodos .....	125
2.1. Obtenção dos isolados e análises iniciais do DNA viral .....	125
2.2. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação obtidos ...	126
2.3. Obtenção da sequência completa do componente DNA-A dos isolados selecionados para caracterização viral .....	126
2.4. Alinhamento das sequências e análise filogenética .....	127
3. Resultados e Discussão .....	127
4. Literatura citada .....	136
<b>CAPÍTULO 5. Análise do gene mtCOI de populações de mosca-branca em tomateiro no Brasil indica a predominante presença de <i>Bemisia tabaci</i> MEAM 1 em associação com múltiplas espécies de begomovírus de genoma bipartido</b> .....	142
Resumo .....	143



Abstract .....	145
1. Introdução .....	147
2. Material e Métodos .....	149
2.1. Obtenção dos isolados de begomovírus .....	149
2.2. Análise do DNA do inseto vetor presentes em tecido foliar de tomateiros infestados .....	149
2.3. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação .....	150
2.4. Comparações de sequências .....	150
2.5. Banco de sequências de referências de Aleirodídeos .....	150
2.6. Alinhamento das sequências e análise filogenética .....	151
2.7. Análises do isolados virais associados com as populações de mosca- branca .....	151
3. Resultados e Discussão .....	152
4. Literatura citada .....	168
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	174
<b>ANEXO 1</b> .....	176

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 1. Revisão de Literatura.**

**Tabela 1** – Gêneros classificados na família *Geminiviridae* (ICTV, 2015). ..... 8

### **CAPÍTULO 2. Duas décadas das begomoviroses do tomateiro no Brasil após a invasão de *Bemisia tabaci* MEAM 1: vírus predominantes, ocorrência endêmica, declínio e extinção de espécies virais em um cenário de extrema diversidade e constante evolução.**

**Tabela 1** – Resumo geral da diversidade de 1.055 isolados e sua catalogação em termos de espécies, variantes de sequências e estirpes de begomovírus de tomateiro identificados nas principais regiões produtoras do Brasil (cinco regiões, 14 Estados e o Distrito Federal). ..... 75

**Tabela 2** – Isolado, local e data da coleta, espécie viral, porcentagem de identidade *Blastn* e número de acesso dos 126 isolados de begomovírus do tomateiro que podem representar potenciais novas espécies de acordo com critérios de demarcação propostos por Brown *et al.* (2015). ..... 79

### **CAPÍTULO 3. Caracterização molecular e análise filogenética de novas espécies de begomovírus infectando o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) de maneira endêmica na região Norte do Brasil.**

**Tabela 1** – Análise inicial do genoma completo do componente DNA-A de quatro isolados de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) que representam potenciais novas espécies virais. Os isolados usados no presente estudo foram caracterizados de acordo com o local e data da coleta (mês/ano), código do isolado, espécie viral com maior nível de identidade *BLASTn* (% de identidade) e número de acesso no GenBank correspondente a espécie viral que apresentou níveis mais elevados de identidade com cada isolado. .... 105

**Tabela 2** – Lista dos vírus com maior porcentagem de identidade (resultado do *BLASTn*) para cada uma das quatro ORFs do componente DNA-A dos isolados **AM-010** (HM357461), **TO-045** (HM357456), **TO-083** (KC626021) e **TO-167** (KC791691). A análise comparativa foi realizada com as espécies de begomovírus disponíveis no GenBank e descritos em Brown *et al.* (2015). ..... 108

<b>Tabela 3</b> – Lista dos 33 begomovírus utilizados na análise filogenética a partir da informação do DNA-A completo de cada espécie. A árvore filogenética incluiu as quatro potenciais novas espécies virais representadas pelos isolados <b>AM-10</b> (Chino del tomate Amazonas virus – CdTAV); <b>TO-45</b> (Tomato golden leaf distortion virus – ToGLDV); <b>TO-83</b> (Tomato golden leaf spot virus – ToGLSV) e <b>TO-167</b> (Tomato bright yellow mottle virus – ToBYMoV). .....	109
---	-----

**CAPÍTULO 4. Primeiro relato e sequência completa do genoma do DNA-A de variantes do vírus Sida yellow net virus infectando tomateiro no Brasil.**

<b>Tabela 1</b> – Lista dos 34 begomovírus utilizados na análise filogenética a partir da informação do DNA-A completo de cada espécie. A árvore filogenética incluiu os três novos variantes de sequência de Sida yellow net virus (JX871376), representados pelos isolados <b>AM-012</b> , <b>RJ-016</b> e <b>RJ-028</b> . .....	134
--	-----

**CAPÍTULO 5. Análise do gene mtCOI de populações de mosca-branca em tomateiro no Brasil indica a predominante presença de *Bemisia tabaci* MEAM 1 em associação com múltiplas espécies de begomovírus de genoma bipartido.**

<b>Tabela 1:</b> Lista de 62 populações de <i>Bemisia tabaci</i> obtidas de plantas de tomateiro (local e data de coleta, isolado, identidade com a sequência de consenso MEAM 1 e espécie de begomovírus associada com cada população de <i>B. tabaci</i> ). .....	158
<b>Tabela 2.</b> Lista das 37 espécies de <i>Bemisia tabaci</i> utilizados na análise filogenética. ....	161

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1. Revisão de Literatura.

**Figura 1.** Organização genômica típica de isolados dos gêneros *Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Curtovirus*, *Becurtovirus*, *Turncurtovirus* e *Eragrovirus*. As ORFs no sentido viral (V) e complementar (C) estão indicadas. LIR, região intergênica longa; SIR, região intergênica curta; V1, CP (proteína capsidial); V2 (proteína de movimento); V3 (gene regulador); C1, Rep (proteína associada à replicação); C2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3, REn, (proteína potenciadora de replicação); C4 (proteína determinante de sintoma). (Figura modificada de Varsani *et al.*, 2014b). ..... 13

**Figura 2** – Organização genômica típica dos begomovírus monopartidos (A), bipartidos do “Velho Mundo” (B) e bipartidos do “Novo Mundo” (C). Os círculos representam o genoma viral e as setas coloridas indicam as respectivas ORFs (*Open Reading Frames*) no sentido viral (V) e complementar (C). V1 ou AV1, CP (proteína capsidial); V2 ou AV2 (proteína de movimento); C1 ou AC1, Rep (proteína associada à replicação); C2 ou AC2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3 ou AC3, REn, (proteína potenciadora de replicação); C4 ou AC4 (proteína determinante de sintoma); BV1, NSP (proteína que controla o tráfego nuclear); BC1, MP (proteína que controla o movimento célula-a-célula); A-rich (região rica em adenina); SCR (*satellite conserved region*, região conservada do satélite);  $\beta$ C1 (região rica em adenina). ..... 16

### CAPÍTULO 2. Duas décadas das begomoviroses do tomateiro no Brasil após a invasão de *Bemisia tabaci* MEAM 1: Vírus predominantes, ocorrência endêmica, declínio e extinção de espécies virais em um cenário de extrema diversidade e constante evolução.

**Figura 1** – Porcentagem das respectivas espécies de begomovírus encontradas em 1.055 isolados obtidos a partir de amostras foliares de tomateiro coletados em diferentes regiões geográficas do Brasil. ToSRV, *Tomato severe rugose virus*; ToMoLCV, *Tomato mottle leaf curl virus*; TGVV, *Tomato golden vein virus*; ToCMoV, *Tomato chlorotic mottle virus*; e ToCmMV, *Tomato common mosaic virus*. ..... 77

**Figura 2** – Distribuição e porcentagem de espécies de begomovírus em amostras foliares de tomateiro por região. ToSRV, *Tomato severe rugose virus*; ToMoLCV, *Tomato mottle leaf curl virus*; TGVV, *Tomato golden vein virus*; ToCMoV, *Tomato chlorotic mottle virus*; e ToCmMV, *Tomato common mosaic virus*. ..... 78

**CAPÍTULO 3. Caracterização molecular e análise filogenética de novas espécies de begomovírus infectando o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) de maneira endêmica na região Norte do Brasil.**

**Figura 1** – Diagrama do componente DNA-A típico de um begomovírus de genoma bipartido do Novo Mundo. Os círculos representam o genoma viral e as setas coloridas indicam as respectivas ORFs (*Open Reading Frames*) no sentido viral (V) e complementar (C). AV1, CP (proteína capsidial); AC1, Rep (proteína associada à replicação); AC2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3 ou AC3, REn, (proteína potenciadora de replicação); AC4 (proteína determinante de sintoma). As barras em cor laranja representam as regiões amplificadas por quatro pares de iniciadores universais: PALv1978/PARc496 (Rojas *et al.* 1993); BegoAFor1/BegoARev1 (Ha *et al.*, 2006) e mais dois novos pares de iniciadores (4AF/12AR e 13AF/13AR) desenvolvidos e validados por M.E.N. Fonseca *et al.* (manuscrito em preparação). ..... 106

**Figura 2** – Mapa genômico assinalando as posições das quatro *Open Reading Frames* (ORFs) presentes nos componentes genômicos DNA-A dos quatro isolados caracterizados neste capítulo. CP, *Coat protein*; REn, *Replication enhancer protein*; TrAP, *Transcriptional activator protein*; Rep, *Replication-associated protein*. ..... 97

**Figura 3** – Árvore filogenética obtida a partir da informação do genoma completo do componente genômico DNA-A de 34 espécies de begomovírus, incluindo o posicionamento filogenético dos novos variantes de sequência de Sida yellow net virus (JX871376), representados pelos isolados **AM-012**, **RJ-016** e **RJ-028**. ..... 135

**Figura 4** – Matriz representando a identidade nucleotídica obtida a partir da informação do componente genômico DNA-A completo de 34 espécies de begomovírus e dos novos variantes de sequência de Sida yellow net virus (JX871376), representados pelos isolados **AM-012**, **RJ-016** e **RJ-028**. ..... 136

#### **CAPÍTULO 4. Primeiro relato e sequência completa do genoma do DNA-A de variantes do vírus Sida yellow net virus infectando tomateiro no Brasil.**

**Figura 1.** Plantas de tomate com sintomas induzidos pela infecção de Sida yellow net virus (SiYNV) em campos comerciais no estado do Rio de Janeiro. .... 132

**Figura 2** – Diagrama do componente DNA-A típico de um begomovírus de genoma bipartido deo Novo Mundo. Os círculos representam o genoma viral e as setas coloridas indicam as respectivas ORFs (*Open Reading Frames*) no sentido viral (V) e complementar (C). AV1, CP (proteína capsidial); AC1, Rep (proteína associada à replicação); AC2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3 ou AC3, REn, (proteína potenciadora de replicação); AC4 (proteína determinante de sintoma). As barras em cor laranja representam as regiões amplificadas por quatro pares de iniciadores universais: PALv1978/PARc496 (Rojas *et al.* 1993); BegoAFor1/BegoARev1 (Ha *et al.*, 2006) e mais dois novos pares de iniciadores (4AF/12AR e 13AF/13AR) desenvolvidos e validados por M.E.N. Fonseca *et al.* (manuscrito em preparação). .... 133

#### **CAPÍTULO 5. Análise do gene mtCOI de populações de mosca-branca em tomateiro no Brasil indica a predominante presença de *Bemisia tabaci* MEAM 1 em associação com múltiplas espécies de begomovírus de genoma bipartido.**

**Figura 1** – Árvore filogenética baseada em 299 sequências parciais do gene mtCOI de *Bemisia tabaci* (62 sequências deste estudo, mais 237 sequências de referência) e outros dezoito aleirodídeos, estimada utilizando o método *Neighbor-joining*, com o programa Geneious 8. As sequências dos exemplares brasileiros pertencem ao grupo genético “Middle East-Asia Minor 1” (MEAM 1) e foram comparadas com sequências disponíveis no banco de dados do GenBank. O número de acesso GenBank, o país de origem e a espécie críptica relacionada estão indicados para cada sequência. Os blocos coloridos com as letras A, B, C, D e E foram ampliados nas páginas a seguir. .... 163

## RESUMO GERAL

FERNANDES, Niday Alline Nunes. **Begomoviroses no cultivo do tomateiro no Brasil: variabilidade e caracterização de novas espécies virais e diversidade do vetor *Bemisia tabaci***. Tese – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L., família Solanaceae) é a principal hortaliça produzida no Brasil. Embora cultivado em todos os estados em maior ou menor escala, os principais produtores são Goiás, São Paulo e Minas Gerais. O Brasil é o oitavo maior produtor mundial, com aproximadamente 65 mil hectares cultivados e produção que atinge aproximadamente 4,2 milhões de toneladas. No entanto, um dos principais entraves para o aumento de produção do tomateiro no país têm sido as perdas ocasionadas por um complexo de espécies virais do gênero *Begomovirus*, transmitidas por um recentemente caracterizado complexo de espécies crípticas da mosca-branca (*Bemisia tabaci*). O presente trabalho apresenta um panorama da diversidade de espécies de *Begomovirus* entre os anos de 2001 e 2015 nas diferentes regiões de cultivo do tomateiro após a invasão de populações exóticas de *B. tabaci*. Amostras foliares exibindo sintomas similares aos induzidos por infecção por begomovírus foram coletadas nas principais áreas produtoras, englobando todas as cinco regiões geográficas do Brasil. Todos os 1.055 isolados caracterizados apresentaram genoma bipartido típicos do Novo Mundo, não havendo um único registro de espécies com genoma monopartido. Embora as duas espécies virais predominantes tenham sido reportadas em todas as regiões, existe uma clara regionalização ecológica, sendo *Tomato mottle leaf curl virus* de ocorrência mais frequente em condições de clima mais quente e *Tomato severe rugose virus* predominante em condições de clima tropical de altitude e subtropical. Alguns vírus descritos antes da década de 1990 e algumas espécies reportadas causando as primeiras epidemias em tomateiro no Brasil após o ingresso de *B. tabaci* MEAM 1 no país não foram encontrados em nosso levantamento, sugerindo que determinadas

espécies apresentaram ciclos epidêmicos transitórios e que posteriormente perderam importância epidemiológica e muitas estando provavelmente extintas em condições naturais. Como segunda parte do trabalho, o genoma completo do componente DNA-A de quatro novas espécies de begomovírus típicos do Novo Mundo foi descrito: Chino del tomate Amazonas virus (CdTAV), Tomato golden leaf distortion virus (ToGLDV), Tomato golden leaf spot virus (ToGLSV) e Tomato bright yellow mottle virus (ToBYMoV). Também foram apresentados quatro novas variantes do begomovírus bipartido típico de malváceas Sida yellow net virus (SiYNV) infectando tomateiro, sendo este o primeiro registro formal de *S. lycopersicum* como hospedeira natural de SiYNV. Além disso, o presente trabalho engloba um levantamento da diversidade molecular de populações de *B. tabaci* e das espécies de *Begomovirus* associadas com esse inseto vetor em diferentes regiões onde o tomateiro tem sido cultivado no Brasil. A análise das sequências do gene mitocondrial citocromo oxidase 1 (mtCOI) obtidas de ovos e ninfas de 62 populações de mosca-branca coletadas em tomateiros infestados indicou uma alta identidade (entre 99 e 100%) com a sequência consenso para populações da espécie MEAM 1. Outras espécies de *B. tabaci* nativas já descritas nos Neotrópicos não foram detectadas infestando o tomateiro em todas as regiões geográficas amostradas. Embora a diversidade de *B. tabaci* infestando o tomateiro tenha se mostrado extremamente reduzida, os dados de sequenciamento do DNA-A dos isolados virais presentes nas plantas infestadas indicaram a associação das diferentes populações do inseto vetor com um complexo de seis espécies de begomovírus previamente descritas.

**Palavras-chave:** begomovírus, diversidade, mosca-branca, tomate.

---

Orientador – Leonardo Silva Boiteux – Embrapa Hortaliças.



## GENERAL ABSTRACT

FERNANDES, Niday Aline Nunes. **Begomovirus diseases in tomato cultivation in Brazil: Variability and characterization of new viral species and diversity of the vector *Bemisia tabaci***. 2015. (200p).

Tomato (*Solanum lycopersicum* L., family Solanaceae) is the main vegetable crop produced in Brazil. Although grown in every state to a greater or lesser extent, the major producers are Goiás, São Paulo and Minas Gerais states. Brazil is the eighth largest world producer, with approximately 65,000 hectares and production that affects approximately 4.2 million tons. However, one of the major obstacle to the increase in tomato production in the country have been the losses caused by a complex of viral species in genus begomovirus, transmitted by a recently characterized complex of cryptic species of whitefly (*Bemisia tabaci*). This paper presents an overview of the diversity of begomovirus species between the years 2001 and 2015 in different tomato-producing regions after the invasion of exotic populations of *B. tabaci*. Leaf samples displaying symptoms similar to those induced by begomovirus infection were collected in the main producing areas, including all five Brazil geographic regions. All 1.016 isolates characterized showed typical New World bipartite genome, and no record of monopartite genome species. Although the two predominant viral species have been reported in all regions, there is a clear ecological regionalization, with *Tomato mottle leaf curl virus* most frequently occurring in warmer weather conditions and *Tomato severe rugose virus* predominant in highland tropical and subtropical conditions. Some viruses described before the 1990s and some species causing the first reported outbreaks in tomato in Brazil after the entry of *B. tabaci* MEAM 1 in the country were not found in our survey, suggesting that certain species showed transient epidemic cycles and subsequently lost epidemiological importance and many probably being extinct in natural conditions. As a second part of this work, the complete genome of DNA-A component of four new typical New World begomovirus species were described:

Chino del tomate Amazon virus (CdTAV), Tomato golden leaf distortion virus (ToGLDV), Tomato golden leaf spot virus (ToGLSV) and Tomato bright yellow mottle virus (ToBYMoV). We also presented four new variants of the typical malvaceous begomovirus Sida yellow net virus (SiYNV) infecting tomato, which is the first formal record of *S. lycopersicum* as natural host of SiYNV. Furthermore, this work includes a survey of molecular diversity of *B. tabaci* populations and of begomovirus species associated with this insect vector in different regions where tomato has been grown in Brazil. Sequence analysis of mitochondrial gene cytochrome oxidase 1 (mtCOI) obtained from eggs and nymphs of 62 whitefly populations collected from tomato plants infested indicated a high identity (between 99 and 100%) to the consensus sequence for MEAM 1 species populations. Other indigenous *B. tabaci* species already described in Neotropics were detected infesting tomato plants in all geographic regions sampled. While *B. tabaci* diversity infesting tomato plants has been extremely reduced, the DNA-sequencing data of the viral isolates present in infected plants indicate the association of different insect vector populations with a complex of six species of begomovirus previously described.

**Keywords:** begomovirus, diversity, tomato, whitefly.

---

Advisor – Leonardo Silva Boiteux – Embrapa Hortaliças.

## INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no Brasil é conduzido em uma grande amplitude de condições agroclimáticas e durante todas as épocas, sendo a hortaliça de maior importância em termos de valor de produção e área de cultivo (FAOSTAT, 2013; IBGE, 2015). O cultivo do tomateiro, tanto para o mercado *in natura* quanto para processamento, é severamente afetado pelas begomoviroses ou geminiviroses, causadas por diversas espécies de begomovírus (Boiteux *et al.*, 2008; Melo *et al.*, 2008).

Espécies classificadas no gênero *Begomovirus* apresentam DNA circular, de fita simples, podendo apresentar um (monopartidos, somente com DNA-A) ou dois componentes genômicos (bipartidos, contendo os componentes DNA-A e DNA-B) envoltos por uma partícula geminada (Rojas *et al.*, 2005; Fauquet *et al.*, 2008). Foram caracterizadas, somente no tomateiro, mais de 80 espécies de begomovírus (Brown *et al.*, 2015) e o Brasil é considerado um dos maiores centros de diversidade de begomovírus bipartidos do mundo (Fernandes *et al.*, 2008).

As espécies de begomovírus são transmitidas por um complexo de espécies crípticas de mosca-branca *Bemisia tabaci* para plantas dicotiledôneas, em uma relação caracterizada como circulativa não propagativa, estando presentes nos cinco continentes (Brown, 2000; Morales & Anderson, 2001; De Barro *et al.*, 2011). Este inseto cosmopolita e polífago é considerado como uma das mais importantes pragas de plantas cultivadas. Em tomateiros, a mosca-branca ao se alimentar, suga a seiva injetando substâncias tóxicas para o interior da planta, provocando o amadurecimento irregular dos frutos, dificultando assim o reconhecimento do ponto de colheita dos frutos e reduzindo a produção e a qualidade da polpa no processamento (Villas Bôas *et al.*, 1997). A introdução do biótipo B da mosca-branca no Brasil, no início da década de 1990, favoreceu a rápida disseminação das geminiviroses para as principais áreas produtoras de tomate (Ribeiro *et al.*, 2003).

Atualmente, doenças causadas por geminivírus são consideradas as principais doenças afetando o tomateiro no Brasil (Giordano *et al.*, 2005). Estas doenças são especialmente importantes no período da seca, sendo causadas por diferentes espécies virais (Ribeiro *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2008). Comparações de sequências revelam fortes evidências de recombinação entre os begomovírus brasileiros. Os resultados indicam a existência de um alto grau de diversidade genética pré-existente entre os begomovírus que infectam tomate no Brasil e sugerem que esses vírus foram transferidos de hospedeiras naturais e/ou plantas invasoras para o tomateiro, após a introdução do biótipo B da mosca-branca no Brasil (Ambrozevicius *et al.*, 2002; Ribeiro *et al.*, 2003; Rocha *et al.*, 2013).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de contribuir com informações sobre a ocorrência e a diversidade genética de begomovírus em tomateiro no Brasil. Além disso, foi feito um levantamento da diversidade do vetor *Bemisia tabaci* associado com o tomateiro nas diferentes regiões produtoras do Brasil.

## **OBJETIVO GERAL**

Estabelecer um catálogo de sequências gênicas completas de espécies de begomovírus que infectam o tomateiro, seu mapa de distribuição e a importância relativa de cada espécie em termos de interesse para o melhoramento genético a nível nacional e regional.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar a diversidade genética das espécies de begomovírus no agroecossistema do tomateiro no Brasil;
- Caracterizar a diversidade genética do vetor *Bemisia tabaci* associada com o tomateiro nas diferentes regiões produtoras do Brasil;
- Estabelecer metodologias precisas e de larga-escala para a caracterização de espécies de begomovírus que infectam o tomateiro;
- Fornecer ao melhoramento genético um panorama das espécies virais que apresentam relevância epidemiológica no Brasil.

# CAPÍTULO 1

---

---

## **Revisão de literatura**

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. O tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L., família Solanaceae) é uma espécie endêmica da região ocidental da América do Sul, sendo nativa das regiões dos Andes, mas foi domesticado no México e posteriormente introduzido na Europa em meados do século XVI (Boiteux *et al.*, 2012). É uma espécie de grande importância agrícola e se destaca como um dos vegetais mais produzidos no mundo. O Brasil é o oitavo maior produtor mundial desta hortaliça (FAOSTAT, 2013), com 65 mil hectares cultivados, produção que atualmente atinge aproximadamente 4,2 milhões de toneladas e rendimento médio de 65,9 kg/ha (IBGE, 2015). Da produção total, ≈ 65% são cultivados para o consumo *in natura* e 35% produzidos pelas indústrias de processamento e ofertados ao mercado em forma de extratos, molhos prontos, sucos e outros derivados. Assim, o atual consumo *per capita* do tomate está em torno 18 kg/ano (ABCSEM, 2010).

O tomate é a principal hortaliça produzida no Brasil. A distribuição geográfica da produção de tomate por região, para os dois segmentos, apresenta o seguinte cenário: Sudeste 44,69%; Centro-Oeste 25,54%; Nordeste 15,94%; Sul 13,74%; e Norte 0,09%. Embora cultivado em todos os estados em maior ou menor escala, os principais estados produtores são Goiás (1.025.567 ton), São Paulo (849.052 ton), Minas Gerais (674.962 ton), Bahia (306.011 ton) e Paraná (287.763 ton). Em relação à produtividade, os estados que apresentam os melhores rendimentos médios da cultura são: Goiás (88.047 ton/ha); Rio de Janeiro (76.427 ton/ha); São Paulo (75.124 ton/ha); Santa Catarina (67.443 ton/ha) e Distrito Federal (64.842 ton/ha) (IBGE, 2015).

As regiões produtoras de tomate de mesa no Brasil estão inseridas normalmente em regiões de planalto e chapada, aproveitando o máximo da amplitude térmica que esses

ambientes oferecem ao longo do ciclo da cultura. No Sudeste, está a maior concentração da área plantada de tomate para consumo *in natura*, com 57%, sendo que São Paulo e Minas Gerais representam 43% desse total. Já o Sul do Brasil ocupa 19% da superfície, sendo o Paraná com 9%, Santa Catarina com 6% e Rio Grande do Sul com 4% desse total. O restante do Brasil, as regiões Centro-oeste e Nordeste participam com 24% do total da área plantada de tomate de mesa no país. Já o tomate para processamento tem 62% de sua área em Goiás, 20%, em São Paulo e 16%, em Minas Gerais (ABCSEM, 2010).

A tomaticultura tem forte relevância econômica no agronegócio brasileiro, pois movimentava uma cifra anual superior a R\$ 2 bilhões ( $\approx 16\%$  do PIB gerados pela produção de hortaliças no Brasil) (ABCSEM, 2014). Aliado a isso, o cultivo é um dos mais importantes geradores de emprego na atividade rural do Brasil. Segundo dados da Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas – ABCSEM, alguns dos principais motivos para o crescimento do mercado são: maior uso de híbridos; preços de sementes mais elevados, devido ao cultivo protegido, por exemplo; introdução de valor agregado (ou seja, da percepção que o consumidor tem do produto com relação às suas necessidades considerando o benefício versus preço) e novas tecnologias nos produtos, como o tomate com F3 (melhorado geneticamente), além do aumento da população mundial e do consumo *per capita*, resultado da busca por uma vida mais saudável.

## 2. Os geminivírus

A família *Geminiviridae* é a maior família de vírus de plantas, compreendendo mais de 300 espécies de vírus (ICTV, 2015) (**Tabela 1**). Os geminivírus são responsáveis por enormes perdas econômicas para a agricultura mundial, particularmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Fondong, 2013). A infecção por geminivírus induz nanismo da planta e impede que os órgãos reprodutivos se desenvolvam normalmente. Os sintomas tipicamente



incluem folhas apicais deformadas e enroladas, com mosqueado ou mosaico amarelo e, às vezes, dilatamento de nervuras e enação. Os sintomas refletem as amplas alterações na transcrição do hospedeiro, que levam a alterações na homeostase celular e nos processos de desenvolvimento. A infecção também leva à desregulação dos miRNAs do hospedeiro ligados a transições de desenvolvimento e sinalização hormonal (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013).

Os geminivírus apresentam DNA genômico circular de fita simples, com  $\approx 2,7$  kb de comprimento, encapsidados dentro de partículas icosaédricas geminadas. Os geminivírus podem ser monopartidos (genoma apresentando apenas uma molécula de DNA) ou bipartidos (genoma constituído por duas moléculas de DNA) (Stanley *et al.*, 2005).

A taxonomia e nomenclatura dos geminivírus estão se tornando complexas devido ao crescente número de sequências genômicas virais depositadas. A lista taxonômica de geminivírus é atualizada regularmente (Fauquet & Stanley, 2005; Brown *et al.*, 2012; Brown *et al.*, 2015), mas há a necessidade de uma forma racional e abrangente para descrever e classificar os geminivírus recentemente identificados. Portanto, para tornar os padrões taxonômicos mais claros e as diretrizes de nomenclatura mais transparentes, o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV – *International Committee on Taxonomy of Viruses*) propôs um recente conjunto de critérios de delimitação (Brown *et al.*, 2012; Brown *et al.*, 2015) para a classificação e nomenclatura de geminivírus.

A fim de classificar todos os isolados de begomovírus da mesma maneira, e, por conseguinte, obter uma classificação homogênea, algumas diretrizes foram propostas por Brown *et al.* (2015). Se a identidade nucleotídica correspondente ao genoma completo para os vírus monopartidos e do componente DNA-A para os bipartidos, for  $<91\%$  com o genoma completo de qualquer outra sequência de begomovírus conhecida, então se trata de uma nova espécie. Se a sequência compartilhar  $<94\%$  de identidade com o genoma completo de todos os isolados descritos para aquela espécie, então, trata-se de uma nova estirpe.

Até agora mais de 300 espécies oficiais de geminivírus foram reconhecidas e foram divididas em sete gêneros (*Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Curtovirus*, *Becurtovirus*, *Turncurtovirus*, *Eragrovirus* e *Begomovirus*) com base no tipo de inseto vetor, gama de hospedeiros, organização do genoma e relações filogenéticas (Brown *et al.*, 2012; Hernández-Zepeda *et al.*, 2013). Cada gênero é nomeado após a espécie-tipo, por exemplo, *Begomovirus* – *Bean golden mosaic virus* (agora nomeado *Bean golden yellow mosaic virus*) (Brown *et al.* 2012).

**Tabela 1** – Gêneros classificados na família *Geminiviridae* (ICTV, 2015).

Gênero	Espécie-tipo	Tipo de genoma	Vetor	Hospedeiras	Nº de espécies
<i>Becurtovirus</i>	<i>Beet curly top Iran virus</i>	Monopartido	Cigarrinha	Dicotiledôneas	2
<i>Begomovirus</i>	<i>Bean golden yellow mosaic virus</i>	Mono e Bipartido	Mosca-branca	Dicotiledôneas	288
<i>Curtovirus</i>	<i>Beet curly top virus</i>	Monopartido	Cigarrinha	Dicotiledôneas	3
<i>Eragrovirus</i>	<i>Eragrostis curvula streak virus</i>	Monopartido	Desconhecido	Monocotiledôneas	1
<i>Mastrevirus</i>	<i>Maize streak virus</i>	Monopartido	Cigarrinha	Mono e dicotiledôneas	29
<i>Topocuvirus</i>	<i>Tomato pseudo-curly top virus</i>	Monopartido	Membracídeo	Dicotiledôneas	1
<i>Turncurtovirus</i>	<i>Turnip curly top virus</i>	Monopartido	Cigarrinha	Dicotiledôneas	1

Os gêneros *Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Curtovirus*, *Becurtovirus*, *Turncurtovirus* e *Eragrovirus* possuem vírus com apenas um componente genômico (são monopartidos),

enquanto que apenas os representantes do gênero *Begomovirus* podem apresentar genomas mono ou bipartidos (Brown *et al.*, 2012).

Os vírus do gênero *Mastrevirus* (espécie-tipo é o *Maize streak virus*, MSV) são transmitidos por cigarrinhas (principalmente *Cicadulina mbila* e *C. storeyi*, Homoptera: Cicadellidae) e são encontrados no Velho Mundo (Europa, Ásia, África e Austrália) (Shepherd *et al.*, 2010). A maioria dos mastrevírus infectam plantas monocotiledôneas, no entanto, um pequeno número destes vírus foi identificado infectando apenas plantas dicotiledôneas (Hadfield *et al.*, 2012; Muhire *et al.*, 2013). Os mastrevírus apresentam genoma monopartido de DNA circular de fita simples, com  $\approx 2,7$  Kb, que codifica apenas quatro proteínas. A transcrição é bidirecional, através de uma longa região intergênica. A expressão no sentido viral surge com a proteína de movimento (MP, ORF V2) e a proteína capsial (CP, ORF V1) e no sentido complementar com a expressão das proteínas associadas à replicação, Rep (ORF C1:C2) e RepA (ORF C1) (**Figura 1**). Considerando que a MP e a CP estão envolvidas no movimento e na encapsidação viral, a Rep é uma crucial iniciadora da replicação do vírus e a RepA desempenha papel regulatório na transcrição gênica da hospedeira e do vírus. Os mastrevírus adotam a replicação do DNA do hospedeiro e as proteínas de reparação de ruptura do DNA de fita dupla na replicação do seu genoma via mecanismo de círculo rolante e mecanismo dependente de recombinação (Fahmy *et al.*, 2015).

O gênero *Topocuvirus* possui uma única espécie, o *Tomato pseudo-curly top virus* (TPCTV), transmitido pelo membracídeo *Micrutalis malleifera* (Homoptera: Auchenorrhyncha) a espécies dicotiledôneas (Stanley *et al.*, 2005). Os topocuvírus apresentam genoma monopartido de DNA circular de fita simples, com  $\approx 2,8$  Kb, que codifica seis proteínas: V2 e CP no sentido viral e Rep, C2, C3 e C4 no sentido complementar (**Figura 1**). O genoma é replicado por meio de intermediários de fita dupla. A proteína de replicação (Rep) inicia e termina a replicação por círculo rolante, com a DNA polimerase do hospedeiro sendo usada

para a replicação do seu próprio DNA. Existe uma estrutura em forma de grampo (*stem-loop*) na região intergênica que inclui uma sequência de nucleótidos conservada (“TAATATTAC”), onde é iniciada a síntese de ssDNA. A transcrição é bidirecional a partir da região comum (RC), que corresponde à região de não codificação comum para topocuvírus e begomovírus (Brown *et al.*, 2012). Análises do genoma de TPCTV revelaram características combinadas de dois gêneros distintos, *Mastrevirus* e *Begomovirus*, indicando ser um recombinante natural (Briddon *et al.*, 1996). Comparações de sequências nucleotídicas sugerem que TPCTV e begomovírus divergiram após um evento de recombinação que alterou a especificidade do inseto vetor. A proteína capsidial é mais estreitamente relacionada à dos curtovírus (transmitidos por cigarrinha) do que à dos begomovírus (transmitidos por mosca-branca). A proteína V2 é distantemente relacionada à proteína V2 dos curtovírus (Brown *et al.*, 2012).

O gênero *Curtovirus* engloba os geminivírus transmitidos por cigarrinhas (*Circulifer tenellus*, Homoptera: Cicadellidae) a espécies dicotiledôneas. O *Beet curly top virus* (BCTV) é a espécie-tipo e o vírus mais economicamente importante (Stanley *et al.*, 2005). Os curtovírus apresentam genoma monopartido de DNA circular de fita simples, com 2,8 a 3 Kb de comprimento, que codificam até sete genes. Três destes são dispostos no sentido viral e incluem o gene da capa protéica (*cp*, V1), um gene regulador (*reg*, V2) e um gene de proteína de movimento (*mp*, V3). Quatro genes estão dispostos na orientação do sentido complementar e incluem um gene da proteína associada à replicação (*rep*, C1), um gene que expressa uma proteína que tem funções supressoras de silenciamento (*ss*, C2), um gene potenciador de replicação (*ren*, C3) e um gene determinante de sintomas (*sd*, C4) (**Figura 1**) (Hernández-Zepeda *et al.*, 2013; Varsani *et al.*, 2014a).

Com o desenvolvimento de novas ferramentas moleculares e sequenciamento em escala industrial a baixo custo, tem havido um aumento significativo na descoberta de novos geminivírus em diversas plantas cultivadas e não cultivadas (Varsani *et al.*, 2014b). Em 2013,

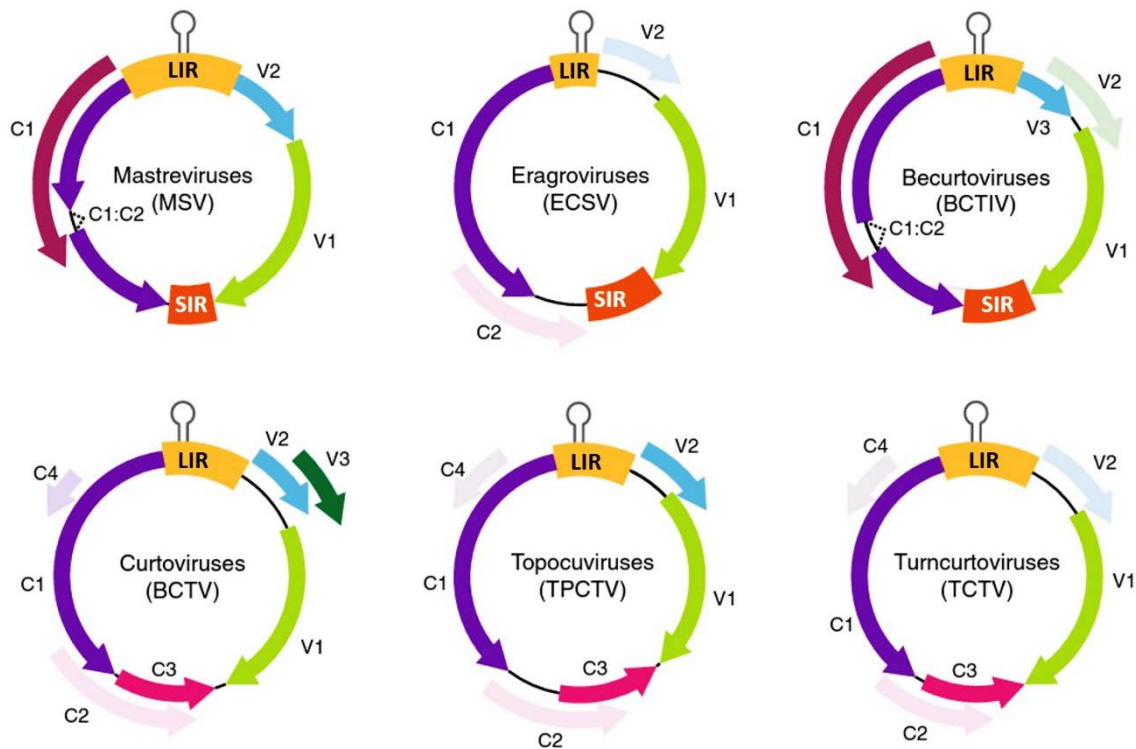
três novos gêneros foram adicionados à família *Geminiviridae* para acomodar novos grupos divergentes de geminivírus que foram descobertos e caracterizados ao longo dos últimos cinco anos: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* e *Turncurtovirus* (Heydarnejad *et al.*, 2013, Hernández-Zepeda *et al.*, 2013; Varsani *et al.*, 2014b).

O gênero *Becurtovirus* contém duas espécies reconhecidas: *Beet curly top Iran virus* (BCTIV, espécie-tipo, transmitida pela cigarrinha *Circulifer haematoceps*) e *Spinach curly top Arizona virus* (SCAV, vetor desconhecido). Estes vírus são incomuns, pois ao invés de apresentarem o nonanucleotídeo "TAATATTAC" encontrado na origem de replicação de quase todos os outros geminivírus conhecidos, esses becurtovírus apresentam o nonanucleotídeo "TAAGATTCC". Os isolados de BCTIV foram encontrados exclusivamente no Irã, onde têm sido isolados das plantas dicotiledôneas *Beta vulgaris* (beterraba), *Beta vulgaris subsp. maritima*, *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda), *Solanum lycopersicum* (tomate) e *Phaseolus vulgaris* (feijão-comum) (Varsani *et al.*, 2014b). O único isolado de SCTV que foi totalmente sequenciado até agora foi encontrado infectando plantas *Spinacia oleracea* (espinafre) no Arizona, EUA (Hernández-Zepeda *et al.*, 2013).

O gênero *Eragrovirus* possui apenas uma espécie reconhecida, *Eragrostis curvula streak virus* (ECSV, vetor desconhecido). Todos os isolados conhecidos pertencentes a esta espécie foram encontrados infectando plantas da espécie monocotiledônea *Eragrostis curvula* (capim-chorão), na África do Sul. Assim como os becurtovírus, todos os seis isolados de ECSV apresentam o incomum nonanucleotídeo "TAAGATTCC" em sua origem de replicação (Varsani *et al.*, 2014b).

O gênero *Turncurtovirus* também possui apenas uma espécie atribuída, a *Turnip curly top virus* (TCTV, transmitido pela cigarrinha *Circulifer haematoceps*). Os vinte isolados de TCTV conhecidos atualmente têm sido encontrados em plantas de *Brassica rapa* (nabo) ou *Raphanus sativus* (rabanete). Todos estes isolados têm a mesma sequência motivo

“TAATATTAC” encontrada na origem de replicação dos mastrevírus, begomovírus, curtovírus e topocuvírus (Varsani *et al.*, 2014b).



**Figura 1.** Organização genômica típica de isolados dos gêneros *Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Curtovirus*, *Becurtovirus*, *Turncurtovirus* e *Eragrovirus*. As ORFs no sentido viral (V) e complementar (C) estão indicadas. LIR, região intergênica longa; SIR, região intergênica curta; V1, CP (proteína capsidial); V2 (proteína de movimento); V3 (gene regulador); C1, Rep (proteína associada à replicação); C2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3, RE<sub>n</sub> (proteína potenciadora de replicação); C4 (proteína determinante de sintoma). (Figura modificada de Varsani *et al.*, 2014b).

Quando comparadas, as organizações genômicas dos begomovírus, curtovírus, topocuvírus e turncurtovírus são bastante semelhantes. As organizações genômicas dos mastrevírus, becurtovírus e eragrovírus são bastante diversas e distintas de outros geminivírus (**Figura 1**). Em geral, estes diferentes genomas de geminivírus codificam até oito genes, que são transcritos bidirecionalmente. Destes, o gene da proteína associada à replicação (*rep*),

localizado no sentido completar da fita, e o gene da proteína capsidial (*cp*), localizado no sentido viral, são os dois únicos genes conservados em todos os geminivírus caracterizados. Ao passo que os homólogos dos genes intensificadores de replicação (*ren*) e dos genes determinantes de sintoma (*sd*)/supressores de silenciamento (*ss*) são encontrados nos genomas dos begomovírus, curtovírus, topocuvírus e turncurtovírus, os homólogos dos genes ativadores de transcrição (*trap*) são adicionalmente encontrados em eragrovírus (**Figura 1**) (Varsani *et al.*, 2014b).

Curiosamente, apesar dos genes das proteínas de movimento (*mp*) de todos os geminivírus provavelmente estarem localizados na mesma região, abaixo da região intergênica (RI) a partir da qual a transcrição começa, estas proteínas são muito diversas e geralmente não há semelhança de aminoácidos detectáveis entre as sequências das proteínas de movimento de vírus de diferentes gêneros. Outra característica genômica que distingue os mastrevírus, eragrovírus e becurtovírus dos outros geminivírus é a presença de duas regiões intergênicas: uma contendo a origem replicação (embora seja chamada de Região Intergênica Longa [*Long Intergenic Region*, LIR] em mastrevírus, isto é um equívoco em eragrovírus, uma vez que é a menor das duas regiões intergênicas) e outra contendo os sinais de terminação da transcrição dos genes transcritos bidirecionalmente (chamada de Região Intergênica Curta [*Short Intergenic Region*, SIR] em mastrevírus) (**Figura 1**) (Varsani *et al.*, 2014b).

O gênero *Begomovirus*, o mais numeroso dentro da família *Geminiviridae*, será apresentado com maior detalhamento a seguir.

### 3. Características do gênero *Begomovirus*

O gênero *Begomovirus*, cuja espécie-tipo é o *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV), inclui os vírus que infectam dicotiledôneas e são transmitidos de forma circulativa persistente pela mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) (Brown *et al.*, 2012).

Doenças causadas por estes vírus são um dos fatores limitantes de produtividade das culturas em regiões tropicais e subtropicais (Seal *et al.*, 2006; Patil & Fauquet, 2009).

Os genomas dos begomovírus podem ser mono ou bipartidos, codificando de cinco a oito proteínas em duas moléculas circulares de ssDNA de tamanho similar ( $\approx 2,5-2,7$  kb), conhecidas como DNA-A e DNA-B, ou em um componente genômico individual ( $\approx 2,7-2,9$  kb) homólogo ao componente DNA-A dos vírus bipartidos (Gutierrez, 1999; Harrison & Robinson, 1999).

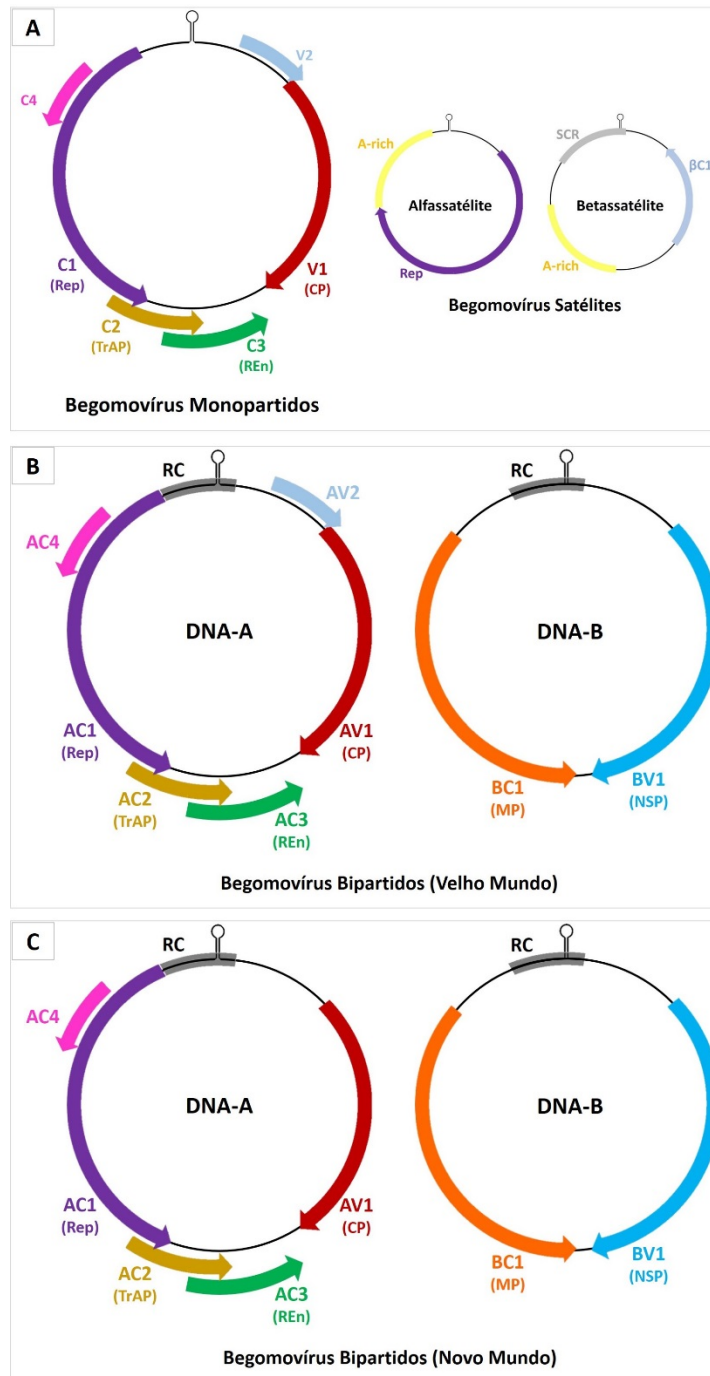
Com base em estudos filogenéticos e no arranjo do genoma, os begomovírus têm sido divididos em dois grupos: vírus do “Velho Mundo” (Hemisfério Oriental, Europa, África e Ásia) e vírus do “Novo Mundo” (Hemisfério Ocidental, incluindo as Américas e o Caribe) (Rybicki, 1994; Padidam *et al.*, 1999). Os genomas dos begomovírus apresentam uma série de características que os distinguem entre vírus de Velho e de Novo Mundo (Rybicki, 1994). Os begomovírus originários do Novo Mundo apresentam, tipicamente, genomas que consistem em dois componentes genômicos encapsidados separadamente (DNA-A e DNA-B) (Brown *et al.*, 2012). Em alguns casos, entre os begomovírus bipartidos do Velho Mundo, o DNA-A sozinho é suficiente para a infecção sistêmica e a circulação, enquanto que o componente DNA-A dos begomovírus do Novo Mundo é estritamente dependente do componente DNA-B (Rojas *et al.*, 2005). Os begomovírus monopartidos são frequentemente acompanhados de moléculas de DNA satélites (Zhou, 2013). Por outro lado, os begomovírus bipartidos não são tipicamente associados com DNAs satélites e podem ser encontrados tanto no Novo Mundo quanto no Velho Mundo, embora no Velho Mundo os vírus bipartidos sejam menos prevalentes do que os monopartidos (Ha *et al.*, 2008).

Os begomovírus bipartidos codificam, no componente genômico DNA-A, as proteínas necessárias para a replicação do DNA, regulação gênica e encapsidação, enquanto que as proteínas envolvidas no movimento intra e intercelular são codificadas no segundo



componente, o DNA-B (Gutierrez, 1999). O componente DNA-A dos begomovírus bipartidos e o componente genômico dos begomovírus monopartidos têm organizações ambissenso, codificando uma proteína do capsídeo (CP, *coat protein*, V1 ou AV1) no sentido viral. Já no sentido complementar da fita, codifica a proteína associada a replicação (Rep, *replication-associated protein*, C1 ou AC1), a proteína ativadora da transcrição (TrAP, *transcriptional activator protein*, C2 ou AC2), a proteína potenciadora de replicação (REn, *replication enhancer protein* ou C3/AC3) e um fator de virulência (C4 ou AC4) no sentido complementar da fita. O DNA-A e o genoma monopartido dos begomovírus do Velho Mundo também codificam uma proteína de pré-revestimento (*precoat protein* ou AV2) na fita de sentido viral, que não tem sido observada em begomovírus endêmicos do Novo Mundo. O componente DNA-B dos begomovírus bipartidos também exibe uma organização ambissenso, que codifica uma proteína de transporte nuclear (NSP, *nuclear shuttle protein* ou BV1) na fita de sentido viral e uma proteína de movimento (MP, *movement protein* ou BC1) na na fita de sentido complementar (Gutierrez, 2000).

As unidades de transcrição opostas no DNA-A e DNA-B são separadas por uma região intergênica, que, na maioria dos casos, compartilha uma região altamente conservada de aproximadamente 200 nucleotídeos, chamada de “região comum” (RC) (Lazarowitz, 1992). A RC contém uma origem de replicação (*ori*), incluindo uma estrutura em forma de grampo (*stem-loop*) contendo a sequência nucleotídica 5'-TAATATT↓AC-3', cujo local T<sup>7</sup>-A<sup>8</sup> é necessário para clivar e unir o DNA viral durante a replicação (Laufs *et al.*, 1995) (**Figura 1**).



**Figura 2** – Organização genômica típica dos begomovírus monopartidos (**A**), bipartidos do “Velho Mundo” (**B**) e bipartidos do “Novo Mundo” (**C**). Os círculos representam o genoma viral e as setas coloridas indicam as respectivas ORFs (*Open Reading Frames*) no sentido viral (V) e complementar (C). V1 ou AV1, CP (proteína capsidial); V2 ou AV2 (proteína de movimento); C1 ou AC1, Rep (proteína associada à replicação); C2 ou AC2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3 ou AC3, REEn, (proteína potenciadora de replicação); C4 ou AC4 (proteína determinante de sintoma); BV1, NSP (proteína que controla o tráfego nuclear); BC1, MP (proteína que controla o movimento célula-a-célula); A-rich (região rica em adenina); SCR (*satellite conserved region*, região conservada do satélite);  $\beta$ C1 (região rica em adenina).

A *ori* representa uma região de reconhecimento vírus-específica localizada acima da estrutura em forma de grampo, que contém sequências conservadas reiteradas (iterons) necessárias para o reconhecimento específico e a ligação pela Rep durante a replicação (Fontes *et al.*, 1994). Além de seu tamanho e da pequena sequência referida como região comum, os componentes DNA-A e DNA-B dos begomovirus bipartidos são inteiramente diferentes um do outro (Lazarowitz, 1992).

A capa protéica (CP), no sentido viral, é uma proteína multifuncional requerida para uma gama de funções associadas com a formação do capsídeo viral, acumulação de ssDNA viral, transmissão do vírus pelo inseto vetor e movimento intra e intercelular (Boulton, 2002). A CP desempenha um papel fundamental na transmissão do vetor e na determinação da especificidade do vetor. Um importante experimento para provar isto foi conduzido com dois membros de diferentes gêneros, onde o gene CP de *African cassava mosaic virus* (ACMV), um begomovirus bipartido, foi substituído pelo gene CP de *Beet curly top virus* (BCTV), um curtovirus (Briddon *et al.*, 1990). Este genoma quimérico produziu sintomas típicos de infecção por ACMV. O gene CP de BCTV também foi expresso em plantas e foi mostrado que o mesmo encapsidou o híbrido ssDNA genômico de ACMV. Curiosamente, *Circulifer tenellus*, o vetor de BCTV, transmitiu o ACMV híbrido para mudas de *Nicotiana benthamiana*, mas não o ACMV original. Isto indicou que a CP influencia a especificidade do inseto vetor (Briddon *et al.*, 1990). Do mesmo modo, uma estirpe de *Abutilon mosaic virus* (AbMV) não transmitida por mosca-branca, teve sua CP substituída por uma CP de *Sida golden mosaic virus* (SiGMV), e desta maneira pôde ser adquirido e transmitido por mosca-branca para várias plantas hospedeiras, indicando o papel crucial da CP no processo de transmissão (Hofer *et al.*, 1997). A mutação nessa região altera a transmissão do vírus pelo vetor tanto através da prevenção da montagem da partícula quanto através da inibição da passagem do vírus a partir do intestino para hemocele ou da hemocele para a glândula salivar dos insetos (Harrison *et al.*, 2002).

O gene AV2 (*pre-coat*) está presente apenas nos begomovírus do “Velho Mundo”, e atua no movimento do vírus na planta (Rojas *et al.*, 2005).

A proteína associada à replicação (Rep) apresenta sua sequência, posição e função conservada entre os geminivírus (Fauquet *et al.*, 2008). Ela é essencial para iniciar o mecanismo de replicação por círculo rolante, reconhecendo os iterons e cortando dentro da sequência nonanucleotídica (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2004; Nash *et al.*, 2011). A partir de sua síntese, a Rep faz a separação do ssDNA do vírus de sua fita complementar, para que sirva de molde e inicie a replicação do genoma viral (Fontes *et al.*, 1992).

A proteína ativadora da transcrição (TrAP) é fator transcricional dos genes CP e NSP e também atua na supressão de respostas de defesa da planta (Sunter & Bisaro, 1992). Já a proteína potencializadora da replicação (REn) está envolvida na criação de um ambiente propício para a replicação do vírus (Pedersen & Hanley-Bowdoin, 1994). Apesar de ser um fator acessório (não-essencial) da replicação viral, ela aumenta a acumulação de DNA viral na célula e ajuda no desenvolvimento de sintomas (Sunter *et al.*, 1990).

A proteína produzida pela ORF AC4 está totalmente inserida dentro do gene Rep, mas é codificada em uma fase de leitura distinta. Para vírus monopartidos, ela pode estar envolvida na determinação da gama de hospedeiras, na severidade de sintomas e no movimento viral (Rigden *et al.*, 1996). Para os bipartidos, está envolvida no movimento viral, mas não é essencial para a infecção (Vanitharani *et al.*, 2004).

Para o sucesso da infecção de plantas por vírus é necessário que o vírus se mova para fora da célula inoculada e se espalhe sistemicamente pela planta (Timmermans *et al.*, 1994). O movimento do vírus no interior do hospedeiro pode ser dividido em dois processos: movimento célula-a-célula via plasmodesmas, e movimento a longa distância, no qual o vírus atinge o sistema vascular e é transportado para toda a planta hospedeira (Palmer & Rybicki, 1998).

A infecção começa numa célula de planta quando o DNA viral de fita simples (ssDNA) é liberado a partir de virions e copiado para gerar DNA de fita dupla (dsDNA). O dsDNA, que se incorpora com os nucleosomos, é transcrito pela RNA polimerase II do hospedeiro, permitindo a produção da proteína iniciadora de replicação (Rep). A Rep inicia a replicação por círculo rolante (*rolling circle replication*, RCR) introduzindo um corte em uma molécula de dsDNA viral para gerar um 3'-hidroxilo final livre que prepara a síntese de ssDNA, levando ao deslocamento da fita parental. O ssDNA liberado é convertido para dsDNA para entrar novamente no ciclo de replicação. A replicação viral transita para a replicação dependente de recombinação (*recombination-dependent replication*, RDR), que é iniciada através de recombinação homóloga entre um ssDNA parcialmente replicado e um dsDNA circular fechado para formar uma molécula em forma de laço que serve como um molde para a síntese de ambos ssDNA e dsDNA. Mais tarde na infecção, a Rep reprime a sua própria transcrição, conduzindo a ativação da expressão da proteína ativadora de transcrição (TrAP), a qual por sua vez ativa a expressão da proteína capsidial (CP) e da proteína de transporte nuclear (NSP) (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013). O DNA-B codifica a proteína MP, envolvida no movimento célula-a-célula do vírus por meio do aumento do limite de exclusão dos plasmodesmas, viabilizando o transporte do genoma viral e a NSP, responsável pelo transporte do DNA através do envelope nuclear para o citoplasma (Noueiry *et al.*, 1994). Essas duas proteínas atuam de forma cooperativa para mediar o tráfego intra e intercelular do DNA viral (Sanderfoot & Lazarowitz, 1995). O sucesso da infecção sistêmica depende do transporte do vírus a longa distância e de sua entrada no floema. Qualquer bloqueio neste processo acarreta o aparecimento de sintomas atenuados, ou mesmo a resistência do hospedeiro à infecção sistêmica (Lucas & Gilbertson, 1994). O ssDNA circular pode, então, ser encapsidado em virions pela CP, que estarão disponíveis para a aquisição pela mosca-branca. A NSP se liga ao DNA viral e o transporta através do envelope nuclear, onde a proteína movimento (MP) o transporta através de um

plasmodesmo. Não se sabe se o DNA viral se move como ssDNA versus dsDNA ou como um linear versus uma molécula circular (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013).

A maioria dos begomovírus monopartidos estão frequentemente associados a moléculas de ssDNA circular conhecidas como DNA satélites. A aquisição dessas moléculas pode, em alguns casos, resultar em funções essenciais para o vírus auxiliar, assim como a aquisição do DNA-B pelos begomovírus bipartidos (Rojas *et al.*, 2005). Atualmente, dois tipos de DNA satélites são conhecidos: os alfassatélites (também denominados de DNA-1) e os betassatélites (ou DNA  $\beta$ ) (Bridson & Stanley, 2006) (**Figura 2**).

Os alfassatélites são semelhantes ao componente genômico denominado DNA-R dos nanovírus, os quais contêm uma ORF que codifica uma proteína associada a replicação (Rep), seguida de uma região rica em adenina (*A-rich-region*) e uma estrutura em forma de grampo, apresentando a sequência “TAGTATTAC”, que inclui a origem de replicação (Idris *et al.*, 2005). O tamanho dos alfassatélites é de aproximadamente 1375 nucleotídeos e eles podem replicar autonomamente, mas requerem um vírus auxiliar para a infecção sistêmica da planta e transmissão por inseto (Saunders *et al.*, 2002).

Recentemente alfassatélites foram identificados no Brasil e na Venezuela associados aos begomovírus bissegmentados *Cleome leaf crumple virus* (CILCrV), *Euphorbia mosaic virus 1* (EuMV) e *Melon chlorotic mosaic virus* (MeCMV), sendo esses os primeiros relatos de alfassatélites associados a begomovírus ocorrendo naturalmente no “Novo Mundo” (Paprotka *et al.*, 2010).

Os betassatélites estão associados com begomovírus auxiliares e dependem destes para replicação, movimento sistêmico na planta e transmissão pelo vetor. São moléculas de ssDNA de aproximadamente metade do tamanho de seus begomovírus auxiliares ( $\approx 1350$  nt), com nenhuma homologia de sequência com os mesmos, com exceção da presença de uma potencial estrutura em forma de grampo, contendo a sequência nonanucleotídica “TAATATT↓AC”

(Bridson *et al.*, 2003). Os betasatélites contêm uma região ( $\approx 100$  nt) conhecida como região conservada do satélite (*satellite conserved region* – SCR), que é altamente conservada entre todos os betasatélites e contêm a estrutura em forma de grampo. Além disso, os betasatélites contêm uma região rica em adenina e uma única ORF (o gene  $\beta C1$ ) na orientação complementar da molécula, que codifica uma proteína responsável pela indução de sintomas e que atua como supressora do silenciamento gênico pós-transcricional (Bridson & Stanley, 2006; Saunders *et al.*, 2008).

#### **4. Mecanismos de replicação dos geminivírus**

A replicação do DNA ocorre em três fases: iniciação, alongação e terminação. A Rep dos geminivírus catalisa a iniciação e a terminação da replicação por círculo rolante por clivagem e ligação do DNA viral em um local conservado dentro do genoma viral. De forma similar a vários pequenos vírus de DNA, os geminivírus não codificam suas próprias DNA polimerases e por isso dependem das polimerases do hospedeiro e fatores associados (juntos designados replissoma do hospedeiro) para a síntese de DNA viral durante a etapa de alongamento. Em plantas saudáveis, a disponibilidade do replissoma do hospedeiro é fortemente regulada pelo ciclo celular e controles de desenvolvimento, que deve ser reprogramado antes que os geminivírus possam replicar seus genomas (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013).

Uma vez que não possuem a sua própria DNA polimerase, os geminivírus utilizam a maquinaria de replicação de DNA do seu hospedeiro para amplificar seus genomas nos núcleos das células de plantas infectadas (Bisaro, 1996). No processo de infecção, as partículas virais são inoculadas na planta pelo vetor e o genoma viral se desassocia do capsídeo espontaneamente (Lazarowitz, 1992). Ao entrar na célula, o ssDNA viral é transportado até o núcleo, onde é convertido em um dsDNA intermediário, denominado forma replicativa (RF), que atua como

molde para a síntese de fitas de DNA contendo várias cópias do genoma viral (multímeros ou concatâmeros), via mecanismo de círculo rolante (*rolling circle replication* – RCR) (Stanley, 1995). Esta síntese de moléculas de dsDNA é realizada pela polimerase do hospedeiro (Pilartz & Jeske, 2003). A RF serve como molde para a síntese de novos componentes genômicos e também, para a transcrição dos genes virais (Stanley, 1995). O dsDNA circular covalentemente fechado é invadido por um curto iniciador de DNA viral. O iniciador é estendido pela DNA polimerase do hospedeiro na fita molde circular viral. Depois (ou durante) um ou mais ciclos de replicação, o recém-sintetizado ssDNA linear fica totalmente ou parcialmente convertido em dsDNA linear pelo mesmo (ou outro) complexo de DNA polimerase. Assim, a replicação dependente de recombinação (*recombination-dependent replication*, RDR) gera uma população heterogênea de dsDNA linear. Os dsDNAs linearmente longos que abrigam duas ou mais origens de replicação são transcritos por Pol II em ambas as orientações para gerar mRNA virais. Após tradução, Rep inicia a replicação do dsDNA linear longo, com duas ou mais origens de replicação. A liberação replicacional de ssDNA a partir do dsDNA linear multimérico gera ssDNA circular que pode entrar novamente no ciclo de replicação ou serem embalados (Pooggin, 2013).

A Rep é a única proteína viral essencial à replicação dos begomovírus. Esta proteína possui várias atividades bioquímicas, incluindo propriedade de ligação a DNA de fita simples e dupla, clivagem e ligação do DNA em sequências específicas, hidrólise de ATP e iniciação do mecanismo de replicação por círculo rolante (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999).

A origem de replicação (*ori*) está localizada na região intergênica, comum entre os dois componentes genômicos. Nesta região está localizada uma sequência repetida e invertida composta predominantemente por guanina e citosina, que forma uma estrutura conservada (*structurally-conserved element*, SCE) em forma de grampo de cabelo, com uma alça contendo a sequência conservada 5'-TAATATTAC-3', encontrada em quase todos os geminivírus, que



constitui o domínio funcional da origem de replicação (Orozco & Hanley-Bowdoin, 1996). Neste nonanucleotídeo ocorre a clivagem da proteína Rep (“TAATATT↓AC”), iniciando-se assim o processo de replicação por círculo rolante. A proteína Rep atua como uma endonuclease sítio-específica com requerimento de estrutura e de sequência (Laufs *et al.*, 1995; Orozco & Hanley-Bowdoin, 1998). Na região comum encontram-se também sequências específicas para a ligação da proteína Rep (Fontes *et al.*, 1992; Fontes *et al.*, 1994) e regiões promotoras de RNA polimerase tipo II de plantas, responsável pela transcrição dos genes virais (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999).

O sítio de ligação da proteína Rep ao DNA viral está localizado entre a caixa TATA do gene *rep* e a SCE (Orozco & Hanley-Bowdoin, 1998), sendo constituído por duas repetições diretas e uma repetição invertida de quatro ou cinco nucleotídeos, denominadas iterons. Os iterons são sítios de ligação específicos do vírus para a proteína Rep cognata e ajudam a iniciar a replicação viral (Argüello-Astorga *et al.*, 1994; Fontes *et al.*, 1994). Após a ligação da Rep ao DNA viral e a estabilização do complexo formado por Rep, REn e fatores do hospedeiro, a proteína Rep cliva o nonanucleotídeo, dando início à replicação por círculo rolante (Gutierrez, 1999). O reconhecimento pela proteína Rep é considerado vírus-específico (Argüello-Astorga *et al.*, 1994; Harrison & Robinson, 1999; Ramos *et al.*, 2003), de modo que a Rep só inicia a replicação de DNAs cognatos (Jupin, 1995). Conforme novas fitas de DNA são sintetizadas, fitas de DNA antigas são progressivamente liberadas (Jeske *et al.*, 2001).

## **5. Variabilidade genética em begomovírus**

A geração de diversidade genética em populações virais proporciona novas oportunidades para a adaptação a novos hospedeiros e mudanças das condições ambientais. Três grandes forças impulsionam a evolução dos vírus: mutação, recombinação e pseudo-recombinação (rearranjo) (Roossinck, 1997).

Populações de begomovírus possuem elevado grau de variabilidade genética. A elevada taxa de mutação, a alta frequência de eventos de recombinação e a ocorrência de pseudo-recombinação entre os vírus de genoma bipartidos contribuem para este elevado grau de variabilidade genética (Seal *et al.*, 2006). A presença de vários begomovírus no campo, todos transmitidos pelo mesmo vetor, provavelmente facilita frequentes infecções mistas, onde duas ou mais espécies de vírus estão presentes simultaneamente em uma única planta. Esta situação aumenta a probabilidade de recombinação e/ou pseudo-recombinação entre os componentes genômicos virais, o que poderia acelerar potencialmente a adaptação ao hospedeiro (Monci *et al.*, 2002; Ribeiro *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2006; García-Andrés *et al.*, 2007).

A mutação ocorre durante vários processos biológicos diferentes, como por exemplo, no processo de replicação, podendo ainda ser induzida pela luz UV, por tratamentos químicos, entre outros. A incorporação de um nucleotídeo não complementar durante a duplicação do DNA ou RNA dá origem a mutações pontuais, que alteram a informação genética. Normalmente, os vírus de RNA possuem elevadas taxas de mutação devido à sua dependência em RNA polimerase dependente de RNA para a sua replicação, que é altamente sujeita a erros (Jenkins *et al.*, 2002). A taxa de mutação dos vírus de RNA foi considerada ser maior do que dos vírus de DNA (Domingo & Holland, 1997), mas verificou-se que as taxas de mutação de *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Tomato yellow leaf curl China virus* (TYLCCNV) e *East African cassava mosaic virus* (EACMV) são quase semelhantes a dos vírus de RNA ( $\approx 10^{-4}$  substituições/local/ano) (Ge *et al.*, 2007; Fondong & Chen, 2011), apesar do fato de vírus de DNA utilizarem a DNA polimerase da planta hospedeira, que apresenta elevada taxa de correção. No entanto, parece que os vírus de DNA não utilizam a maquinaria de reparação de DNA das plantas hospedeiras para reparar quaisquer incompatibilidades, o que, em última instância, são mantidas na progênie. Parece claro que os geminivírus têm uma estrutura populacional muito semelhante aos vírus de RNA (Ge *et al.*, 2007). A taxa de mutação dos

begomovírus parece ser afetada pelo tipo de vírus, planta hospedeira, idade da planta hospedeira e homogeneidade de inóculo. Begomovírus e mastrevírus apresentam alta taxa de mutação tanto em plantas cultivadas quanto em não cultivadas (van der Walt *et al.*, 2008; Arguello-Astorga *et al.*, 2007).

Assim, a ocorrência de frequentes mutações em vírus de DNA sugere que as mutações genéticas nos vírus não são um resultado da fidelidade da polimerase tal como no caso dos vírus de RNA, mas sim diversas outras causas, como por exemplo, arquitetura genômica, velocidade de replicação e da planta hospedeira (Duffy & Holmes, 2008). Embora a recombinação seja a principal fonte de emergência de novas espécies e estirpes (García-Andres *et al.*, 2007; Lefeuvre *et al.*, 2007), a acumulação de mutações pontuais também contribui para a diversidade viral em uma família de vírus de plantas (van der Walt *et al.*, 2008).

A recombinação, principal mecanismo gerador de variabilidade genética em begomovírus, é um processo no qual a troca de segmentos ocorre entre duas fitas de DNA ou de RNA durante a replicação. A recombinação homóloga interespecífica tem sido descrita como uma fonte de acionamento ativa para a diversidade genética dos begomovírus e contribui para a sua evolução (Sanz *et al.*, 1999). Os três principais fatores que contribuem para a ocorrência de recombinação entre espécies de begomovírus são a alta incidência de infecções mistas, os altos níveis de replicação viral e o surgimento do biótipo B da mosca-branca *B. tabaci*, que permitiu um grande aumento na gama de hospedeiras do inseto vetor (Padidam *et al.*, 1999).

Uma das primeiras evidências de que eventos de recombinação ocorriam entre os geminivírus foi obtido a partir de estudos da grave doença “mosaico da mandioca”, na Uganda (Zhou *et al.*, 1997). A análise das sequências revelou que um vírus responsável pela doença, o *East African cassava mosaic virus – Uganda* (EACMV-UG) provavelmente tinha surgido por recombinação interespecífica entre *East African cassava mosaic virus* (EACMV) e *African cassava mosaic virus* (ACMV).

Atualmente, o número de novos geminivírus que surgem como consequência da recombinação está aumentando (Fauquet *et al.*, 2005; García-Andres *et al.*, 2006). Em alguns casos, os recombinantes exibem um novo fenótipo patogênico que muitas vezes é mais virulento do que o fenótipo dos parentais. Por exemplo, foi detectado um recombinante natural entre *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV) e *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), que tem uma gama de hospedeiros mais ampla e está se tornando predominante em populações de begomovírus que infectam tomate na Espanha (Monci *et al.*, 2002).

A criação de um vírus recombinante depende da sua vantagem seletiva em relação às suas populações parentais. Por exemplo, a recombinação é fundamental na disseminação da doença do enrolamento foliar do algodão (*Cotton leaf curl disease* – CLCuD) no Paquistão e nas áreas vizinhas, assim como novas variantes estão continuamente sendo adicionadas ao complexo CLCuD. Esta doença envolve diversos variantes de begomovírus diferentes, que evoluíram por meio da recombinação entre *Okra yellow vein mosaic virus* (OYVMV) e outros begomovírus (Zhou *et al.*, 1998). Nesta região, novos complexos de doenças estão surgindo em culturas cultivadas como tomate, tabaco, pimenta e mamão, e essas doenças poderão potencialmente estar associadas a novos begomovírus recombinantes (Venkataravanappa *et al.*, 2011).

A existência de dois componentes genômicos na maioria dos begomovírus promove um mecanismo alternativo, conhecido como pseudo-recombinação, onde acontece a troca do material genético sem a necessidade de recombinação intermolecular, ocorrendo apenas a troca dos componentes genômicos entre dois vírus distintos (Gilbertson *et al.*, 1993; Andrade *et al.*, 2006). A produção de pseudo-recombinantes viáveis exige uma interação altamente específica da proteína Rep com a região em torno da *ori*. A conservação da sequência dos iterons (Argüello-Astorga *et al.*, 1994) e a conservação estrutural da proteína Rep nos aminoácidos envolvidos no pareamento com os iterons (Argüello-Astorga & Ruiz-Medrano, 2001) são

fatores fundamentais para garantir a viabilidade de pseudo-recombinantes entre diferentes espécies/estirpes de begomovírus (Argüello-Astorga *et al.*, 1994; Chatterji *et al.*, 1999).

A formação de pseudo-recombinantes viáveis entre o *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) (DNA-A) e o *Tomato yellow spot virus* (ToYSV) (DNA-B) e entre o ToYSV (DNA-A) e o *Tomato crinkle leaf yellow virus* (ToCrLYV) (DNA-B), foi demonstrada em experimentos de inoculação com clones infecciosos (Andrade *et al.*, 2006).

Hou & Gilbertson (1996) demonstraram o efeito combinado de pseudo-recombinação e recombinação no surgimento de novos begomovírus. Trabalhando com *Bean dwarf mosaic virus* (BDMV) e *Tomato mottle virus* (ToMoV), os autores mostraram que, após cinco passagens consecutivas em *Nicotiana benthamiana*, um pseudo-recombinante com o DNA-A de ToMoV e o DNA-B de BDMV sofreu um evento de recombinação em que parte da RC do DNA-A de ToMoV foi transferida para o DNA-B de BDMV. Isto resultou em um aumento acentuado do título do DNA-B e na indução de sintomas mais graves pelo pseudo-recombinante.

Em meados dos anos 1990, uma nova doença de enrolamento foliar de tomateiro apareceu no Peru logo após os surtos de *B. tabaci*. Embora fossem sintomas sugestivos de uma begomovirose, eles não eram típicos de begomovírus bipartidos do Novo Mundo. Os sintomas da doença incluíam nanismo e crescimento distorcido, enrolamento das folhas para cima e inchaço e rocheamento das nervuras. Um begomovírus foi o agente causal suspeito, mas verificou-se também que os sintomas eram incomuns em relação aos tipicamente induzidos por begomovírus do Novo Mundo, em particular, a ausência de manchas, mosaico e amarelecimento. Um componente DNA-A, mas não um componente DNA-B, foi detectado em plantas com estes sintomas e a caracterização molecular indicou que era o DNA-A de um componente de uma nova espécie de begomovírus bipartido. Este novo vírus foi *Tomato leaf deformation virus* (ToLDeV) (Marquez-Martin *et al.*, 2011). Uma evidência definitiva de que

ToLDeV era um genuíno begomovírus monopartido do Novo Mundo veio após o cumprimento dos postulados de Koch, onde as plantas de tomateiro agroinoculadas com o componente DNA-A clonado de ToLDeV desenvolveu sintomas de enrolamento foliar indistinguíveis daqueles observados no campo (Melgarejo *et al.*, 2013; Sanchez-Campos *et al.*, 2013). Propriedades biológicas destes genótipos de ToLDeV foram semelhantes aos de begomovírus monopartidos do Velho Mundo, incluindo a falta de transmissibilidade de seiva, limitação do floema, um fenótipo de resistência em germoplasma de tomate com o gene Ty-1 e as propriedades funcionais dos genes V1 (proteína capsidial) e C4. As diferenças de sintomas induzidos pelos genótipos de ToLDeV em plantas de tomate e *Nicotiana benthamiana* foram associados a uma região intergênica altamente divergente e o gene C4. Juntos, esses resultados estabeleceram que ToLDeV é um emergente begomovírus monopartido nativo do Novo Mundo e que está causando a doença do enrolamento foliar no Equador e no Peru. A evidência apresentada foi de que ele surgiu a partir do componente DNA-A de um progenitor bipartido do Novo Mundo, via evolução convergente e recombinação (Melgarejo *et al.*, 2013).

## **6. Diversidade de begomovírus em tomateiro no Brasil**

O tomateiro, em particular, é seriamente afetado por begomovírus em escala mundial (Hanssen *et al.*, 2010). Nas Américas, as doenças causadas por begomovírus têm impactado significativamente a produção de tomate desde os anos 1980 (Morales & Jones, 2004; Ribeiro *et al.*, 2003). Até a década de 1980, os begomovírus causavam danos principalmente na produção de leguminosas, enquanto que apenas casos isolados e não significativos eram relatados em lavouras de tomateiro (Polston & Anderson, 1997).

Os primeiros relatos de begomovírus em tomateiro no Brasil ocorreram na década de 1960 (Flores *et al.*, 1960), onde foram observadas plantas de tomateiro apresentando sintomas de mosaico dourado e clorose infecciosa. Estes vírus eram transmitidos por enxertia e pela

mosca-branca *Bemisia tabaci*. Em trabalhos posteriores, o agente etiológico foi caracterizado e denominado *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), um vírus que apresentava partícula geminada (Matyis *et al.*, 1975) e que era transmitido mecanicamente (Costa *et al.*, 1975).

No Brasil, 12 espécies definitivas de begomovírus foram descritas infectando o tomateiro no Brasil até o presente momento (ICTV, 2015):

1. *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) (Matyis *et al.*, 1975);
2. *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV) (Fernandes *et al.*, 2006);
3. *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) (Ribeiro *et al.*, 2007);
4. *Tomato yellow spot virus* (ToYSV) (Calegario *et al.*, 2007);
5. *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) (Fernandes *et al.*, 2008);
6. *Tomato common mosaic virus* (ToCmMV) (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008);
7. *Tomato mild mosaic virus* (ToMIMV) (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008);
8. *Tomato leaf distortion virus* (ToLDV) (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008);
9. *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) (Albuquerque *et al.*, 2010);
10. *Tomato mottle leaf curl virus* (TMoLCV) (Albuquerque *et al.*, 2012);
11. *Tomato golden vein virus* (TGVV) (Albuquerque *et al.*, 2012).
12. *Tomato interveinal chlorosis virus* (ToICV) (Albuquerque *et al.*, 2012);

Outros begomovírus geneticamente distintos têm sido associados com doenças do tomateiro, mas estes vírus ainda não foram completamente caracterizados e o seu papel na etiologia destas doenças permanece ainda por ser estabelecido (Ribeiro *et al.*, 2003; Ambrozevicius *et al.*, 2002; Inoue-Nagata *et al.*, 2006; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Rocha *et al.*, 2013).

Atualmente, a hipótese melhor suportada explicando o surgimento repentino de begomovírus que infectam tomates no Brasil, assume que os vírus endêmicos foram

transferidos de hospedeiras não cultivadas para o tomateiro após a introdução e disseminação do chamado biótipo B de *B. tabaci*, no início de 1990. Este invasivo biótipo se alimenta de uma maior variedade de espécies hospedeiras do que os biótipos nativos de *B. tabaci* e provavelmente facilitou a transmissão do vírus a partir de uma gama mais ampla de hospedeiros para o tomate (Bedford *et al.*, 1994).

A caracterização biológica de alguns dos vírus de tomate (ToRMV, ToCMoV e ToYSV) tem efetivamente confirmado que as espécies não cultivadas frequentemente encontradas em campos de cultivo, como *Nicandra physaloides*, *Solanum nigrum* e *Datura stramonium*, são hospedeiros alternativos (Fernandes *et al.*, 2006; Ribeiro *et al.*, 2003; Calegario *et al.*, 2007). Além disso, begomovírus originalmente encontrados em espécies não cultivadas comuns, como *Sida mottle virus* (SiMoV) e *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV), também foram encontrados infectando o tomateiro em condições de campo (Castillo-Urquiza *et al.*, 2007; Cotrim *et al.* 2007).

O elevado número de patógenos virais de tomate pode ser parcialmente explicado pela sensibilidade do tomateiro a membros do gênero *Begomovirus*, o qual contém uma grande variedade de espécies. Além disso, anos de criação intensiva visando a melhoria da produção pode ter diminuído a base genética para a resistência a doenças virais em cultivares de tomateiro comerciais. A intensificação da produção de tomate com grandes áreas de monocultivo protegido, sob condições climáticas controladas, também podem gerar condições para a propagação eficiente e a sobrevivência do vírus e de seus vetores, aumentando assim o potencial para vírus emergentes se tornarem endêmicos (Hanssen *et al.*, 2010).

Levantamentos realizados nos últimos dez anos (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Cotrim *et al.*, 2007; Fernandes *et al.*, 2008) indicam que determinadas espécies tornaram-se prevalentes em diferentes regiões do país. Cotrim *et al.* (2007) caracterizaram isolados de tomateiro coletados na região central do Estado de São Paulo entre os anos 2003 e 2004 e observaram que



a espécie predominante foi ToSRV, presente em 50% das amostras analisadas. A presença de ToYVSV e de *Sida mottle virus* (SiMoV) também foi detectada (Cotrim *et al.*, 2007).

A análise de 115 genomas virais clonados a partir de amostras de tomateiro e plantas daninhas coletadas nos estados do Rio de Janeiro em 2005 e Minas Gerais em 2007, indicou a prevalência das espécies ToYVSV e ToCmMV. Ao todo foram identificadas três novas espécies infectando tomateiro: ToCmMV, ToMIMV e Tomato leaf distortion virus (ToLDV) (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008).

Outro trabalho que investigou a diversidade de espécies de *Begomovirus* em tomateiro foi conduzido com 138 isolados coletados entre os anos de 2004 e 2005 no Brasil Central, incluindo o Distrito Federal e os estados de Pernambuco, São Paulo, Bahia, Goiás e Minas Gerais. Neste estudo, verificou-se a presença de ToSRV em 61% das amostras, além de TGVV, TMoLCV, ToYVSV e duas potenciais novas espécies (Fernandes *et al.*, 2008).

## **7. *Bemisia tabaci* e a transmissão de begomovírus**

A mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) é um inseto da ordem Hemiptera, família Aleyrodidae, que suga a seiva do floema das plantas hospedeiras e vive predominantemente em espécies herbáceas (Jones, 2003). Este inseto é cosmopolita e polífago, sendo considerado uma das mais importantes pragas agrícolas do mundo (Dinsdale *et al.*, 2010; Ghanim *et al.*, 2007; Jones, 2003) e também, vetor de mais de 200 vírus de plantas (Jones 2003; Navas-Castillo *et al.*, 2011).

A mosca-branca apresenta metamorfose incompleta, passando pelas fases de ovo, ninfa e adulto. A reprodução pode ser sexual ou partenogenética. Na reprodução sexual, a prole será de macho e fêmea. Quando é partenogenética, a prole será composta apenas de machos (Villas Bôas, 2005).

*Bemisia tabaci* pode causar danos diretos às culturas ao se alimentar da seiva, provocando alterações no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da planta. Outro dano direto está relacionado com a excreção de substâncias açucaradas (*honeydew*) que cobrem as folhas e favorecem o desenvolvimento da fumagina, o que leva à redução do processo fotossintético e do valor comercial das culturas (Villas Bôas *et al.*, 2002). Em tomate ocorre também o amadurecimento irregular dos frutos, o que dificulta o reconhecimento do ponto de colheita e reduz a produção e a qualidade da pasta, após o processamento (Villas Bôas *et al.*, 1997). No entanto, o dano mais sério causado por mosca-branca é o chamado dano indireto, através da transmissão de um grande número de patógenos virais, pertencentes aos gêneros *Begomovirus*, *Carlavirus*, *Crinivirus*, *Ipomovirus* e *Torradovirus* (Jones, 2003; Navas-Castillo *et al.*, 2011).

Este inseto ganhou destaque em âmbito nacional no início dos anos 90, quando foi detectado o chamado biótipo B da espécie, também referido como *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, registrada em 1991 no Estado de São Paulo em plantas ornamentais, principalmente crisântemo e poinsettia, e em vegetais como tomate, brócolis, berinjela e abóbora (Lourenção & Nagai, 1994). Com o surgimento deste novo biótipo, intensificou-se o problema com doenças viróticas transmitidas por esta espécie (Ribeiro *et al.*, 1998).

Muito do conhecimento sobre as interações entre geminivírus e seus vetores vem de estudos entre begomovírus e *B. tabaci*. A mosca-branca adquire os vírions durante a alimentação no floema de uma planta infectada. Os vírions movem-se através do canal alimentar para o intestino médio da mosca-branca, onde eles entram na hemolinfa e transitam para as glândulas salivares para a transmissão durante o próximo ciclo de alimentação. As proteínas capsidiais virais (CPs) ligam-se a proteínas GroEL, codificadas por endosimbiontes no intestino mosca-branca e à proteína de choque térmico 16 (HSP16) codificada pela mosca-branca. As interações com GroEL e HSP16 podem estabilizar o vírion durante a passagem

através do intestino e/ou facilitar a sua transferência através do epitélio do intestino para a hemolinfa. Ambas as possibilidades são consistentes com dados que mostram que isoformas GroEL produzidas por diferentes endosimbiontes afetam a eficiência de transmissão (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013). As interações entre begomovírus e mosca-branca dependem do vírus, do biótipo do vetor e dos endosimbiontes do vector (Gottlieb *et al.*, 2010).

*Bemisia tabaci* vem sendo considerado um complexo de espécies, visto que nenhum carácter morfológico, tanto na fase juvenil quanto na fase adulta, pode ser utilizado para distinguir as diferentes variantes deste inseto (Brown, 2000). Técnicas moleculares e fisiológicas, assim como diferenças na gama de hospedeiros e/ou na especialização por hospedeiros, o grau de fecundidade, a variabilidade da eficiência de transmissão do vírus e a capacidade de causar fitotoxicidade, têm sido utilizados para distinguir os chamados biótipos de *B. tabaci* (Brown, 2000). Como as características biológicas são difíceis de serem avaliadas e reproduzidas entre diferentes laboratórios, o método mais reprodutível e informativo disponível atualmente para se determinar a filiação de um indivíduo de *B. tabaci* é baseado na informação genética fornecida pela sequência do gene mitocondrial Citocromo Oxidase 1 (mtCOI) (De Barro *et al.*, 2011).

Dinsdale *et al.* (2010) identificaram uma lacuna distinta na distribuição da frequência da divergência de sequências emparelhadas dos genes mtCOI. Esta lacuna seria um indicativo de diferenciação em nível de espécies e sugere que os indivíduos com 3,5% de divergência pertencem a espécies diferentes. Assim, foi proposto o uso desta lacuna como um limiar para a separação das populações ao nível de espécies. Com base na sequência parcial do gene mtCOI, geralmente tem sido aceito que, ao invés de um complexo de espécies, *B. tabaci* é um complexo de 11 grupos genéticos de alto nível, contendo pelo menos 36 espécies morfológicamente indistinguíveis, todas separadas por um mínimo de 3,5% de divergência nucleotídica no gene

mtCOI (Dinsdale *et al.*, 2010; De Barro *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2011; Alemandri *et al.*, 2012; Boykin *et al.*, 2012; Tay *et al.*, 2012; Barbosa *et al.*, 2014).

A estrutura de espécies proposta por Dinsdale *et al.* (2010) também é apoiada pela evidência de incompatibilidade reprodutiva entre alguns dos grupos genéticos (Xu *et al.*, 2010) ou ainda, pela redução no desempenho biológico da progênie (De Barro & Hart, 2000; Elbaz *et al.* 2010). Os atuais critérios de classificação, com base em marcadores moleculares, sugerem que o uso do termo biótipo, neste contexto, é errôneo e enganoso (De Barro *et al.*, 2011; Marubayashi *et al.*, 2013).

Assim sendo, dentro do complexo *B. tabaci*, o polífago biótipo B pertence à espécie críptica “Middle East-Asia Minor 1” (MEAM 1); o biótipo Q pertence à espécie “Mediterranean” (MED); e os diferentes biótipos nativos da América (A, C, D, F, Jatropha, N, R, Sida) pertencem à espécie “New World” (NW) (Barbosa *et al.*, 2014; Marubayashi *et al.*, 2013). Além disso, algumas populações da Argentina e do Brasil estão sendo propostas a pertencerem a uma segunda espécie nativa, chamada “NewWorld 2” (NW2) (Barbosa *et al.*, 2014).

Antes da disseminação global de *B. tabaci*, os begomovírus do Novo e Velho Mundo estavam amplamente distribuídos em plantas não cultivadas (por exemplo, ervas daninhas), presumivelmente através moscas-brancas nativas. Além disso, em muitas regiões do mundo, feijões, abóboras e tomates eram cultivados durante centenas de anos sem grandes surtos de begomovirose. Quando *B. tabaci* se espalhou globalmente, subsequentemente emergiram begomovírus que infectam lavouras cultivadas, evoluindo de vírus locais e refletindo antigas linhagens. Esta evolução local resultou em uma diversidade de espécies de begomovírus causando sintomas semelhantes da doença em plantas cultivadas sensíveis em regiões geográficas distintas (Gilbertson *et al.*, 2015).

A introdução da espécie MEAM 1 para as Américas ocorreu no final de 1980 (Bellows *et al.*, 1994) e, atualmente, está amplamente distribuída por todos os países latino-americanos (Lima *et al.*, 2000; Viscarret *et al.*, 2003; Morales, 2006; Marubayashi *et al.*, 2013). No Brasil, populações de *B. tabaci* pertencentes à espécie MEAM 1 são predominantes e se espalharam por todo o país. Os raros espécimes pertencentes às espécies “New World” e “New World 2” foram encontradas preferencialmente em ervas daninhas nativas das Américas, o que pode sugerir que as populações nativas de *B. tabaci* estejam sendo substituídas pela invasiva espécie MEAM 1 (Marubayashi *et al.*, 2013). Nas Américas, a espécie MED foi relatada nos Estados Unidos (Dalton, 2006), México (Martinez-Carrillo & Brown, 2007), Guatemala (Bethke *et al.*, 2009), Argentina, Uruguai (Grille *et al.* 2011), Costa Rica (Guevara-Coto *et al.* 2011) e, mais recentemente, no Brasil (Barbosa *et al.*, 2015).

O biótipo B é o principal responsável pelo aparecimento de novos begomovírus, mas evidências recentes sugerem uma situação mais complicada, com biótipos diferindo em eficiência de transmissão, competindo entre si e deslocando um ao outro e tendo interações mutualísticas com os begomovírus. Em 2006, *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) foi introduzido na China e em 2012, tornou-se predominante. A emergência e a propagação de TYLCV foi especificamente mediada pelo biótipo Q, devido a manipulação indireta (preferência do vetor por plantas infectadas com TYLCV) e direta (comportamento alimentar alterado) do vetor pelo vírus. Além disso, alimentando-se em plantas infectadas com TYLCV aumentou a fecundidade e a sobrevivência do biótipo Q, mas foi prejudicial para o biótipo B e o biótipo Q teve maiores taxas de passagem horizontal (sexual) de TYLCV. Assim, esta interação mutualística favoreceu tanto o vírus e quanto o vetor (Gilbertson *et al.*, 2015).

Em Mali, na África Ocidental, uma doença de enrolamento foliar em quiabo é causada pelo begomovírus monopartido *Cotton leaf curl Gezira virus* (CLCuGV) e o cognato Cotton leaf curl Gezira betasatellite (CLCuGB) (Kon *et al.*, 2009), ao passo que uma doença de

amarelecimento foliar em tomate é causada por *Tomato yellow leaf curl Mali virus* (TYLCMLV) (Chen *et al.*, 2009). *B. tabaci* tem impulsionado o surgimento de uma nova doença do tomateiro, com um fenótipo de sintoma severo, causada por um recombinante de *Tomato yellow leaf curl Mali virus* (TYLCMLV) e Cotton leaf curl Gezira betasatélite (CLCuGB), um betasatélite de malvácea. TYLCV sozinho induz a doença do amarelecimento e enrolamento foliar de tomateiro, enquanto que o fenótipo de sintoma severo se desenvolve em tomateiros co-infectados com TYLCMLV e CLCuGB. *Cotton leaf curl Gezira virus* (CLCuGV) é o vírus auxiliar cognato para CLCuGB; plantas de quiabo co-infectados com CLCuGV e CLCuGB desenvolvem a doença do enrolamento foliar do quiabeiro, enquanto que as plantas infectadas apenas com CLCuGV não desenvolvem sintomas. Assim, TYLCMLV era um vírus auxiliar para este betasatélite de malvácea, que era funcional (patogênico) num hospedeiro heterólogo (tomate). O polífago supervetor *B. tabaci*, portanto, mediu o surgimento de uma nova doença causada por um recombinante de begomovírus e betasatélite (Chen *et al.*, 2009).

*B. tabaci* também tem desempenhado um papel fundamental na disseminação global dos begomovírus, que não são transmitidos por sementes. O exemplo mais bem documentado é TYLCV, um begomovírus monopartido do Velho Mundo que foi introduzido no início de 1990 (Polston *et al.*, 1999) e se espalhou amplamente, seguindo o caminho da invasiva *B. tabaci* (Lefeuvre *et al.*, 2010). Curiosamente, dentre os begomovírus que infectam tomate conhecidos, apenas TYLCV se espalhou globalmente. Isto sugere que fatores específicos da interação entre TYLCV e *B. tabaci* facilitaram a sua disseminação global, tais como o mutualismo acima mencionado e a capacidade para transmissão horizontal (sexual) e vertical (transovariana). Estes e outros resultados têm sido a base para o que sugere que o mecanismo de transmissão de TYLCV pela *B. tabaci* está entre circulativa persistente e propagativa persistente,

possivelmente envolvendo a replicação viral em células do inseto ou nos endosimbiontes (Ghanim *et al.*, 2014).

## 8. Literatura citada

- ABCSEM – Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. 2010. Tomate lidera crescimento e lucratividade no setor de hortaliças. <http://www.abcsem.com.br/noticia.php?cod=284> . Consultado em 18/10/2014.
- ABCSEM – Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas. 2014. 4º Seminário Nacional de Tomate de mesa. <http://www.tomatedemesa.com.br/2013/> . Consultado em 20/03/2015.
- ALBUQUERQUE, L.C.; MARTIN, D.P.; ÁVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2010. Characterization of Tomato yellow vein streak virus, a begomovirus from Brazil. *Virus Genes* 40:140–147.
- ALBUQUERQUE, L.C.; VARSANI, A.; FERNANDES, F.R.; PINHEIRO, B.; MARTIN, D.P.; FERREIRA, P.T.O.; LEMOS, T.O. & INOUE-NAGATA, A.K. 2012. Further characterization of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 157:747–752.
- ALEMANDRI, V.; DE BARRO, P.; BEJERMAN, N.; ARGÜELLO-CARO, E.B.; DUMÓN, A.D.; MATTIO, M.F.; RODRIGUEZ, S.M. & TRUOLI, G. 2012. Species within the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) complex in soybean and bean crops in Argentina. *Journal of Economic Entomology* 105:48–53.
- AMBROZEVICIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G. & ZERBINI, F.M. 2002. Genetic diversity of *Begomovirus* infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:372–377.

- ANDRADE, E.C.; MANHANI, G.G.; ALFENAS, P.F.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B. & ZERBINI, F.M. 2006. *Tomato yellow spot virus*, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. *Journal of General Virology* 87:3687–3696.
- ARGÜELLO-ASTORGA, G.R.; GUEVARA-GONZALEZ, R.G.; HERRERA-ESTRELLA, L.R. & RIVERA-BUSTAMANTE, R.F. 1994. Geminivirus replication origins have a group-specific organization of iterative elements: a model for replication. *Virology* 203:90–100.
- ARGÜELLO-ASTORGA, G.R. & RUIZ-MEDRANO, R. 2001. An iteron-related domain is associated to motif 1 in the replication proteins of geminiviruses: Identification of potential interacting amino acid-base pairs by a comparative approach. *Archives of Virology* 146:1465–1485
- ARGÜELLO-ASTORGA, G.; ASCENCIO-IBANEZ, J.T.; DALLAS, M.B.; OROZCO, B.M. & HANLEY-BOWDOIN, L. 2007. High frequency reversion of geminivirus replication protein mutants during infection. *Journal of Virology* 81:11005–11015.
- BARBOSA, L.F.; MARUBAYASHI, J.M.; MARCHI, B.R.; YUKI, V.A.; PAVAN, M.A.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. & KRAUSE-SAKATE, R. 2014. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. *Pest Management Science* 70:1440–1445.
- BARBOSA, L.F.; YUKI, V.A.; MARUBAYASHI, J.M.; DE MARCHI, B.R.; PERINI, F.L.; PAVAN, M.A.; BARROS, D.R.; GHANIM, M.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. & KRAUSE-SAKATE, R. 2015. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. *Pest Management Science* 71:501–504.



- BEDFORD, I.D.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; ROSELL, R.C. & MARKHAM, P.G. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographical regions. *Annals of Applied Biology* 125:311–325.
- BELLOWS, T.S.; PERRING, T.M.; GILL, R.J. & HEADRICK, D.H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae) infesting North American agriculture. *Annals of the Entomological Society of America* 87:195–206.
- BETHKE, J.A.; BYRNE, F.J.; HODGES, G.S.; MCKENZIE, C.L. & SHATTERS, R.G. 2009. First report of the Q biotype of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in Guatemala. *Phytoparasitica* 37:61–64.
- BISARO, D. 1996. Geminivirus DNA replication. *In: DNA Replication in Eukaryotic Cells*. Volume 31. Cold Spring Harbor Laboratory Press. p.833–854.
- BOITEUX, L.S.; MELO, P.C.T. & VILELA, N.J. 2008. Tomate para Consumo *in natura*. *In: Albuquerque, A.C.S. & Silva, A.G. (eds.). Desenvolvimento da Agricultura Tropical: Quatro Décadas de Inovações Tecnológicas, Institucionais e Políticas*. Embrapa. Brasília. p.557–567.
- BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; GIORDANO, L.B. & MELO, P.C.T. 2012. Melhoramento Genético. *In: Clemente, F.M.V.T. & Boiteux, L.S. (eds.). Produção de Tomate para Processamento Industrial*. Embrapa. Brasília. p.31–50.
- BOULTON, M.I. 2002. Functions and interactions of mastrevirus gene products. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 5:243–255.
- BOYKIN, L.M.; ARMSTRONG, K.F.; KUBATKO, L. & DE BARRO, P.J. 2012. Species delimitation and global biosecurity. *Evolutionary bioinformatics* 8:1–37.

- BRIDDON, R.W.; BEDFORD, I.D.; TSAI, J.H. & MARKHAM, P.G. 1996. Analysis of the nucleotide sequence of the treehopper-transmitted geminivirus, tomato pseudo-curly top virus, suggests a recombinant origin. *Virology* 219:387–394.
- BRIDDON, R.W.; BULL, S.E.; AMIN, I.; IDRIS, A.M.; MANSOOR, S.; BEDFORD, I.D.; DHAWAN, P.; RISHI, N.; SIWATCH, S.S.; ABDEL-SALAM, A.M.; BROWN, J.K.; ZAFAR, Y. & MARKHAM, P.G. 2003. Diversity of DNA  $\beta$ : a satellite molecule associated with some monopartite begomoviruses. *Virology* 312:106–121.
- BRIDDON, R.W.; PINNER, M.S.; STANLEY, J. & MARKHAM, P.G. 1990. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. *Virology* 177:85–94.
- BRIDDON, R.W. & STANLEY, J. 2006. Subviral agents associated with plant single-stranded DNA viruses. *Virology* 344:198–210.
- BROWN, J.K. 2000. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector-*Begomovirus* complexes. *Virus Research* 71:233–260.
- BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; ZERBINI, F.M.; MORIONES, E. & NAVAS- CASTILLO, J. 2012. Family *Geminiviridae*. In: King, A.M.Q.; Adams, M.J.; Carstens, E.B. & Lefkowitz, E.J. (eds). *Virus Taxonomy 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press. London, United Kingdom. p. 351–373.
- BROWN, J.K.; ZERBINI, F.M.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; RAMOS-SOBRINHO, R.; SILVA, J.C.F.; FIALLO-OLIVE, E.; BRIDDON, R.W.; HERNANDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; MALATHI, V.G.; MARTIN, D.P.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; UEDA, S. & VARSANI, A. 2015. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593–1619.

- CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C. & ZERBINI, F.M. 2007. Characterization of *Tomato yellow spot virus*, a novel tomato-infecting begomovirus in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42:1335–1343.
- CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JUNIOR, J.E.A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; VARSANI, A.; LIMA, A.T.M.; BARROS, D.R. & ZERBINI, F.M. 2007. Genetic diversity of begomoviruses infecting tomato in Paty do Alferes, Rio de Janeiro state, Brazil. *Virus Research* 12:233.
- CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JR, J.E.A.; BRUCKNER, F.P.; LIMA, A.T.M.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P. & ZERBINI, F.M. 2008. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Archives of Virology* 153:1985–1989.
- CHATTERJI, A.; PADIDAM, M.; BEACHY, R.N. & FAUQUET, C.M. 1999. Identification of replication specificity determinants in two strains of tomato leaf curl virus from New Delhi. *Journal of Virology* 73:5481–5489.
- CHEN, L.F.; ROJAS, M.R.; KON, T.; GAMBY, K.; XOCONOSTLE-CAZARES, B. & GILBERTSON, R.L. 2009. A severe symptom phenotype in tomato in Mali is caused by a reassortant between a novel recombinant begomovirus (Tomato yellow leaf curl Mali virus) and a betasatellite. *Molecular Plant Pathology* 10:415–30
- COSTA, A.S. 1975. Increase in the populational density of *Bemisia tabaci*, a threat of widespread virus infection of legume crops in Brazil. *In*: Bird, J.L. & Maramorosch, K. (eds.). *Tropical Diseases of Legumes*. New York: Ademic Press. p. 171.
- COTRIM, A.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; NARITA, N.; ZERBINI, F.M. & PAVAN, M.A. 2007. Diversidade genética de begomovírus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. *Summa Phytopathologica* 33: 300–303.
- DALTON, R. 2006. Whitefly infestations: the Christmas invasion. *Nature* 443:898–900.

- DE BARRO, P.J. & HART, P.J. 2000. Mating interactions between two biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera:Aleyrodidae) in Australia. *Bulletin of Entomological Research* 90:103–112.
- DE BARRO, P.J.; LIU, S.S.; BOYKIN, L.M. & DINSDALE, A.B. 2011. *Bemisia tabaci*: a Statement of Species Status. *Annual Review of Entomology* 56:1–19.
- DINSDALE, A.; COOK, L.; RIGINOS, C.; BUCKLEY, Y.M. & DE BARRO, P, 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America* 103:196–208.
- DOMINGO, E. & HOLLAND, J.J. RNA virus mutations and fitness for survival. *Annual Review of Microbiology* 51:151–178.
- DUFFY, S. & HOLMES, E.C. 2008. Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the single-stranded DNA begomovirus *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). *Journal of Virology* 82:957-965.
- ELBAZ, M.; LAHAV, N. & MORIN, S. 2010. Evidence for pre-zygotic reproductive barrier between the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera:Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 100:581–590.
- FAHMY, I.F.; TAHA, O. & EL-ASHRY, A.N. 2015. First genome analysis and molecular characterization of Chickpea chlorotic dwarf virus Egyptian isolate infecting squash. *VirusDisease* 26:33–41.
- FAOSTAT – Food and Agriculture Organization. 2013. Top production: Tomatoes, 2011. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Consultado em 18/10/2014.
- FAUQUET, C.M. & STANLEY, J. 2005. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: A review of geminivirus taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. *Archives of Virology* 150:2151–2179.

- FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, M. & ZHOU, X. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology* 153:783–821.
- FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; AVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251–258.
- FERNANDES, J.J.; CARVALHO, M.G.; ANDRADE, E.C.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; FONTES, E.P.B. & ZERBINI, F.M. 2006. Biological and molecular properties of *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. *Plant Pathology* 55:513–522.
- FLORES, E.; SILBERSCHMIDT, K. & KRAMER, M. 1960. Observações de “clorose infecciosa” das malváceas em tomateiros do campo. *O Biológico* 26:65-69.
- FONDONG, V.N. 2013. Geminivirus protein structure and function. *Molecular Plant Pathology* 14: 635–649.
- FONDONG, V.N. & CHEN, K. 2011. Genetic variability of East African cassava mosaic Cameroon virus under field and controlled environment conditions. *Virology* 413:275–282.
- FONTES, E.P.B.; GLADFELTER, H.J.; SCHAFFER, R.L.; PETTY, I.T.D. & HANLEY-BOWDOIN, L. 1994. Geminivirus replication origins have a modular organization. *Plant Cell* 6:405–416.
- FONTES, E.P.B.; LUCKOW, V.A. & HANLEY-BOWDOIN, L. 1992. A geminivirus replication protein is sequence-specific DNA binding protein. *Plant Cell* 4:597–608.
- GARCÍA-ANDRÉS, S.; TOMAS, D.M.; SANCHEZ-CAMPOS, S.; NAVAS-CASTILLO, J. & MORIONES, E. 2007. Frequent occurrence of recombinants in mixed infections of tomato yellow leaf curl disease-associated begomoviruses. *Virology* 365:210–219.

- GARCÍA-ANDRÉS, S.; MONCI, F., NAVAS-CASTILLO, J. & MORIONES, E. 2006. Begomovirus genetic diversity in the native plant reservoir *Solanum nigrum*: Evidence for the presence of a new virus species of recombinant nature. *Virology* 5:433–442.
- GE, L., ZHANG, J., ZHOU, X. & LI, H. 2007. Genetic structure and population variability of *Tomato yellow leaf curl China virus*. *Journal of Virology* 81:5902–5907.
- GHANIM M. 2014. A review of the mechanisms and components that determine the transmission efficiency of *Tomato yellow leaf curl virus (Geminiviridae: Begomovirus)* by its whitefly vector. *Virus Research* 186:47–54.
- GHANIM, M.; SOBOL, I.; GHANIM, M. & CZOSNEK, H. 2007. Horizontal transmission of begomoviruses between *Bemisia tabaci* biotypes. *Arthropod-Plant Interactions* 1:195–204.
- GILBERTSON, R.L.; BATUMAN, O.; WEBSTER, C.G. & ADKINS, S. 2015. Role of the Insect Supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the Emergence and Global Spread of Plant Viruses. *Annual Review of Virology* 2:67-93.
- GILBERTSON, R.L.; HIDAYAT, S.H.; PAPLOMATAS, E.J.; ROJAS, M.R.; HOU, Y.M. & MAXWELL, D.P. 1993. Pseudorecombination between the infectious cloned DNA components of tomato mottle and bean dwarf mosaic geminiviruses. *Journal of General Virology* 74:23–31.
- GIORDANO, L.B.; FONSECA, M.E.N.; SILVA, J.B.C.; INOUE-NAGATA, A.K. & BOITEUX, L.S. 2005. Efeito da infecção precoce por *Begomovirus* com genoma bipartido em características de frutos de tomate industrial. *Horticultura Brasileira* 23: 815–818.
- GOTTLIEB, Y.; ZCHORI-FEIN, E.; MOZES-DAUBE, N.; KONTSEDALOV, S.; SKALJAC, M.; BRUMIN, M.; SOBOL, I.; CZOSNEK, H.; VAVRE, F.; FLEURY, F. & GHANIM, M. 2010. The transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus by the whitefly

- Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. Journal of Virology 84:9310–9317.
- GRILLE, G.; GAUTHIER, N.; BUENAHORA, J.; BASSO, C. & BONATO, O. 2011. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Argentina and Uruguay. Phytoparasitica 39:235–238.
- GUEVARA-COTO, J.; BARBOZA-VARGAS, N.; HERNANDEZ-JIMENEZ, E.; HAMMOND R & RAMIREZ-FONSECA, P. 2011. *Bemisia tabaci* biotype Q is present in Costa Rica. European Journal of Plant Pathology 131:167–170.
- GUTIERREZ, C. 1999. Geminivirus DNA replication. Cellular and Molecular Life Sciences 56:313–329.
- GUTIERREZ, C. 2000. Geminiviruses and the plant cell cycle. Plant Molecular Biology 43:763–772.
- HA, C.; COOMBS, S.; REVILL, P.; HARDING, R.; VU, M. & DALE, J. 2008. Molecular characterization of begomoviruses and DNA satellites from Vietnam: Additional evidence that the New World geminiviruses were present in the Old World prior to continental separation. Journal of General Virology 89:312–326.
- HADFIELD, J.; THOMAS, J.E.; SCHWINGHAMER, M.W.; KRABERGER, S.; STANTON, D.; DAYARAM, A.; PARRY, J.N.; PANDE, P.; MARTIN, D.P. & VARSANI, A. 2012. Molecular characterization of dicot-infecting mastrevirus from Australia. Virus Research 166:13–22.
- HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S.B.; OROZCO, B.M.; NAGAR, S. & ROBERTSON, D. 1999. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. Critical Reviews in Plant Sciences 18:71–106.

- HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S.B. & ROBERTSON, D. 2004. Reprogramming plant gene expression: a prerequisite to geminivirus DNA replication. *Molecular Plant Pathology* 5:149–156.
- HANSEN, I.M.; LAPIDOT, M. & THOMMA, B. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*. 23:539 –548.
- HARRISON, B.D. & ROBINSON, D.J. 1999. Natural genomic and antigenic variation in whitefly-transmitted geminiviruses (Begomoviruses). *Annual Review of Phytopathology* 37:369–398.
- HARRISON, B.D.; SWANSON, M.M. & FARGETTE, D. 2002. Begomovirus coat protein: serology, variation and functions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 60:257–271.
- HEYDARNEJAD, J.; KEYVANI, N.; RAZAVINEJAD, S.; MASSUMI, H. & VARSANI A. 2013. Fulfilling Koch's postulates for beet curly top Iran virus and proposal for consideration of new genus in the family Geminiviridae. *Archives of Virology* 158:435-443.
- HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; VARSANI, A. & BROWN, J.K. 2013. Intergeneric recombination between a new, spinach-infecting curtovirus and a new geminivirus belonging to the genus Becurtovirus: first New World exemplar. *Archives of Virology* 158:2245–2254.
- HOFER, P.; BEDFORD, I.D.; MARKHAM, P.G.; JESKE, H. & FRISCHMUTH, T. 1997. Coat protein gene replacement results in whitefly transmission of an insect nontransmissible geminivirus isolate. *Virology* 236:288–295.
- HOU, Y.M. & GILBERTSON, R.L. 1996. Increased pathogenicity in a pseudorecombinant bipartite geminivirus correlates with intermolecular recombination. *Journal of Virology* 70:5430–5436.



- HU, J.; DE BARRO, P.; ZHAO, H.; WANG, J.; NARDIA, F. & LIU, S.S. 2011. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China. *PLoS One* 6:e16061.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro. 29:1–83
- ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses. 2015. <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Consultado em 25/09/2015.
- IDRIS, A.M.; BRIDDON, R.W.; BULL, S.E. & BROWN, J.K. 2005. Cotton leaf curl Gezira virus-satellite DNAs represent a divergent, geographically isolated Nile Basin lineage: predictive identification of a satDNA REP-binding motif. *Virus Research* 109:19–32.
- INOUE-NAGATA, A.K.; MARTIN, D.P.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.D.; BEZERRA, I.C. & DE AVILA, A.C. 2006. New species emergence via recombination among isolates of the Brazilian tomato-infecting begomovirus complex. *Braz. Journal of Agricultural Research* 41:1329–1332.
- JENKINS, G.M.; RAMBAUT, A.; PYBUS, O.G. & HOLMES, E.C. 2002. Rates of molecular evolution in RNA viruses: a quantitative phylogenetic analysis. *Journal of Molecular Evolution* 54:156–165.
- JESKE, H.; LUTGEMEIER, M. & PREISS, W. 2001. Distinct DNA forms indicate rolling circle and recombination-dependent replication of Abutilon mosaic geminivirus. *The EMBO Journal* 20:6158–6167.
- JONES, D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109:195–219.
- JUPIN, I.; HERICOURT, F.; BENZ, B. & GRONENBORN, B. 1995. DNA replication specificity of TYLCV geminivirus is mediated by the amino-terminal 116 amino acids of the Rep protein. *FEBS Letters* 362:116–120.

- KON, T.; ROJAS, M.R.; ABDOURHAMANE, I.K. & GILBERTSON, R.L. 2009. Roles and interactions of begomoviruses and satellite DNAs associated with okra leaf curl disease in Mali, West Africa. *Journal of General Virology* 90:1001–13.
- LAUFS, J.; TRAUT, W.; HEYRAUD, F.; MATZEIT, V.; ROGERS, S.G.; SCHELL, J. & GRONENBORN, B. 1995. *In vitro* cleavage and joining at the viral origin of replication by the replicator initiator protein of tomato yellow leaf curl virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92:3879–3883.
- LAZAROWITZ, S.G. 1992. Geminiviruses: Genome structure and function. *Critical Reviews in Plant Sciences* 11:327–349.
- LEFEUVRE, P.; MARTIN, D.P.; HARKINS, G.; LEMEY, P.; GRAY, A.J.A.; MEREDITH, S.; LAKAY, F.; MONJANE, A.; LETT, J.M.; VARSANI, A. & HEYDARNEJAD, J. 2010. The spread of Tomato yellow leaf curl virus from the Middle East to the world. *PLOS Pathogens* 6:e1001164.
- LEFEUVRE, P.; MARTIN, D.P.; HOAREAU, M.; NAZE, F.; DELATTE, H.; THIERRY, M.; VARSANI, A.; BECKER, N.; REYNAUD, B. & LETT, J.M. 2007. Begomovirus 'melting pot' in the south-west Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *Journal of General Virology* 88:3458–3468.
- LIMA, L.H.C.; NÁVIA, D.; INGLIS, P.W. & OLIVEIRA, M.R.V. 2000. Survey of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in Brazil using RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology* 23:1–5.
- LOURENÇÃO, A.L. & NAGAI, H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. *Bragantia* 53:53–59.
- LUCAS, W.J. & GILBERTSON, R.L. 1994. Plasmodesmata in relation to viral movement within leaf tissues. *Annual Review of Phytopathology* 32:387–411.

- MARQUEZ-MARTIN, B.; ARAGON-CABALLERO, L.; FIALLO-OLIVE, E.; NAVAS-CASTILLO, J. & MORIONES, E. 2011. *Tomato leaf deformation virus*, a novel begomovirus associated with a severe disease of tomato in Peru. *European Journal of Plant Pathology* 129:1–7.
- MARTINEZ-CARRILLO, J.L. & BROWN, J.K. 2007. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Southern Sonora, *Mexico*. *Phytoparasitica* 35:282–284.
- MARUBAYASHI, J.M.; YUKI, V.A.; ROCHA, K.C.G.; MITUTI, T.; PELEGRINOTTI, F.M.; FERREIRA, F.Z.; MOURA, M.F.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; PAVAN, M.A. & KRAUSE-SAKATE, R. 2013. At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 137:113–121.
- MATYIS, J.C.; SILVA, D.M.; OLIVEIRA, A.R. & COSTA, A.S. 1975. Purification and morphology of tomato golden mosaic virus. *Summa Phytopathologica* 1:267– 275.
- MELGAREJO, T.A.; KON, T.; ROJAS, M.R.; PAZ-CARRASCO, L.; ZERBINI, F.M. & GILBERTSON, R.L. 2013. Characterization of a New World monopartite begomovirus causing leaf curl disease of tomato in Ecuador and Peru reveals a new direction in geminivirus evolution. *Journal of Virology* 87:5397–5413.
- MELO, P.C.T.; BOITEUX, L.S.; VILELA, N.J. & FERRAZ, E. 2008. Tomate para Processamento Industrial. *In: Albuquerque, A.C.S. & Silva, A.G. (eds.). Desenvolvimento da Agricultura Tropical: Quatro Décadas de Inovações Tecnológicas, Institucionais e Políticas. 1ª ed. Embrapa. Brasília. p.547–556.*
- MONCI, F.; SANCHEZ-CAMPOS, S.; NAVAS-CASTILLO, J. & MORIONES, E. 2002. A natural recombinant between the geminiviruses *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* and *Tomato yellow leaf curl virus* exhibits a novel pathogenic phenotype and is becoming prevalent in Spanish populations. *Virology* 303:317–326.

- MORALES, F.J. & ANDERSON, P.K. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminivirus in Latin America. *Archives of Virology* 146:415-441.
- MORALES, F.J. 2006. History and current distribution of begomoviruses in Latin America. *Advances in Virus Research* 67:127–162.
- MORALES, F.J. & JONES, P.G. 2004. The ecology and epidemiology of whitefly-transmitted viruses in Latin America. *Virus Research* 100:57–65.
- MUHIRE, B.; MARTIN, D.P.; BROWN, J.K.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; ZERBINI, M.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; MALATHI, V.G.; BRIDDON, R.W. & VARSANI, A. 2013. A genome-wide pairwise-identity-based proposal for the classification of viruses in the genus *Mastrevirus* (family *Geminiviridae*). *Archives of Virology* 158:1411–1424.
- NASH, T.E.; DALLAS, M.B.; REYES, M.I.; BUHRMAN, G.K.; ASCENCIO-IBANEZ, J.T. & HANLEY-BOWDOIN, L. 2011. Functional Analysis of a Novel Motif Conserved across Geminivirus Rep Proteins. *Journal of Virology* 85:1182–1192.
- NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVE, E. & SANCHEZ-CAMPOS, S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219–248.
- NOUEIRY, A.O.; LUCAS, W.J. & GILBERTSON, R.L. 1994. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport. *Cell* 76:925–932.
- OROZCO, B.M. & HANLEY-BOWDOIN, L. 1996. A DNA structure is required for geminivirus replication origin function. *Journal of Virology* 70:148–158.
- OROZCO, B.M. & HANLEY-BOWDOIN, L. 1998. Conserved sequence and structural motifs contribute to the DNA binding and cleavage activities of a geminivirus replication protein. *Journal of Biological Chemistry* 273:24448–24456.
- PADIDAM, M.; SAWYER, S. & FAUQUET, C.M. 1999. Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265:218–225.

- PALMER, K.E. & RYBICKI, E.P. 1998. The molecular biology of mastreviruses. *Advances in Virus Research* 50:183–234.
- PAPROTKA, T.; METZLER, V. & JESKE, H. 2010. The first DNA 1-like  $\alpha$  satellites in association with New World begomoviruses in natural infections. *Virology* 404:148–157.
- PATIL, B.L. & FAUQUET, C.M. 2009. Cassava mosaic geminiviruses: actual knowledge and perspectives. *Molecular Plant Pathology* 10:685–701.
- PEDERSEN, T.J. & HANLEY-BOWDOIN, L. 1994. Molecular characterization of the AL3 protein encoded by a bipartite geminivirus. *Virology* 202:1070–1075.
- PILARTZ, M. & JESKE, H. 2003. Mapping of Abutilon mosaic geminivirus minichromosomes. *Journal of Virology* 77:10808–10818.
- POLSTON, J.; MCGOVERN, R.J. & BROWN, L.G. 1999. Introduction of *Tomato yellow leaf curl virus* in Florida and implications for the spread of this and other geminiviruses of tomato. *Plant Disease* 83:984–88.
- POLSTON, J.E. & ANDERSON P.K. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. *Plant Disease* 81:1358–1369.
- POOGGIN, M.M. 2013. How Can Plant DNA Viruses Evade siRNA-Directed DNA Methylation and Silencing? *International Journal of Molecular Sciences* 14:15233-15259.
- RAMOS, P.L.; GUEVARA-GONZALEZ, R.G.; PERAL, R.; ASCENCIO-IBANEZ, J.T.; POLSTON, J.E.; ARGUELLO-ASTORGA, G.R.; VEGA-ARREGUIN, J.C. & RIVERA-BUSTAMANTE, R.F. 2003. *Tomato mottle Taino virus* pseudorecombines with PYMV but not with ToMoV: Implications for the delimitation of cis- and trans-acting replication specificity determinants. *Archives of Virology* 148:1697–712.
- RIBEIRO, S.G.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; FERNANDES, J.J.; FARIA, J.C.; LIMA, M.F.; GILBERTSON, R.L.; ZAMBOLIM, E.M. & ZERBINI, F.M. 1998. Widespread

- occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. *Plant Disease* 82:830.
- RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVÍCIUS, L.P.; AVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; DE MELLO, R.N.; ROCHA, H. & ZERBINI, F.M. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 148:281–295.
- RIBEIRO, S.G.; MARTIN, D.P.; LACORTE, C.; SIMÕES, I.C.; ORLANDINI, D.R.S. & INOUE-NAGATA, A.K. 2007. Molecular and biological characterization of *Tomato chlorotic mottle virus* suggests that recombination underlies the evolution and diversity of Brazilian tomato begomoviruses. *Phytopathology* 97:702–711.
- RIGDEN, J.E.; DRY, I.B.; KRAKE, L.R. & REZAIAN, M.A. 1996. Plant virus DNA replication processes in *Agrobacterium*: insight into the origins of geminiviruses? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93:10280–10284.
- ROCHA, C.S.; CASTILLO-URQUIZA, G.P.; LIMA, A.T.M.; SILVA, F.N.; XAVIER, C.A.D.; HORA-JÚNIOR, B.T.; BESERRA-JÚNIOR, J.E.A.; MALTA, A.W.O.; MARTIN, D.P.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; MIZUBUTI, E.S.G.; ZERBINI, F.M. 2013. Brazilian *Begomovirus* Populations Are Highly Recombinant, Rapidly Evolving, and Segregated Based on Geographical Location. *Journal of Virology* 87:5784–5799.
- ROJAS, M.R.; HAGEN, C.; LUCAS, W.J. & GILBERTSON, R.L. 2005. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 43:361–394.
- ROOSSINCK, M.J. 1997. Mechanisms of plant virus evolution. *Annual Review of Phytopathology* 35:191–209

- RYBICKI, E.P. 1994. A phylogenetic and evolutionary justification for three genera of *Geminiviridae*. *Archives of Virology* 139:49–77.
- SANCHEZ-CAMPOS, S.; MARTINEZ-AYALA, A.; MARQUEZ-MARTIN, B.; ARAGON-CABALLERO, L.; NAVAS-CASTILLO, J. & MORIONES, E. 2013. Fulfilling Koch's postulates confirms the monopartite nature of tomato leaf deformation virus, a begomovirus native to the New World. *Virus Research* 173:286–293.
- SANDERFOOT, A.A. & LAZAROWITZ, S.G. 1995. Cooperation in Viral Movement: The Geminivirus BL1 Movement Protein Interacts with BR1 and Redirects It from the Nucleus to the Cell Periphery. *Plant Cell* 7:1185–1194.
- SANZ, A.I.; FRAILE, A.; GALLEGRO, J.M.; MALPICA, J.M. & GARÍA-ARENAL, F. 1999. Genetic variability of natural populations of cotton leaf curl geminivirus, single-stranded DNA virus. *Journal of Molecular Evolution* 49:672–681.
- SAUNDERS, K.; BRIDDON, R.W. & STANLEY, J. 2008. Replication promiscuity of DNA- $\beta$  satellites associated with monopartite begomoviruses; deletion mutagenesis of the Ageratum yellow vein virus DNA- $\beta$  satellite localises sequences involved in replication. *Journal of General Virology* 89:3165–3172.
- SAUNDERS, K.; SALIM, N.; MALI, V.R.; MALATHI, V.G.; BRIDDON, R.W.; MARKHAM, P.G. & STANLEY, J. 2002. Characterisation of Sri Lankan cassava mosaic virus and Indian cassava mosaic virus: evidence for acquisition of a DNA B component by a monopartite begomovirus. *Virology* 293:63–74.
- SEAL, S.E.; VAN DEN BOSCH, F. & JEGER, M.J. 2006. Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: implications for sustainable control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25:23–46.

- SHEPHERD, D.N.; MARTIN, D.P.; VAN DER WALT, E.; DENT, K.; VARSANI, A. & RYBICKI, E.P. 2010. *Maize streak virus*: an old and complex ‘emerging’ pathogen. *Molecular plant pathology* 11:1–12.
- STANLEY, J. 1995. Analysis of African cassava mosaic-virus recombinants suggests strand nicking occurs within the conserved nonanucleotide motif during the initiation of rolling circle DNA-replication. *Virology* 206:707-712.
- STANLEY, J.; BISARO, D.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; HARRISON, B.D.; RYBICKI, E.P. & STENGER, D.C. 2005. Geminiviridae. *In*: Fauquet, C.M.; Mayo, M.A.; Maniloff, J.; Desselberger, U. & Ball, L.A. (eds.). *Virus Taxonomy*. 8th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, CA, USA: Elsevier Academic Press. p.301–326.
- SUNTER, G. & BISARO, D.M. 1992. Transactivation of geminivirus AR1 and BR1 gene expression by the viral AL2 gene product occurs at the level of transcription. *Plant Cell* 4:1321–1331.
- SUNTER, G.; HARTITZ, M.D.; HORMUZDI, S.G.; BROUGH, C.L. & BISARO, D.M. 1990. Genetic analysis of tomato golden mosaic virus. ORF AL2 is required for coat protein accumulation while ORF AL3 is necessary for efficient DNA replication. *Virology* 179:69–77.
- TAY, W.T.; EVANS, G.A.; BOYKIN, L.M. & DE BARRO, P.J. 2012. Will the real *Bemisia tabaci* please stand up? *PLoS One* 7:e50550.
- TIMMERMANS, M.C.P.; PREM, D.A.S.O. & MESSING, J. 1994. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45:79–112.



- VAN DER WALT, E.; MARTIN, D.P.; VARSANI, A.; POLSTON, J.E. & RYBICKI, E.P. 2008. Experimental observations of rapid *Maize streak virus* evolution reveal a strand-specific nucleotide substitution bias. *Virology Journal* 5:104.
- VANITHARANI, R.; CHELLAPPAN, P.; PITA, J.S. & FAUQUET, C.M. 2004. Differential Roles of AC2 and AC4 of Cassava Geminiviruses in Mediating Synergism and Suppression of Posttranscriptional Gene Silencing. *Journal of Virology* 78:9487–9498.
- VARSANI, A.; MARTIN, D.P.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; ZERBINI, F.M. & BROWN, J.K. 2014a. Revisiting the classification of curtoviruses based on genome-wide pairwise identity. *Archives of Virology* 159:1873–1882.
- VARSANI, A.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; BROWN, J.K.; ZERBINI, F.M. & MARTIN, D.P. 2014b. Establishment of three new genera in the family Geminiviridae: Becurtovirus, Eragrovirus and Turncurtovirus. *Archives of Virology* 159:2193–2203.
- VENKATARAVANAPPA, V.; LAKSHMINARAYANA REDDY, C.; SWARANALATHA, P.; JALALI, S.; BRIDDON, R.W. & REDDY, M.K. 2011. Diversity and phylogeography of begomovirus-associated beta satellites of okra in India. *Virology Journal* 8:555.
- VILLAS BÔAS, G.L. 2005. Manejo integrado de Mosca-Branca. Comunicado Técnico Embrapa Hortaliças 28.
- VILLAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H.; DE ÁVILA, A.C. & BEZERRA, I.C. 1997. Manejo integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolli*. Circular Técnica Embrapa Hortaliças 9.
- VILLAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H. & MACEDO, N. 2002. Potencial biótico da mosca-branca *Bemisia argentifolli* a diferentes plantas hospedeiras. *Horticultura Brasileira* 20:71–79.

- VISCARRET, M.M.; TORRES-JEREZ, I.; AGOSTINI DE MANERO, E.; LÓPEZ, S.N.; BOTTO, E.E. & BROWN, J.K. 2003. Mitochondrial DNA evidence for a distinct New World Group of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous to Argentina and Bolivia, and presence of the Old World B Biotype in Argentina. *Annals of the Entomological Society of America* 96:65–72.
- XU, J.; DE BARRO, P.J. & LIU, S.S. 2010. Reproductive incompatibility among genetic groups of *Bemisia tabaci* supports the proposition that the whitefly is a cryptic species complex. *Bulletin of Entomological Research* 100:359–366.
- ZHOU, X. 2013. Advances in understanding begomovirus satellites. *Annual Review of Phytopathology* 51:357–381.
- ZHOU, X.; LIU, Y.; CALVERT, L.; MUNOZ, C.; OTIM-NAPE, G.W.; ROBINSON, D.J. & HARRISON, B.D. 1997. Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination. *Journal of General Virology* 78:2101–2111.
- ZHOU, X.; LIU, Y.; ROBINSON, D.J. & HARRISON, B.D. 1998. Four DNA-A variants among Pakistani isolates of cotton leaf curl virus and their affinities to DNA-A of geminivirus isolates from okra. *Journal of General Virology* 79:915–923.

# CAPÍTULO 2

---

---

**DUAS DÉCADAS DAS BEGOMOVIROSES DO TOMATEIRO NO  
BRASIL APÓS A INVASÃO DE *Bemisia tabaci* MEAM 1: VÍRUS  
PREDOMINANTES, OCORRÊNCIA ENDÊMICA, DECLÍNIO E  
EXTINÇÃO DE ESPÉCIES VIRAIS EM UM CENÁRIO DE  
EXTREMA DIVERSIDADE E CONSTANTE EVOLUÇÃO**

**Duas décadas das begomoviroses do tomateiro no Brasil após a invasão de *Bemisia tabaci* MEAM 1: vírus predominantes, ocorrência endêmica, declínio e extinção de espécies virais em um cenário de extrema diversidade e constante evolução.**

**RESUMO**

A ocorrência de epidemias de begomovírus em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no Brasil pode ser dividida em duas fases. Até o início da década de 1990, as begomoviroses eram de ocorrência esporádica e de pouca importância econômica. No entanto, após a década de 1990, um complexo extremamente diverso de begomovírus emergiu no país, coincidindo com a invasão e ampla dispersão geográfica do vetor *Bemisia tabaci* MEAM 1 (= biótipo B). O presente trabalho apresenta um panorama da diversidade de espécies de *Begomovirus* entre os anos de 2001 e 2015 nas diferentes regiões de cultivo do tomateiro após a invasão de populações exóticas de *B. tabaci*. Amostras foliares exibindo sintomas similares aos induzidos por infecção por begomovírus foram coletadas nas principais áreas produtoras, englobando todas as cinco regiões geográficas do Brasil. Mil e cinquenta e cinco (1.055) isolados foram caracterizados via PCR com iniciadores universais para os componentes DNA-A e DNA-B e via sequenciamento de um *amplicon* ( $\approx 1200$  pb) do DNA-A. Todos os isolados caracterizados apresentaram genoma bipartido, não havendo um único registro de espécies com genoma monopartido. Embora as duas espécies virais predominantes tenham sido reportadas em todas as regiões, existe uma clara regionalização ecológica, sendo *Tomato mottle leaf curl virus* de ocorrência mais frequente em condições de clima mais quente e *Tomato severe rugose virus* predominante em condições de clima tropical de altitude e subtropical. Alguns vírus descritos antes da década de 1990 (ex. *Tomato golden mosaic virus*) e algumas espécies reportadas causando as primeiras epidemias em tomateiro no Brasil após o ingresso de *B. tabaci* MEAM 1 no país (ex. *Tomato crinkle leaf yellows virus* e *Tomato chlorotic vein virus*) não foram encontrados em nosso

levantamento, sugerindo que determinadas espécies apresentaram ciclos epidêmicos transitórios e que posteriormente perderam importância epidemiológica e muitas estando provavelmente extintas em condições naturais. Restrita distribuição geográfica (endemismo) foi observada para as espécies *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV) e *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) (Brasil Central); *Tomato common mosaic virus* (ToCmMV) e *Tomato interveinal chlorosis virus* (ToICV) (faixa litorânea nos Estados do ES, RJ, sul da Bahia) e *Tomato golden vein virus* (TGVV) (em MG, SP, GO). Cento e vinte e seis isolados mostraram considerável divergência e podem representar potenciais novas espécies de acordo com os presentes critérios taxonômicos. Estirpes de begomovírus relatadas inicialmente em outras plantas cultivadas ou plantas daninhas estão se adaptando e infectando o tomateiro, mas ainda em frequência relativamente baixa. Esta coleção de isolados representa uma importante ferramenta para estudos de mecanismos evolucionários de begomovírus, gerando também informações úteis para programas de melhoramento genético que visem identificar e incorporar fontes de resistência ampla às espécies desse complexo viral.

Palavras-chave: begomovírus, diversidade, tomate.

**Two of decades of tomato begomoviruses after *Bemisia tabaci* MEAM 1 invasion in Brazil: Virus prevalence, endemic distribution, decline, and extinction viral species in a scenario of extreme diversity and continuous evolution.**

**ABSTRACT**

The occurrence of begomovirus outbreaks in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in Brazil can be divided into two phases. Until the early 1990, the begomoviruses had sporadic occurrence and little economic importance. However, after the 1990s, an extremely diverse complex of begomovirus emerged in Brazil, coinciding with the invasion and wide geographic dispersion of *Bemisia tabaci* MEAM 1 (= B biotype). The present work presents a panorama of the *Begomovirus* species diversity between the years 2001 and 2015 in different tomato-producing regions after the invasion of exotic *B. tabaci* populations. Leaf samples displaying symptoms similar to those induced by begomovirus infections were collected in the main tomato-producing areas, encompassing all five regions of Brazil. One thousand and fifty-five (1.055) isolates were characterized through PCR with universal primers for conserved regions of the DNA-A and DNA-B components. The nucleotide sequence of a segment of the DNA-A genome ( $\approx 1200$  bp) was employed for molecular characterization of the viral isolates. All isolates displayed bipartite genomes with no record of monopartite species. Although the two predominant viral species have been reported in all regions, there was a clear ecological regionalization, being *Tomato mottle leaf curl virus* most frequently occurring in warmer conditions and *Tomato severe rugose virus* being prevalent in highland tropical and subtropical areas. Some viruses described before the 1990s (eg. *Tomato golden mosaic virus*) and some species reported causing the first outbreaks in tomatoes after the invasion of *B. tabaci* MEAM 1 in the country (eg. *Tomato crinkle leaf virus* and *Tomato chlorotic vein yellows virus*) were not found in our survey, suggesting that certain species may have transient epidemic cycles

with subsequent decline of their epidemiological significance, followed by extinction events under natural conditions. Restricted geographic virus distribution (endemism) was observed for *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), and *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) (highland areas of Central Brazil); *Tomato common mosaic virus* (ToCmMV) and *Tomato interveinal chlorosis virus* (ToICV) (Atlantic Coast of the Southern region of Bahia, ES, and RJ States) and *Tomato golden vein virus* (TGVV) (in continental areas in MG, SP, and GO States). One hundred and twenty-six isolates showed considerable nucleotide divergence and they may represent potential new species according to the current taxonomic criteria. *Begomovirus* species/strains reported initially in other cultivated plants and/or weeds are adapting and infecting tomatoes, but still in relatively low frequency. This collection of isolates represents an important tool for studies of evolutionary mechanisms of begomovirus, generating information useful for breeding programs designed to identify and incorporate genetic sources of large-spectrum resistance against this dynamic complex of viral species.

Keywords: begomovirus, diversity, tomato.

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L., família Solanaceae) tem sido uma importante fonte de emprego ao longo de toda sua cadeia produtiva (Melo *et al.*, 2009). O Brasil apresenta uma grande diversidade de sistemas de cultivo do tomateiro, variando desde pequenos produtores de base familiar até grandes fazendas com estrutura empresarial. A cultura do tomate para consumo *in natura* é, normalmente, conduzida de maneira fragmentária, em pequenas propriedades, em uma grande amplitude de agroecossistemas, utilizando plantas rasteiras, ou estaqueadas/tutoradas, com diferentes sistemas de condução e de manejo da cultura.

Dentre as inúmeras doenças que afetam o tomateiro, aquelas causadas por espécies do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) têm sido limitantes à produção comercial do tomateiro em diversos países (Navas-Castillo *et al.*, 2011). Perdas significativas de produção vêm sendo registradas desde as décadas 1970/1980 em diferentes regiões produtoras de tomate na Europa, Ásia e Américas (Giordano *et al.*, 2005a; Navas-Castillo *et al.*, 2011). Mais de uma centena de diferentes espécies/estirpes de begomovírus já foram relatadas infectando naturalmente o tomateiro no mundo (Fauquet *et al.*, 2008). Os sintomas típicos de infecção viral ocorrem mais nitidamente no ponteiro (parte apical) da planta e podem incluir clorose das nervuras, mosaico amarelo ou dourado, rugosidade, enrolamento das folhas e nanismo. Quando a infecção ocorre precocemente, as perdas podem ser totais. O controle químico do vírus é difícil, uma vez que a transmissão pela mosca-branca vetora é do tipo circulativa (Lapidot & Friedmann, 2002).

A ocorrência de epidemias de doenças causadas por begomovírus em tomateiro no Brasil pode ser dividida em duas fases. Até o início da década de 1990, as begomoviroses eram de ocorrência esporádica e sem importância econômica. Os primeiros relatos de infecções por begomovírus foram feitos entre as décadas de 1960 e 1970 (Flores *et al.*, 1960; Costa, 1974;



Matyis *et al.*, 1975). Muito provavelmente, os vetores presentes no país naquele período eram espécies nativas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Ordem Hemiptera, família Aleyrodidae) atualmente classificadas como “New World” (NW) (Marubayashi *et al.*, 2013; Barbosa *et al.*, 2014) e “NewWorld 2” (NW2) (Barbosa *et al.*, 2014). No entanto, na década de 1990, um complexo extremamente diverso de begomovírus emergiu no Brasil, coincidindo com a introdução e dispersão de *B. tabaci* *Middle East-Asia Minor 1* (MEAM 1 = biótipo B) (Ambrozevícius *et al.*, 2002; Blawid *et al.*, 2015). Este complexo viral tem sido devastador na produção de tomate, sendo considerado o principal fator limitante na produção dessa hortaliça no Brasil (Fernandes *et al.*, 2008). O primeiro registro formal de uma epidemia em tomateiro, de begomovírus transmitidos por *B. tabaci* MEAM 1, foi feito em 1993 em Brasília – DF (Ribeiro *et al.*, 1994). Em seguida, um novo begomovírus, denominado *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), foi caracterizado no Estado de São Paulo afetando tomateiro (Faria *et al.*, 1997; Colariccio *et al.*, 2007) e posteriormente causando “mosaico deformante da batata” no Rio Grande do Sul (Albuquerque *et al.*, 2010).

O hábito alimentar polífago e as grandes populações de *B. tabaci* MEAM 1 favoreceram sua rápida disseminação e epidemias de begomovírus passaram a ser observadas em todas as áreas produtoras de tomateiro no Brasil (Ribeiro *et al.*, 1998). Até o presente momento, doze espécies de begomovírus foram caracterizadas em tomateiro no Brasil: *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Tomato yellow spot virus* (ToYSV), *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), *Tomato common mosaic virus* (ToCmMV), *Tomato mild mosaic virus* (ToMMV), *Tomato leaf distortion virus* (ToLDV), *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato mottle leaf curl virus* (TMoLCV), *Tomato golden vein virus* (TGVV), *Tomato interveinal chlorosis virus* (ToICV) (Matyis *et al.*, 1975; Fernandes *et al.*, 2006; Calegario *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2007; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2008; Albuquerque *et al.*, 2010;

Albuquerque *et al.*, 2012). Outras potenciais novas espécies estão em processo de caracterização tais como: Tomato severe mosaic virus (ToSMV), Tomato infectious yellows virus (ToIYV), Tomato crinkle virus (ToCrV), Tomato crinkle leaf yellow virus (ToCLYV), Tomato chlorotic vein virus (ToClVV) e Tomato mild leaf curl virus (Ribeiro *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2006; Inoue-Nagata *et al.*, 2006; Cotrim *et al.*, 2007; Fauquet *et al.*, 2008). A infecção natural de tomateiro com isolados relacionados com as espécies virais *Sida mottle virus* (SiMoV) e *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV) também foi registrada em Minas Gerais e São Paulo (Calegario *et al.*, 2004; Cotrim *et al.*, 2007).

Esta estupenda variabilidade de espécies de *Begomovirus* foi catalogada após diversos trabalhos de levantamento, tanto de âmbito nacional como de âmbito regional. O primeiro grande levantamento nacional foi conduzido por Ribeiro *et al.* (2003) com o sequenciamento parcial de 23 isolados coletados entre 1994 e 1999 em diferentes regiões produtoras do Distrito Federal, do Nordeste e do Sudeste. Neste estudo, pelo menos sete novas espécies foram reportadas no país. Quatro foram de ocorrência restrita ao Sudeste e duas foram identificadas exclusivamente na região Nordeste (Ribeiro *et al.*, 2003). Um subgrupo destas sete potenciais espécies foi posteriormente caracterizado e confirmado que representavam novos vírus (Andrade *et al.*, 2006; Inoue-Nagata *et al.*, 2006; Calegario *et al.*, 2007; Cotrim *et al.*, 2007; Fauquet *et al.*, 2008). Outro importante estudo investigando a diversidade de espécies de *Begomovirus* em tomateiro foi conduzido com 138 isolados coletados entre os anos de 2004 e 2005 principalmente em tomateiro para processamento no Brasil Central (Fernandes *et al.*, 2008). Neste estudo foram identificadas seis espécies: *Tomato severe rugose virus*, *Tomato golden vein virus*, *Tomato mottle leaf curl virus*, *Tomato yellow vein streak virus* e duas potenciais novas espécies (Fernandes *et al.*, 2008). Mais recentemente foi conduzida a caracterização de 115 isolados obtidos em Paty do Alferes (RJ) coletados em 2005 e 17 isolados obtidos em Coimbra (MG) em 2007. Neste estudo, a espécie ToYVSV foi predominante no RJ,

seguida de ToCmMV e SimMV. Em Coimbra (MG), todos os nove isolados foram de ToCmMV (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008). Ao todo foram identificadas três novas espécies infectando tomateiro: ToCmMV, ToMMV e ToLDV (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008).

Neste cenário de extrema variabilidade onde eventos de recombinação e pseudo-recombinação já foram detectados (Silva *et al.*, 2014), é possível que novas espécies, ainda não caracterizadas, possam estar ocorrendo nas diferentes regiões produtoras do país. O monitoramento molecular da diversidade de begomovírus tem sido sugerido como uma estratégia preventiva, evitando o aparecimento de epidemias por variantes do patógeno ainda não caracterizadas (Polson *et al.*, 2013). O objetivo do presente trabalho foi catalogar a diversidade genética de espécies de begomovírus presentes em tradicionais regiões produtoras de tomate no Distrito Federal e em 14 estados do Brasil durante o período de 2001 a 2015. De acordo com o nosso conhecimento, o presente trabalho é o levantamento mais extensivo já reportado em termos temporais e espaciais para qualquer epidemia de begomovírus no Brasil e em outras partes do mundo. O presente capítulo representa uma considerável extensão de uma dissertação de Mestrado apresentada previamente (Fernandes, 2010).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção dos isolados**

Amostras foliares de tomateiro com suspeita de infecção por begomovírus, apresentando sintomas de clorose internerval, deformação foliar, mosaico amarelo, rugosidade e nanismo foram coletadas nas regiões Centro-oeste (Distrito Federal e Goiás), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo), Sul (Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina), Nordeste (Bahia, Ceará, Paraíba e Pernambuco) e Norte (Amazonas e Tocantins), durante os anos de 2001 a 2015. Estas amostras fazem parte da coleção de trabalho de begomovírus do Laboratório de Melhoramento Vegetal da Embrapa Hortaliças, Brasília–DF, Brasil.

## **2.2. Análise do DNA viral**

O DNA total purificado de folhas de tomateiro sintomáticas foi submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR– *polymerase chain reaction*) para confirmar a presença de begomovírus. Os pares de iniciadores universais utilizados para a amplificação foram: ‘PAL1v1978’/‘PAR1c496’ (Rojas *et al.*, 1993) ou ‘BegoAFor1’/‘BegoARev1’ (Ha *et al.*, 2006) para um segmento de do DNA-A; e ‘PBL1v2040’ e ‘PCRC1’ para um segmento do DNA-B (Rojas *et al.*, 1993). A amplificação consistiu em 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 4 minutos, anelamento dos iniciadores a 52°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 3 minutos, seguido de extensão final de 7 minutos a 72°C. Os produtos de amplificação foram analisados em géis de agarose 1% (p/v), corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta (Ambrozevicius *et al.*, 2002).

## **2.3. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação obtidos**

Os produtos de amplificação para um segmento de aproximadamente 1200 pb do DNA-A foram diretamente sequenciados utilizando o protocolo BigDye® Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit version 3.1 (Applied Biosystems), do Laboratório de Análise Genômica da Embrapa Hortaliças.

## **2.4. Comparações de sequências**

Sequências nucleotídicas do DNA-A dos begomovírus foram submetidas a uma busca no BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) para a comparação com as sequências disponíveis no banco de dados do GenBank e, posteriormente, foram analisadas para níveis de identidade para a atribuição da espécie. O alinhamento das sequências foi realizado por meio do MegAlign (DNASTAR, Lasergene, Madison, WI, USA), utilizando-se o método CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994). Como recomendado pelo grupo de estudos da família *Geminiviridae* (ICTV), a sequência completa do componente genômico DNA-A do begomovírus com

identidade nucleotídica <91%, quando comparada com todas as outras sequências, são consideradas novas espécies, enquanto aquelas <94% e ≥91% são consideradas novas estirpes de uma espécie (Brown *et al.*, 2015).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mil e cinquenta e cinco (1.055) amostras foliares de tomateiro coletadas nas principais áreas de produção com suspeita de infecção viral, se mostraram positivas para a presença de begomovírus em análises conduzidas via PCR com iniciadores universais para o DNA-A e DNA-B (**Tabela 1, Anexo 1**). Foi observado que as principais espécies de begomovírus de ocorrência no tomateiro no Brasil neste período são: ToSRV (38,3% das sequências analisadas); seguida de ToMoLCV (26,2%); TGVV (8,4%); ToCMoV (8,1%) e ToCmMV (4,7%) (**Figura 1**). Os resultados de PCR indicaram a presença exclusiva de isolados de begomovírus de genoma bipartido, não havendo ainda nenhum registro de espécies de genoma monopartido infectando o tomateiro no Brasil.

Na **região Norte**, de clima equatorial-úmido, tipo amazônico, todos os quatro isolados do Estado do Amazonas (AM) representaram espécies distintas dos begomovírus (**Tabela 1**), sendo que três isolados apresentaram níveis de identidade nucleotídica abaixo de 87% com um segmento do DNA-A da espécie de begomovírus com mais estreita identidade genética. Estes resultados sugerem que esses três isolados representam potenciais novas espécies de begomovírus, distintas daquelas reportadas infectando tomateiro ou outras hospedeiras em outras regiões do Brasil. Já no Estado do Tocantins (TO), houve a predominância da espécie ToMoLCV, onde diante das 11 sequências analisadas, oito compartilharam alta identidade nucleotídica com esta espécie (**Tabela 1**). Na **região Nordeste**, em todos os Estados que tiveram isolados analisados, observou-se a predominância quase absoluta da espécie ToMoLCV, representando 92,3% das sequências analisadas.

Na **região Sudeste**, diante do total de 345 sequências analisadas, observou-se a predominância da espécie ToSRV (41,7%), seguida de ToCMoV (21,7%) e de ToCmMV (14,5%), sendo que esta última está aparentemente endêmica, não tendo sido relatada em nenhuma outra região do país. No estado do Espírito Santo, entre as 55 sequências analisadas, a espécie predominante foi ToCmMV (78,2% dos isolados), seguida de ToSRV (10,9% dos isolados). Já no Estado de Minas Gerais, entre as 183 sequências analisadas, duas espécies mostraram-se predominantes: ToSRV e ToCMoV, ambas com 41% dos isolados. No Estado do Rio de Janeiro, entre as 35 sequências analisadas, a espécie predominante foi ToSRV (42,8% dos isolados), seguida de ToICV (28,6% dos isolados). No Estado de São Paulo, entre as 72 sequências analisadas, a espécie predominante foi ToSRV (66,7% dos isolados), seguida de ToMoLCV (27,8% dos isolados). Já na **região Sul**, foi também observada a forte predominância da espécie ToSRV, identificada em 91,8% das sequências analisadas (**Figura 2**).

A maior diversidade de espécies foi observada na **região Centro-oeste**, onde diante das 418 sequências analisadas, 38,5% compartilharam alta identidade nucleotídica com ToSRV (161 isolados); 17,7% das sequências analisadas compartilharam alta identidade nucleotídica com TGVV (74 isolados), 16,9% com ToRMV (71 isolados) e 15,8% das sequências analisadas compartilharam alta identidade nucleotídica com ToMoLCV (66 isolados) (**Figura 2**). No Distrito Federal, entre as 143 sequências analisadas, duas espécies mostraram-se predominantes: ToMoLCV e ToSRV (32,2% e 30,1% dos isolados respectivamente). A espécie TGVV, que em levantamentos anteriores aparecia como a espécie predominante no Distrito Federal (Fernandes *et al.*, 2008), neste local foi detectada em apenas quatro isolados coletados no ano de 2005. Já no Estado de Goiás, entre as 275 sequências analisadas, a espécie predominante foi ToSRV (42,9% dos isolados), seguida de TGVV (25,1% dos isolados) e de ToRMV (19,3% dos isolados) (**Tabela 1**).

As espécies ToYVSV e ToYSV, que foram anteriormente relatadas ocorrendo em diversas regiões produtoras, mostraram uma frequência baixa no presente levantamento. Entre o total de 1.055 isolados analisados, a espécie ToYVSV foi detectada em apenas 43 isolados (23 sequências do Distrito Federal; 13 sequências analisadas de Goiás; e 7 sequências de Minas Gerais), o que representa apenas 4,1% do total. Já a espécie ToYSV, foi detectada em apenas sete isolados (quatro isolados do Rio Grande do Sul; um isolado de Santa Catarina; um isolado de Tocantins; e um isolado de Minas Gerais), o que representa 0,66% do total de sequências analisadas neste levantamento. Trabalhos anteriores indicaram a estreita relação genética entre ToYSV e Leonurus mosaic virus (LeMV), indicando que esses dois vírus podem, de fato, representar o mesmo patógeno (Fernandes-Acioli *et al.*, 2014). Esse estudo também demonstrou uma elevada incidência de ToYSV/LeMV em plantas de *Leonurus sibiricus* L. ocorrendo como plantas daninhas dentro de campos de tomateiro livres da infecção por este vírus. Esses resultados sugerem que ToYSV/LeMV é um vírus predominantemente adaptado à espécie *L. sibiricus* e que o tomateiro pode, eventualmente, servir de hospedeira alternativa (Fernandes-Acioli *et al.*, 2014).

Alguns vírus descritos antes da década de 1990 e algumas espécies reportadas causando as primeiras epidemias em tomateiro no Brasil após o ingresso de *B. tabaci* MEAM 1 no país não foram encontradas em nosso levantamento, sugerindo que determinadas espécies apresentaram ciclos epidêmicos transitórios e que posteriormente perderam importância epidemiológica e muitas estando provavelmente extintas em condições naturais. Nesta situação se enquadram as espécies *Tomato golden mosaic virus* (Matyis *et al.*, 1975), *Tomato crinkle leaf yellows virus* (TCrLYV) (Galvão *et al.*, 2003), *Tomato leaf distortion virus* e *Tomato mild mosaic virus* (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008).

Os resultados do presente levantamento demonstraram que existe uma aparente regionalização ecológica das espécies de begomovírus (**Figura 2**), onde algumas espécies

encontram-se amplamente distribuídas pelo Brasil, enquanto que outras estão restritas a determinadas regiões, resultados similares aos encontrados por Rocha *et al.* (2013). Neste levantamento, foi observada uma clara regionalização ecológica/geográfica, sendo *Tomato mottle leaf curl virus* de ocorrência mais frequente em condições de clima mais quente, em baixas latitudes, e *Tomato severe rugose virus* predominante em condições de clima tropical de altitude e subtropical. Restrita distribuição geográfica (endemismo) foi observada para as espécies *Tomato yellow vein streak virus*, *Tomato rugose mosaic virus* e *Tomato chlorotic mottle virus* (Brasil Central); *Tomato common mosaic virus* e *Tomato interveinal chlorosis virus* (faixa litorânea nos Estados do ES, RJ, sul da Bahia) e *Tomato golden vein virus* (em MG, SP, GO). A natureza endêmica dessas espécies pode ser resultado de sua recente emergência ou de requerimentos epidemiológicos peculiares, ainda não plenamente caracterizados.

Plantas invasoras, incluindo algumas espécies da família das malváceas, têm sido relatadas como hospedeiras alternativas naturais de begomovírus do tomateiro em várias regiões (Calegario *et al.*, 2004; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008), podendo ainda estar associadas à emergência de novas espécies de vírus em condições naturais. No presente trabalho, alguns registros apontam isolados de espécies já descritas infectando membros da família Malvaceae, sendo alguns ainda não reportados em tomateiro. O isolado **DF-480**, coletado em 2012 no Núcleo Rural Rajadinha, em Planaltina (DF), indicou níveis de identidade de 91% com um segmento do DNA-A correspondendo a capa proteica de *Sida mosaic Alagoas virus* (SiMAIV) (número de acesso JF694472), previamente caracterizado infectando plantas de *Sida* no Estado de Alagoas (Wyant *et al.*, 2012). O isolado **BA-137**, obtido no município de Irecê (BA), em 2011, apresentou níveis de identidade de 92% com um segmento do DNA-A de *Sida yellow blotch virus* (SiYBV) (JX871380), previamente caracterizado infectando plantas de *Sida urens* em Rio Largo (AL) (Tavares *et al.*, 2012). As comparações das sequências nucleotídicas dos isolados **AM-012** (obtido no município de Silves, estado do Amazonas, em 2007), **RJ-016** e



**RJ-018** (obtidos no município de São José do Ubá, no Rio de Janeiro, em 2006) e **RJ-028** (obtido no município de Cambuci, no Rio de Janeiro, em 2010) indicaram níveis de identidade entre 96 e 98% com a sequência nucleotídica correspondente ao DNA-A do begomovírus Sida yellow net virus (SiYNV) (JX871376), previamente caracterizado infectando plantas de *S. micrantha* em Viçosa (MG) (Tavares *et al.*, 2012). Por sua vez, a espécie *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV) já foi previamente reportada infectando tomateiro em Minas Gerais e São Paulo (Calegario *et al.*, 2004; Cotrim *et al.*, 2007). Estes valores de identidade indicam que os isolados mencionados são estirpes/variantes dos respectivos vírus.

A presença de diversas espécies de begomovírus transmitidas por mosca-branca em um mesmo campo de cultivo torna comum a ocorrência de infecções mistas, onde dois ou mais vírus estão presentes na mesma planta hospedeira (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008). A presença de infecções mistas na mesma planta aumenta a probabilidade de eventos de geração de variabilidade em begomovírus, como a recombinação e/ou pseudo-recombinação entre componentes genômicos, o que pode levar ao surgimento de novas espécies mais adaptadas ao novo hospedeiro (Inoue-Nagata *et al.*, 2006; Lefeuvre & Moriones, 2015).

As análises dos resultados também indicam que existem algumas estirpes (*sensu* Brown *et al.*, 2015) que estão divergindo dos isolados das espécies originais ao ponto de representarem potenciais novas espécies. No presente trabalho, um total de 126 isolados podem representar potenciais novas espécies (**Tabela 2**). Observa-se isso especialmente em isolados dentro das espécies *Tomato severe rugose virus*, *Tomato rugose mosaic virus* e *Tomato golden vein virus* (Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2008). Além disso, estirpes de begomovírus reportadas inicialmente em plantas cultivadas e/ou plantas daninhas estão aparentemente se adaptando e infectando tomateiro, embora ainda sem grande importância epidemiológica, como indicado pelo baixo número de ocorrências no conjunto amostrado no presente trabalho. Um

subgrupo destes isolados (**AM-10**, **TO-45** e **TO-83** e **TO-167**) foi analisado mais detalhadamente e os resultados estão apresentados no **capítulo #3**.

Além de representar uma importante ferramenta para estudos adicionais de variabilidade intraespecífica e dos mecanismos evolucionários de espécies de begomovírus, esta coleção de isolados virais (que tem sido mantida pela Embrapa Hortaliças) pode ser muito útil em programas de melhoramento genético do tomateiro. A capacidade de produzir clones infectivos a partir de DNA viral mantido *in vitro* (Ferreira *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2008), torna esta coleção um arsenal de variabilidade do patógeno, tendo potencial utilização em programas de melhoramento genético desta cultura visando identificar genes e/ou conjuntos de genes que combinados apresentam espectro de ação mais amplos (Pereira-Carvalho *et al.*, 2010). Resistência de amplo espectro é uma característica imprescindível neste cenário de enorme diversidade de isolados virais.

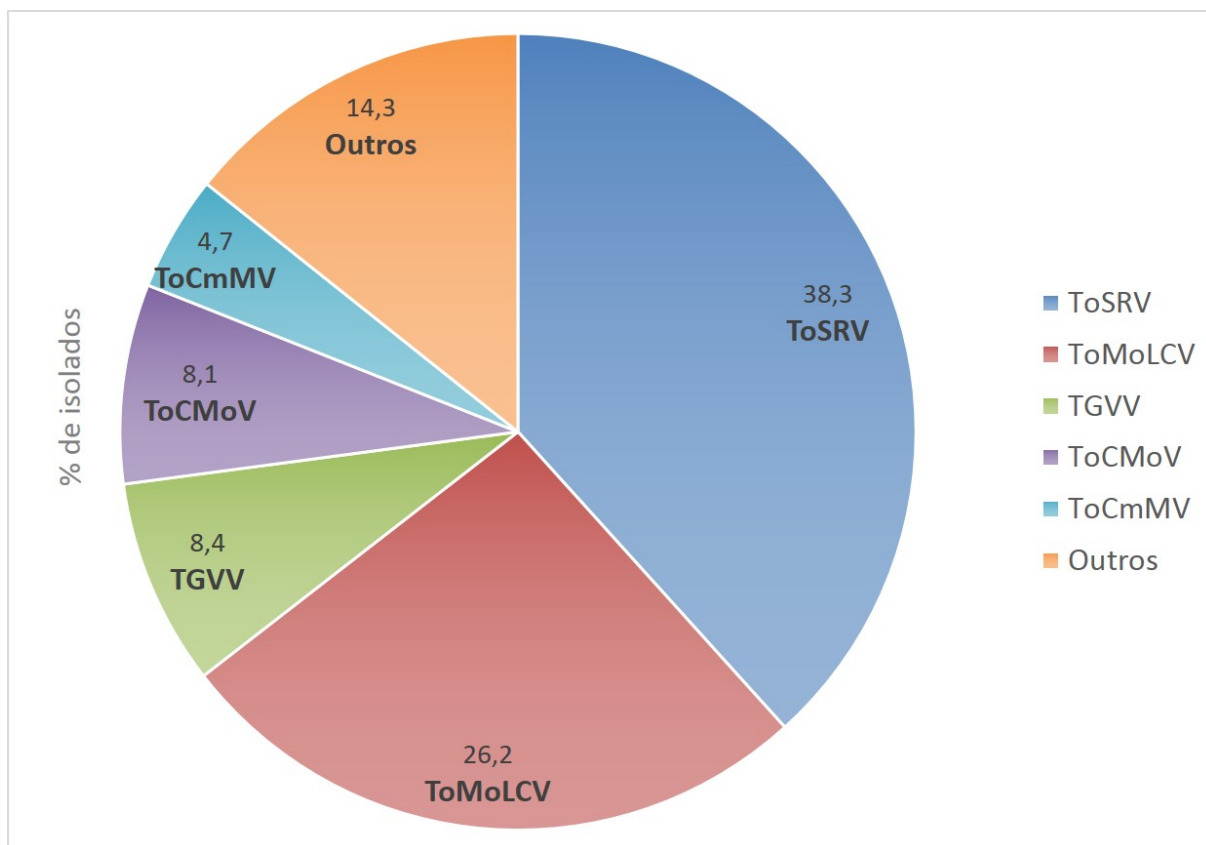
Alguns dos estudos mais abrangentes sobre a prospecção da diversidade dos begomovírus no Brasil utilizaram a combinação das técnicas de PCR (com *primers* universais) e o sequenciamento parcial do genoma desses vírus (Ribeiro *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2008). No entanto, estudos recentes têm mostrado, cada vez mais, que a sequência completa do genoma (principalmente do componente DNA-A) é necessária para a definição mais precisa da diversidade de espécies desses vírus devido à intensa recombinação de segmentos genômicos que ocorre neste grupo (Fauquet *et al.*, 2008; Lefeuvre & Moriones, 2015). De fato, dois isolados podem ser idênticos ou muito similares no segmento genômico analisado, mas representar um recombinante para as outras regiões ou em outro componente, levando a conclusões incorretas sobre o verdadeiro status taxonômico do vírus (Fauquet *et al.*, 2008). Por esta razão estudos/caracterização adicionais serão conduzidas com isolados representativos de potenciais novas espécies virais visando determinar inteiramente sua estrutura/organização genômica e elucidar pontos da biologia destes potenciais novos vírus incluindo: círculo de

plantas hospedeiras, expressão de sintomas e a interação com os principais loci de resistência a begomovírus reportados no tomateiro (Giordano *et al.*, 2005b; Boiteux *et al.*, 2007; García-Cano *et al.*, 2008).

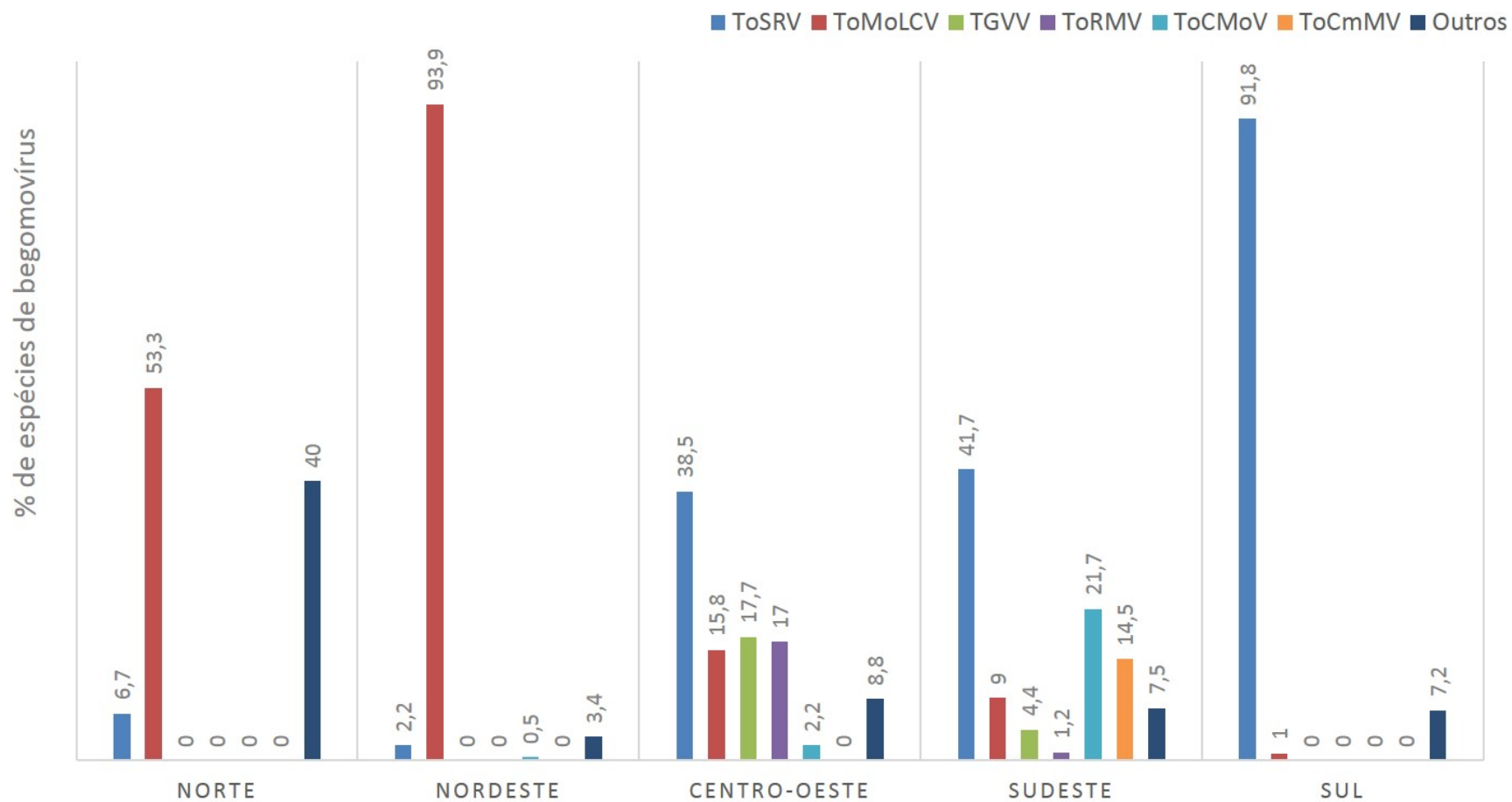
**Tabela 1** – Resumo geral da diversidade de 1.055 isolados e sua catalogação em termos de espécies, variantes de sequências e estirpes de begomovírus de tomateiro identificados nas principais regiões produtoras do Brasil (cinco regiões, 14 Estados e o Distrito Federal).

Região/ Estado	Nº de isolados caracterizados	Espécies virais identificadas e/ou geneticamente mais próximas	Nº de isolados de cada espécie por estado	BLAST <sub>n</sub> (%)
<b>REGIÃO NORTE</b>				
Amazonas (AM)	04	1. <i>Tomato yellow leaf distortion virus</i>	01	79
		2. <i>Chino del tomate virus</i>	01	87
		3. <i>Sida yellow net virus</i>	01	96
		4. <i>Sida yellow mosaic Yucatan virus</i>	01	85
Tocantins (TO)	11	1. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	08	82-95
		2. <i>Tomato yellow spot virus</i>	01	81
		3. Tobacco leaf rugose virus	01	82
		4. <i>Tomato severe rugose virus</i>	01	99
<b>REGIÃO NORDESTE</b>				
Bahia (BA)	90	1. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	84	88-99
		2. <i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	03	85-97
		3. <i>Sida yellow blotch virus</i>	01	92
		4. <i>Tomato severe rugose virus</i>	01	97
		5. <i>Macrotidium yellow net virus</i>	01	85
Ceará (CE)	38	1. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	35	87-97
		2. <i>Tomato severe rugose virus</i>	01	98
		3. <i>Rhynchosia rugose golden mosaic virus</i>	01	83
		4. <i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	01	82
Paraíba (PB)	06	1. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	06	86-95
Pernambuco (PE)	45	1. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	43	86-98
		2. <i>Tomato severe rugose virus</i>	02	99
<b>REGIÃO SUDESTE</b>				
Espírito Santo (ES)	55	1. <i>Tomato common mosaic virus</i>	45	83-99
		2. <i>Tomato severe rugose virus</i>	06	97-99
		3. <i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	04	90-95
		4. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	01	99
Minas Gerais (MG)	183	1. <i>Tomato severe rugose virus</i>	75	91-99
		2. <i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	75	88-99
		3. <i>Tomato golden vein virus</i>	11	90-99
		4. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	09	85-99
		5. <i>Tomato yellow vein streak virus</i>	07	90-98
		6. <i>Tomato rugose mosaic virus</i>	04	92-97
		7. <i>Tomato yellow spot virus</i>	01	98
		8. <i>Sida mosaic Alagoas virus</i>	01	85

<b>Rio de Janeiro (RJ)</b>	35	1. <i>Tomato severe rugose virus</i>	15	99
		2. <i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	10	90-94
		3. <i>Tomato common mosaic virus</i>	06	92-99
		4. <i>Sida yellow net virus</i>	03	97-98
		5. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	01	96
<b>São Paulo (SP)</b>	72	1. <i>Tomato severe rugose virus</i>	48	88-99
		2. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	20	87-99
		3. <i>Tomato golden vein virus</i>	04	91-95
<b>REGIÃO CENTRO-OESTE</b>				
<b>Distrito Federal (DF)</b>	143	1. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	46	90-99
		2. <i>Tomato severe rugose virus</i>	43	86-99
		3. <i>Tomato rugose mosaic virus</i>	18	87-99
		4. <i>Tomato yellow vein streak virus</i>	23	85-91
		5. <i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	07	90-98
		2. <i>Tomato golden vein virus</i>	05	93,96
6. <i>Sida mosaic Alagoas virus</i>	01	91		
<b>Goiás (GO)</b>	275	1. <i>Tomato severe rugose virus</i>	118	87-99
		2. <i>Tomato golden vein virus</i>	69	88-99
		3. <i>Tomato rugose mosaic virus</i>	53	86-99
		4. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	20	85-99
		5. <i>Tomato yellow vein streak virus</i>	13	82-99
		6. <i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	02	87-91
<b>REGIÃO SUL</b>				
<b>Paraná (PR)</b>	34	1. <i>Tomato severe rugose virus</i>	33	92-99
		2. <i>Centrosema yellow spot virus</i>	01	91
<b>Rio Grande do Sul (RS)</b>	30	1. <i>Tomato severe rugose virus</i>	24	98-99
		2. <i>Tomato yellow spot virus</i>	04	95-98
		3. <i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i>	01	94
		4. <i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	01	96
<b>Santa Catarina (SC)</b>	34	1. <i>Tomato severe rugose virus</i>	33	98-99
		2. <i>Tomato yellow spot virus</i>	01	90



**Figura 1** – Porcentagem das respectivas espécies de begomovírus encontradas em 1.055 isolados obtidos a partir de amostras foliares de tomateiro coletados em diferentes regiões geográficas do Brasil. ToSRV, *Tomato severe rugose virus*; ToMoLCV, *Tomato mottle leaf curl virus*; TGVV, *Tomato golden vein virus*; ToCMoV, *Tomato chlorotic mottle virus*; e ToCmMV, *Tomato common mosaic virus*.



**Figura 2** – Distribuição e porcentagem de espécies de begomovírus em amostras foliares de tomateiro por região. ToSRV, *Tomato severe rugose virus*; ToMoLCV, *Tomato mottle leaf curl virus*; TGVV, *Tomato golden vein virus*; ToCMoV, *Tomato chlorotic mottle virus*; e ToCmMV, *Tomato common mosaic virus*.

**Tabela 2** – Isolado, local e data da coleta, espécie viral, porcentagem de identidade Blastn e número de acesso dos 126 isolados de begomovírus do tomateiro que podem representar potenciais novas espécies de acordo com critérios de demarcação propostos por Brown *et al.* (2015).

Isolado	Local da coleta	Data	Espécie Viral	Blastn	Acesso
AM10	Silves – AM	11/10	<i>Chino del tomate virus</i>	87.1%	DQ885456
AM11	Silves – AM	11/10	<i>Tomato yellow leaf distortion virus</i>	79.0%	FJ174698
AM-013	Silves – AM	11/10	<i>Sida yellow mosaic Yucatan virus</i>	85.8%	DQ875872
TO-026	Colméia – TO	12/05	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.4%	JF803249
TO-045	Gurupi – TO	08/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	82,5%	JF803250
TO-046	Gurupi – TO	08/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	83.0%	KC706616
TO-083	Araguaina – TO	07/08	<i>Tomato yellow spot virus</i>	81.8%	KJ742419
TO-167	Araguaina – TO	08/08	<i>Tobacco leaf rugose virus</i>	82,5%	AJ488768
BA-100	Jaguaquara – BA	03/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	88.4%	KC706616
BA-143	Irecê – BA	04/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.6%	JF803251
BA-155	Irecê – BA	07/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803251
BA-164	Irecê – BA	07/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803251
BA-166	Juazeiro – BA	09/12	<i>Macroptilium yellow net virus</i>	85.0%	JN418998
BA-167	Juazeiro – BA	09/12	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	85.3%	JF803253
CE-023	Croatá – CE	05/02	<i>Tomato yellow leaf distortion virus</i>	82.3%	EU086591
CE-031	Ibiapina – CE	02/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.3%	KC706616
CE-041	Ibiapina – CE	02/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.4%	JF803251
CE-042	Ibiapina – CE	02/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.0%	KC706616
CE-046	G. do Norte – CE	03/10	<i>Rhynchosia rugose golden mosaic virus</i>	82.9%	HM236370
CE-053	Ubajara – CE	12/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803249
CE-055	Ubajara – CE	12/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.7%	JF803249
CE-057	São Benedito – CE	12/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.4%	JF803248
PB-003	S. S. Umbuzeiro – PB	11/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.8%	JF803250
PB-008	S. S. Umbuzeiro – PB	11/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.6%	JF803250
PB-019	S. S. Umbuzeiro – PB	11/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.9%	JF803250
PE-012	Pesqueira – PE	01/09	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.4%	JF803250
PE-031	Petrolina – PE	05/05	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.9%	JF803251
PE-046	Pesqueira – PE	10/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.5%	JF803250
PE-048	Pesqueira – PE	10/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.3%	JF803250
PE-049	Pesqueira – PE	10/10	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.6%	JF803250
DF-023	Ponte Alta – DF	03/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.5%	AF291705
DF-024	Ponte Alta – DF	03/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.5%	AF291705
DF-027	Ponte Alta – DF	03/03	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	89.3%	EF459696
DF-028	Ponte Alta – DF	03/03	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	88.1%	KC706645
DF-044	Lago Azul – DF	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	87.7%	AF291705
DF-046	Lago Azul – DF	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	86.7%	AF291705
DF-048	Ponte Alta – DF	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.7%	AF291705
DF-050	Ponte Alta – DF	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	87.3%	AF291705
DF-167	N. Rural S. José – DF	05/05	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	87.0%	KC706642
DF-169	N. Rural S. José – DF	05/05	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.0%	JX865645
DF-209	Taquara – DF	04/05	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.0%	JF803256
DF-216	Taquara – DF	04/05	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	89.0%	KC706653
DF-227	Planaltina – DF	06/07	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	85.0%	KC706653
DF-449	Ponte Alta – DF	12/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.2%	KC706616
DF-450	Ponte Alta – DF	12/11	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.3%	KC706616
DF-529	Sobradinho – DF	04/13	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.2%	FJ824808
DF-550	Pipiripau – DF	05/13	<i>Tomato severe rugose virus</i>	86.2%	FJ824808
DF-556	Tabatinga – DF	05/13	<i>Tomato severe rugose virus</i>	86.8%	JF803261



GO-004	Inhumas – GO	08/02	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	80.5%	KC706635
GO-109	Goianápolis – GO	04/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	85.1%	JF803254
GO-121	Goianápolis – GO	04/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.6%	AF291705
GO-123	Goianápolis – GO	04/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.8%	AF291705
GO-127	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.2%	JF803254
GO-130	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.3%	JF803254
GO-132	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.6%	AF291705
GO-134	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.1%	JF803254
GO-136	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.8%	JF803254
GO-137	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.6%	JF803254
GO-138	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.3%	JF803254
GO-142	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.3%	AF291705
GO-144	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.9%	JF803254
GO-145	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.1%	AF291705
GO-148	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	88.5%	KC706646
GO-149	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	88.6%	KC706653
GO-157	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.0%	AF291705
GO-164	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.0%	JF803254
GO-168	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	86.3%	AF291705
GO-169	L. Bulhões – GO	05/03	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	82.9%	KC706653
GO-188	Goianápolis – GO	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	87.7%	AF291705
GO-191	Goianápolis – GO	05/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	87.0%	AF291705
GO-218	Morrinhos – GO	08/03	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	89.4%	KC706653
GO-221	Morrinhos – GO	08/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.9%	JF803254
GO-232	Itaberaí – GO	08/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	87.0%	JF803254
GO-245	Goianápolis – GO	09/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.6%	AF291705
GO-247	Goianápolis – GO	09/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.2%	JF803254
GO-249	Goianápolis – GO	09/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.0%	JF803254
GO-250	Goianápolis – GO	09/03	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.9%	AF291705
GO-251	Goianápolis – GO	09/03	<i>Tomato golden vein virus</i>	87.7%	JF803254
GO-301	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.4%	AF291705
GO-308	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.7%	AF291705
GO-310	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.4%	AF291705
GO-320	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.0%	JF803254
GO-322	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.4%	JF803254
GO-324	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	90.2%	KC706646
GO-325	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.7%	JF803254
GO-326	L. Bulhões – GO	11/04	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.6%	JF803262
GO-356	Goiânia – GO	07/06	<i>Tomato severe rugose virus</i>	87.5%	KC004077
GO-361	Goiânia – GO	04/06	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.2%	JF803254
GO-384	Itaberaí – GO	07/06	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.0%	JF803248
GO-390	Itaberaí – GO	07/06	<i>Tomato severe rugose virus</i>	81.0%	KC706620
GO-393	Itaberaí – GO	06/06	<i>Tomato severe rugose virus</i>	87.9%	KC706620
GO-482	Goianápolis – GO	06/10	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.1%	JX415196
GO-487	Goianápolis – GO	06/10	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.6%	JF803254
GO-488	Goianápolis – GO	06/10	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.7%	JF803254
GO-490	Goianápolis – GO	06/10	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.8%	JF803254
GO-493	Goiânia – GO	05/11	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.1%	FJ824808
GO-505	Ap. de Goiânia – GO	05/12	<i>Tomato severe rugose virus</i>	87.3%	FJ824808
GO-511	Goiânia – GO	09/12	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.0%	KC706616
GO-550	Hidrolândia – GO	05/13	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.3%	FJ824808
GO-582	Goianápolis – GO	11/13	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.9%	JX415196
GO-583	Goianápolis – GO	11/13	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.0%	JF803254
GO-594	Nova Fátima – GO	07/15	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	85.0%	KC706615
ES-051	Santa Tereza – ES	09/12	<i>Tomato common mosaic virus</i>	83.2%	KC706589
ES-132	V. N. Imigrante – ES	06/15	<i>Tomato common mosaic virus</i>	90.0%	KC706589
MG-046	Araguari – MG	09/01	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	90.0%	AF291705
MG-015	Serra Negra – MG	10/02	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	90.2%	KC706653

MG-029	Cascalho Rico – MG	10/02	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.6%	JF803259
MG-283	Serra Azul – MG	10/10	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	89.0%	KC706560
MG-284	Serra Azul – MG	10/10	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	88.0%	KC706560
MG-285	Serra Azul – MG	10/10	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.0%	KC004085
MG-286	Serra Azul – MG	10/10	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.0%	KC004085
MG-378	Itacarambi – MG	06/15	Sida mosaic Alagoas virus	85.0%	JF694472
MG-383	Pimenta – MG	09/15	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.0%	KC706616
MG-387	Pimenta – MG	09/15	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	85.0%	KC706616
RJ-003	Paty do Alferes – RJ	07/06	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	90.3%	JF803252
SP-066	Sumaré – SP	11/01	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	88.1%	JF803249
SP-031	Piracicaba – SP	02/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.8%	JF803250
SP-033	Piracicaba – SP	02/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.7%	JF803249
SP-037	Piracicaba – SP	02/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.3%	JF803249
SP-054	Piracicaba – SP	02/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.5%	JF803249
SP-056	Piracicaba – SP	02/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.1%	JF803249
SP-058	Piracicaba – SP	02/08	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803249
SP-087	Capão Bonito – SP	05/11	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.9%	HQ606467
SP-124	Sumaré – SP	11/11	<i>Tomato severe rugose virus</i>	88.0%	HQ606467
SP-166	S. A. da Posse – SP	11/15	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.0%	KC706616
SC-034	Caçador – SC	03/10	<i>Tomato yellow spot virus</i>	89.8%	JX513952

#### 4. LITERATURA CITADA

- ALBUQUERQUE, L.C.; MARTIN, D.P.; AVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2010. Characterization of Tomato yellow vein streak virus, a begomovirus from Brazil. *Virus Genes* 40:140–147.
- ALBUQUERQUE, L.C.; VARSANI, A.; FERNANDES, F.R.; PINHEIRO, B.; MARTIN, D.P.; FERREIRA, P.T.O.; LEMOS, T.O. & INOUE-NAGATA, A.K. 2012. Further characterization of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 157:747–752.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W. & LIPMAN, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403–410.
- AMBROZEVICIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G. & ZERBINI, F.M. 2002. Genetic diversity of *Begomovirus* infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:372–377.
- ANDRADE, E.C.; MANHANI, G.G.; ALFENAS, P.F.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B. & ZERBINI, F.M. 2006. Tomato yellow spot virus, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. *Journal of General Virology* 87:3687–3696.
- BARBOSA, L.F.; MARUBAYASHI, J.M.; MARCHI, B.R.; YUKI, V.A.; PAVAN, M.A.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. & KRAUSE-SAKATE, R. 2014. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. *Pest Management Science* 70:1440–1445.
- BLAWID, R.; MORGADO, F. S.; SOUZA, C. A.; RESENDE, R. O.; BOITEUX, L. S. & PEREIRA-CARVALHO, R. C. 2015. Fluorescence in situ hybridization analysis of

- endosymbiont genera reveals novel infection patterns in a tomato-infesting *Bemisia tabaci* population from Brazil. *Tropical Plant Pathology* 40:233–243.
- BOITEUX, L.S.; OLIVEIRA, V.R.; SILVA, C.H.; MAKISHIMA, N.; INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N. & GIORDANO, L.B. 2007. Reaction of tomato hybrids carrying the *Ty-1* locus to Brazilian bipartite *Begomovirus* species. *Horticultura Brasileira* 25:20–23.
- BROWN, J.K.; ZERBINI, F.M.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; RAMOS-SOBRINHO, R.; SILVA, J.C.F.; FIALLO-OLIVE, E.; BRIDDON, R.W.; HERNANDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; MALATHI, V.G.; MARTIN, D.P.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; UEDA, S. & VARSANI, A. 2015. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593–1619.
- CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C. & ZERBINI, F.M. 2004. Caracterização de um isolado do *Begomovirus Sida micrantha virus* (SimMV) obtido de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 29:150.
- CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C. & ZERBINI, F.M. 2007. Characterization of Tomato yellow spot virus, a novel tomato-infecting begomovirus in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42:1335–1343.
- CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JR., J.E.A.; BRUCKNER, F.P.; LIMA, A.T.M.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P. & ZERBINI, F.M. 2008. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Archives of Virology* 153:1985–1989.
- COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A.L.R.; BERGMANN, J.C.; ZERBINI, F.M.; HARAKAVA, R. & CHAGAS, C.M. 2007. *Tomato yellow vein streak virus*, a new

- Begomovirus* on tomato from Brazil: Complete DNA-A sequence and some molecular and biological features. *Journal of Plant Pathology* 89:385–390.
- COSTA, A.S. 1974. Moléstias do tomateiro no Brasil transmitidas pela mosca-branca *Bemisia tabaci*. *Fitopatologia* 9:47.
- COTRIM, A.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; NARITA, N.; ZERBINI, F.M. & PAVAN, M.A. 2007. Diversidade genética de begomovírus em cultivos de tomateiro no Centro-oeste Paulista. *Summa Phytopathologica* 33:300–303.
- FARIA, J.C.; SOUZA-DIAS, J.A.C.; SLACK, S.A. & MAXWELL, D.P. 1997. A New Geminivirus Associated with Tomato in the State of São Paulo, Brazil. *Plant Disease* 81:423.
- FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, M. & ZHOU, X. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology* 153:783–821.
- FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; AVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite *Begomovirus* species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251–258.
- FERNANDES, J.J.; CARVALHO, M.G.; ANDRADE, E.C.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; FONTES, E.P.B. & ZERBINI, F.M. 2006. Biological and molecular properties of *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. *Plant Pathology* 55:513–522.
- FERNANDES, N.A.N. 2010. Variabilidade genômica e geográfica de espécies de begomovírus em tomateiro e em dois gêneros de plantas daninhas no Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil.

- FERNANDES-ACIOLI, N.A.N.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; SEGNANA, L.R.G. & KITAJIMA, E.W. 2014. Report of Tomato yellow spot virus Infecting *Leonurus sibiricus* in Paraguay and Within Tomato Fields in Brazil. *Plant Disease* 98:1445.
- FERREIRA, P.T.; LEMOS, T.O.; NAGATA, T. & INOUE-NAGATA, A.K. 2008. One-step cloning approach for construction of agroinfectious begomovirus clones. *Journal of Virological Methods* 147:351–354.
- FLORES, E.; SILBERSCHMIDT, K. & KRAMER, M. 1960. Observações de “clorose infecciosa” das malváceas em tomateiros do campo. *O Biológico* 26:65–69.
- GALVÃO, R.M.; MARIANO, A.C.; LUZ, D.F.; ALFENAS, P.F.; ANDRADE, E.C.; ZERBINI, F.M.; ALMEIDA, M.R. & FONTES, E.P.B. 2003. A naturally occurring recombinant DNA-A of a typical bipartite begomovirus does not require the cognate DNA-B to infect *Nicotiana benthamiana* systemically. *Journal of General Virology* 84:715–726.
- GARCÍA-CANO, E.; RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B.; 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, L.B.; FONSECA, M.E.N.; SILVA, J.B.C.; INOUE-NAGATA, A.K. & BOITEUX, L.S. 2005a. Efeito da infecção precoce por *Begomovirus* com genoma bipartido em características de frutos de tomate industrial. *Horticultura Brasileira* 23:815–818.
- GIORDANO, L.B.; SILVA-LOBO, V.L.; SANTANA, F.M.; FONSECA, M.E.N. & BOITEUX, L.S. 2005b. Inheritance of resistance to bipartite *Tomato chlorotic mottle begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv. ‘Tyking’. *Euphytica* 143:27–33.

- 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.
- INOUE-NAGATA, A.K.; MARTIN, D.P.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B.; BEZERRA, I.C. & ÁVILA, A.C. 2006. New species emergence via recombination among isolates of the Brazilian tomato infecting *Begomovirus* complex. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41:1329–1332.
- LAPIDOT, M. & FRIEDMANN, M. 2002. Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. *Annals of Applied Biology* 140:109–127.
- LEFEUVRE, P. & MORIONES, E. 2015. Recombination as a motor of host switches and virus emergence: Geminiviruses as case studies. *Current Opinion in Virology* 10:14–19.
- MATYIS, J.C.; SILVA, D.M.; OLIVEIRA, A.A.R. & COSTA, A.S. 1975. Purificação e morfologia do vírus do mosaico dourado do tomateiro. *Summa Phytopathologica* 1:267–274.
- MARUBAYASHI, J.M.; YUKI, V.A.; ROCHA, K.C.G.; MITUTI, T.; PELEGRINOTTI, F.M.; FERREIRA, F.Z.; MOURA, M. F.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; PAVAN, M.A. & KRAUSE-SAKATE, R. 2013. At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 137:113–121.
- MELO, P.C.T.; MELO, A.M.T. & BOITEUX, L.S. 2009. Overview and perspectives of tomato breeding for fresh market adapted to mild tropical climates of Brazil. *Acta Horticulturae* 821:55–62.
- NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVE, E. & SANCHEZ-CAMPOS, S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219–248.
- PEREIRA-CARVALHO, R.C.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; DÍAZ-PENDÓN, J.A.; MORIONES, E.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; CHARCHAR, J.M. & RESENDE, R.O.

2010. Multiple resistance to *Meloidogyne* spp. and to bipartite and monopartite *Begomovirus* spp. in wild *Solanum* (*Lycopersicon*) accessions. *Plant Disease* 94:179–185.
- POLSTON, J. E.; ROSARIO, K. & BREITBART, M. 2013. Molecular surveillance of Plant Viruses: Identification of New and Emerging Viruses of Tomato before they cause epidemics. *Acta horticulturae* 1069:127-131.
- RIBEIRO, S.G.; MELO, L.V.; BOITEUX, L.S.; KITAJIMA, E.W. & FARIA, J.C. 1994. Tomato infection by a geminivirus in the Federal District, Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 19:330.
- RIBEIRO, S.G.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; FERNANDES, J.J.; FARIA, J.C.; LIMA, M.F.; GILBERTSON, R.L.; ZAMBOLIM, E.M. & ZERBINI, F.M. 1998. Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. *Plant Disease* 82:830.
- RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVÍCIUS, L.P.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H. & ZERBINI, F.M. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 148:281–295.
- RIBEIRO, S.G.; MARTIN, D.P.; LACORTE, C.; SIMÕES, I.C.; ORLANDINI, D.R.S. & INOUE-NAGATA, A.K. 2007. Molecular and biological characterization of *Tomato chlorotic mottle virus* suggests that recombination underlies the evolution and diversity of Brazilian tomato begomoviruses. *Phytopathology* 97:702–711.
- ROCHA, C.S.; CASTILLO-URQUIZA, G.P.; LIMA, A.T.M.; SILVA, F.N.; XAVIER, C.A.D.; HORA-JÚNIOR, B.T.; BESERRA-JÚNIOR, J.E.A.; MALTA, A.W.O.; MARTIN, D.P.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; MIZUBUTI, E.S.G. & ZERBINI, F.M. 2013. Brazilian begomovirus populations are highly recombinant,



- rapidly evolving, and segregated based on geographical location. *Journal of Virology* 87:5784–5799.
- ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSEL, D.R. & MAXWELL, D. 1993. Use of degenerated primers in the Polymerase Chain Reaction to detect whitefly-transmitted Geminiviruses. *Plant Disease* 77:340–347.
- SILVA, F.N.; LIMA, A.T.; ROCHA, C.S.; CASTILLO-URQUIZA, G.P.; ALVES-JÚNIOR, M. & ZERBINI, F.M. 2014. Recombination and pseudorecombination driving the evolution of the begomoviruses Tomato severe rugose virus (ToSRV) and Tomato rugose mosaic virus (ToRMV): Two recombinant DNA-A components sharing the same DNA-B. *Virology Journal* 11:1–11.
- TAVARES, S.S., RAMOS-SOBRINHO, R., GONZÁLEZ-AGUILERA, J., LIMA, G.S.A., ASSUNÇÃO, I.P., ZERBINI, F.M. 2012. Further molecular characterization of weed-associated begomoviruses in Brazil with an emphasis on *Sida* spp. *Planta Daninha* 30: 305–315.
- THOMPSON, J.D., HIGGINS, D.G. & GIBSON, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673–4680.
- WYANT, P.S., STROHMEIER, S., SCHAFFER, B., KRENZ, B., ASSUNÇÃO, I.P., LIMA, G.S.D., JESKE, H. 2012. Circular DNA genomics (circomics) exemplified for geminiviruses in bean crops and weeds of northeastern Brazil. *Virology* 427: 151–157.
- WU, C.Y., LAI, Y.C., LIN, N.S., HSU, Y.H., TSAI, H.T., LIAO, J.Y., HU, C.C. 2008. A simplified method of constructing infectious clones of begomovirus employing limited restriction enzyme digestion of products of rolling circle amplification. *Journal of Virological Methods* 147:355–359.

# CAPÍTULO 3

---

---

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E ANÁLISE FILOGENÉTICA DE  
NOVAS ESPÉCIES DE BEGOMOVÍRUS INFECTANDO O  
TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum* L.) DE MANEIRA  
ENDÊMICA NA REGIÃO NORTE DO BRASIL**

**Caracterização molecular e análise filogenética de novas espécies de begomovírus infectando o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) de maneira endêmica na região Norte do Brasil.**

**RESUMO**

Um complexo com mais de uma dezena de espécies do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) foi identificado infectando o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no Brasil após a invasão da mosca-branca *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM 1 = biótipo B). Amostras foliares foram coletadas de plantas exibindo sintomas típicos de infecção por begomovírus em levantamentos feitos em 2007/2008, em áreas produtoras de tomate para consumo *in natura* nos Estados do Amazonas (AM) e Tocantins (TO), na região Norte do Brasil. A infecção foi confirmada por amplificação via PCR de um fragmento do DNA-A viral com iniciadores universais. O genoma completo do componente DNA-A destes isolados foi sequenciado via *primer walking*. As características do genoma indicam que todos os isolados são típicos begomovírus bipartidos do Novo Mundo e apresentaram identidade nucleotídica inferior a 91%, quando comparados com sequências de outras espécies de begomovírus, reforçando o *status* de novas espécies virais. A análise da sequência completa (2.615 pb) do componente genômico DNA-A do isolado **AM-10** (denominado de Chino del tomate Amazonas virus – CdTAV) coletado em Silves (AM), localizado na região da Floresta Tropical Úmida da Amazônia brasileira, indicou uma relação filogenética mais estreita com espécies virais do Caribe e América Central. A sequência completa do DNA-A do isolado **TO-045** (2.630 pb), coletado em Gurupi (TO), apresentou identidade máxima de nucleotídeos (82%) com o componente DNA-A do *Tomato mottle leaf curl virus* (ToMoLCV), uma espécie que se encontra amplamente distribuída em áreas de clima quente do Nordeste e região Central do Brasil. O nome proposto para essa nova espécie é Tomato golden leaf distortion virus

(ToGLDV). A sequência completa do componente DNA-A (2.669 pb) do isolado **TO-83** (coletado em Araguaína–TO) apresentou identidade máxima de nucleotídeos (82%) com o componente DNA-A da espécie *Tomato yellow spot virus*. O nome Tomato golden leaf spot virus (ToGLSV), é proposto para esta nova espécie. A sequência completa do componente DNA-A (2.639 pb) do isolado denominado **TO-167** (coletado em Araguaína–TO) apresentou identidade máxima de nucleotídeos (82%) com o componente DNA-A de *Tobacco leaf rugose virus*, previamente caracterizado infectando plantas de fumo em Cuba. O nome Tomato bright yellow mottle virus (ToBYMoV) é proposto para esta nova espécie. Desta forma, o presente trabalho indica um panorama ainda mais complexo em termos da diversidade de espécies de begomovírus capazes de infectar o tomateiro no Brasil e indica a emergência de espécies endêmicas nas diferentes regiões agroecológicas no país. A persistência destas espécies virais como importantes patógenos do tomateiro nessas regiões ainda deve ser monitorada.

**Palavras-chave:** begomovírus, diversidade, tomate.

## **Molecular characterization and phylogenetic analysis of novel tomato-infecting begomovirus species endemic to the North Region of Brazil.**

### **ABSTRACT**

A complex with more than a dozen tomato-infecting (*Solanum lycopersicum* L.) *Begomovirus* species (Geminiviridae family) was characterized in Brazil after the invasion of the whitefly *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM 1 = biotype B). In a field survey carried out in tomato producing areas in northern Brazil, four putatively new viral species (apparently endemic to that region) were characterized. Tomato samples, displaying typical symptoms of begomovirus infection, were collected in 2007/2008 in fresh market tomato-producing regions in the States of Amazonas (AM) and Tocantins (TO). The infection was initially confirmed via PCR by amplifying DNA-A genome segments with universal begomovirus primers. The complete genome of the DNA-A component was obtained for four selected isolates through primer walking strategy. Genomic analyses indicated that all isolates display typical features of bipartite New World begomoviruses and nucleotide identity below the species-demarcation threshold of 91% when compared with described species, reinforcing their status as new virus species. Complete sequence analysis (2,615 bp) of the genomic DNA component of the isolate **AM-10** (from Silves – AM, located at the Amazon River Basin) indicated a closer phylogenetic relationship with viral species of the Caribbean and Central America. This new virus was tentatively named as Chino del tomate Amazonas virus (CdTAV). The complete DNA-A sequence (2,630 bp), of the isolate **TO-045** (collected in Gurupi–TO) indicated a maximum nucleotide identity (82%) with the DNA component of the *Tomato mottle leaf curl virus* (ToMoLCV), a viral species that is widely distributed in warm areas of Northeast and Central Brazil. The name proposed for TO-045 was Tomato golden leaf distortion virus (ToGLDV). The complete sequence of DNA-A component (2,669 bp) of the isolate **TO-83** (collected in

Araguaína–TO) displayed maximum nucleotide identity of 82% with the DNA-A component of the species *Tomato yellow spot virus*. The name Tomato golden leaf spot virus (ToGLSV) is proposed for this new species. The complete DNA-A component sequence (2,639 bp) of the isolate **TO-167** (collected in Araguaína–TO) displayed maximum nucleotide identity (82%) with the DNA-A component of *Tobacco leaf rugose virus*, previously characterized infecting tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.) in Cuba. The name Tomato bright yellow mottle virus (ToBYMoV) is proposed for this new species. Therefore, the present work indicates an even more complex panorama in terms of tomato-infecting begomovirus species diversity in Brazil and indicates the emergence of endemic species in different agroecological regions of the country. The natural persistence of these viral species as major tomato pathogens in these areas remains to be determined.

**Key-words:** begomovirus, diversity, tomato.

## 1. INTRODUÇÃO

A família *Geminiviridae* engloba um grande e diversificado grupo de vírus fitopatogênicos que apresentam como principal característica a presença de genoma com DNA circular de fita simples (ssDNA) encapsidado em partículas geminadas quasi-isométricas (Rojas *et al.*, 2005; Briddon *et al.*, 2010). Sete gêneros são atualmente reconhecidos dentro da família *Geminiviridae*: *Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Curtovirus*, *Becurtovirus*, *Turncurtovirus*, *Eragrovirus* e *Begomovirus*. Esses gêneros são classificados com base na estrutura do genoma, gama de hospedeiros, tipo de inseto vetor e relações filogenéticas (Brown *et al.*, 2012; Hernández-Zepeda *et al.*, 2013). O gênero *Begomovirus* é o mais importante da família tanto em número de espécies como pelos danos econômicos causados pelas diferentes espécies virais que o compõe (Brown *et al.*, 2015).

Os begomovírus são transmitidos por distintas espécies crípticas do complexo *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera, família Aleyrodidae). Esses patógenos estão amplamente distribuídos, infectando plantas cultivadas e nativas em regiões tropicais e subtropicais (Seal *et al.*, 2006; Patil & Fauquet, 2009). O genoma de espécies do gênero *Begomovirus* é composto por um (monopartido) ou dois (bipartido) componentes (Stanley *et al.*, 2005). A maioria dos begomovírus do Novo Mundo apresenta genomas bipartidos, que consistem em dois componentes genômicos encapsidados separadamente (DNA-A e DNA-B), com  $\approx 2,6$  kb cada (Brown *et al.*, 2012). Estes componentes não compartilham uma significativa identidade de nucleotídeos, exceto por uma região comum (RC), de cerca de 200 bases (Lazarowitz, 1992). A RC contém sequências que são essenciais para a replicação e transcrição do genoma bipartido (Fontes *et al.*, 1994). Os genes presentes no DNA-A codificam as proteínas requeridas para a formação do capsídeo viral (CP), replicação viral (Rep) e potencialização da replicação (REN), regulação da expressão gênica (TrAP) e proteína AC4 (Gutierrez, 2000; Hanley-Bowdoin *et al.*, 2004), que pode estar envolvida na supressão do silenciamento gênico pós-transcricional

(PTGS) em plantas hospedeiras (Vanitharani *et al.*, 2004). Por outro lado, o DNA-B codifica duas proteínas, MP e NSP, envolvidas no movimento viral (Noueiry *et al.*, 1994). Em alguns casos, entre os begomovírus bipartidos do Velho Mundo (Hemisfério Leste, Europa, África e Ásia), apenas o DNA-A é suficiente para promover a infecção sistêmica e a circulação viral, enquanto que o componente DNA-A dos begomovírus do Novo Mundo é estritamente dependente do componente DNA-B para essas funções (Rojas *et al.*, 2005).

O gênero *Begomovirus* representa um grupo de vírus extremamente bem-sucedido, com suas espécies sendo registradas infectando um número elevado de espécies de dicotiledôneas e em condições agroecológicas extremamente diversas (Rojas & Gilbertson, 2008; Briddon *et al.*, 2010; Navas-Castillo *et al.*, 2011). Os diferentes fatores que contribuem para o surgimento de doenças de vírus de plantas incluem o tráfego de longa distância do material vegetal ou dos insetos vetores, devido ao comércio de produtos hortícolas e plantas ornamentais, as alterações nas populações dos vetores e as mudanças genéticas no genoma dos vírus através de mutação, recombinação e pseudo-recombinação (Navas-Castillo *et al.*, 2011). O hábito alimentar polífago, as explosões populacionais e a ampla distribuição geográfica do invasivo “biótipo B” (atualmente classificado como *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 – MEAM 1) facilitaram os processos de transmissão e adaptação de begomovírus nativos em plantas cultivadas (Rojas *et al.*, 2005; Rojas & Gilbertson, 2008; Briddon *et al.*, 2010).

No presente trabalho, são apresentadas as sequências genômicas completas de potenciais novos begomovírus bipartidos obtidos a partir de levantamentos realizados em campos de tomateiro na região Norte do Brasil. O cultivo do tomateiro nessa região ainda é muito incipiente e se caracteriza pelo isolamento geográfico de outras regiões produtoras e pouco trânsito de material vegetal (especialmente mudas) entre as regiões produtoras. Estas características do sistema produtivo do tomateiro na região Norte e as condições agroecológicas e edafoclimáticas peculiares indicam a possibilidade de detecção de espécies distintas daquelas



previamente reportadas em outras regiões produtoras do Brasil. Este capítulo apresenta a sequência completa do componente DNA-A de um potencial novo begomovírus infectando tomateiro no Estado do Amazonas e três novos begomovírus encontrados infectando tomateiro no Estado de Tocantins. Os resultados confirmam que todos esses isolados possuem características estruturais e relações filogenéticas distintas de outras espécies do complexo de begomovírus do tomateiro previamente reportadas no Brasil (Ribeiro *et al.*, 2003; 2007; Calegario *et al.*, 2007; Fernandes *et al.*, 2008; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Albuquerque *et al.*, 2012).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção dos isolados**

Amostras foliares de tomateiro apresentando sintomas típicos de infecções por begomovírus foram coletadas em regiões produtoras do estado do Amazonas (AM) e Tocantins (TO) (**Tabela 1**). O DNA total foi extraído utilizando um protocolo modificado com 2X CTAB e solventes orgânicos (Boiteux *et al.*, 1999). Estas amostras fazem parte da coleção de trabalho de begomovírus do Laboratório de Melhoramento Vegetal da Embrapa Hortaliças, Brasília – DF, Brasil.

### **2.2. Análises iniciais do DNA viral**

O DNA total purificado de folhas de tomateiro sintomáticas de todos os isolados foi submetido à reação em cadeia da polimerase (*Polymerase chain reaction*, PCR) amplificando segmentos dos DNA-A e DNA-B viral. Os pares de iniciadores universais utilizados foram: ‘PAL1v1978’ e ‘PAR1c496’ para um segmento do DNA-A e ‘PBL1v2040’ e ‘PCRC1’ para um segmento do DNA-B (Rojas *et al.*, 1993). Os produtos de amplificação foram analisados em géis de agarose 1% (p/v), corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta (Ambrozevicius *et al.*, 2002).

### 2.3. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação obtidos

Os produtos de amplificação para um segmento de aproximadamente 1200 pb do DNA-A, obtidos com os iniciadores universais de Rojas *et al.* (1993) foram diretamente sequenciados utilizando o protocolo BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems).

### 2.4. Comparações de sequências

Sequências nucleotídicas do DNA-A dos begomovírus foram inicialmente submetidas a uma busca no BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) para a comparação com as sequências disponíveis no banco de dados do GenBank e, posteriormente, foram analisadas para níveis de identidade para a atribuição da espécie. O alinhamento das sequências foi realizado por meio do MegAlign (DNASTAR, Lasergene, Madison, WI, USA), utilizando-se o método CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994).

### 2.5. Obtenção da sequência completa do componente DNA-A dos isolados AM-10, TO-45, TO-83 e TO-167

Um subgrupo de isolados com nível de identidade menor que 91% em relação às espécies descritas no GenBank tiveram o componente genômico DNA-A completamente sequenciado. O sequenciamento foi realizado na Embrapa Hortaliças, utilizando uma estratégia de *primer walking* empregando cinco pares de iniciadores universais para begomovírus, sendo eles: ‘PAL1v1978’ e ‘PAR1c496’ (Rojas *et al.*, 1993); ‘BegoAFor1’ e ‘BegoARev1’ (Ha *et al.*, 2006) e mais dois novos pares de *primers* desenvolvidos e validados por M.E.N. Fonseca *et al.* (manuscrito em preparação) (**Figura 1**). Este conjunto de iniciadores é capaz de produzir fragmentos que cobrem diferentes regiões do genoma de espécies de begomovírus bipartidos e que se sobrepõem, permitindo a formação inequívoca dos *contigs*. Os *contigs* foram montados utilizando o programa SeqMan (DNASTAR, Lasergene, Madison, WI, USA). A qualidade das sequências foi estimada via SeqMan e visualmente pelo formato e intensidade dos picos e

comparação entre os picos obtidos com pelo menos dois iniciadores distintos. Os *contigs* utilizados nas análises filogenéticas foram manualmente verificados e corrigidos para cada isolado e, ao final do processo, as sequências obtidas foram depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

## **2.6. Alinhamento das sequências e análise filogenética**

As sequências correspondentes ao genoma completo do componente DNA-A das quatro potenciais novas espécies foram inicialmente analisadas com o algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) para determinar as espécies virais com a maior identidade. As identidades nucleotídicas das sequências foram determinadas utilizando o aplicativo CLUSTAL W. Alinhamentos múltiplos incluindo os isolados denominados como **AM-10**, **TO-45**, **TO-83** e **TO-167** e outros 33 begomovírus das Américas (**Tabela 3**) foram obtidos utilizando o *plugin* do algoritmo *Muscle*, componente do programa Geneious R8 (Kearse *et al.*, 2012). A árvore de análise por *Neighbor-joining* (NJ) (Saitou & Nei, 1987), com base no alinhamento do DNA-A foi construída utilizando o aplicativo *Geneious Tree Builder*. Para identificar e ilustrar os clados, foi usado o *plugin* Species Delimitation versão 1.4.4 (Masters *et al.*, 2011). Análise de *Bootstrap* (1000 repetições) foi realizada para verificar a consistência de cada ramo da árvore. O programa MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) foi utilizado para determinar o modelo de substituição de nucleotídeos com o melhor ajuste para cada conjunto de dados.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Levantamentos de espécies de begomovírus em tomateiro foram conduzidos nos anos de 2007 e 2008 nas principais regiões produtoras do Estado do Amazonas (AM) e do Estado do Tocantins (TO), na região Norte do Brasil. Como recomendado pelo grupo de estudos taxonômicos da família *Geminiviridae* (ICTV), são consideradas novas espécies de begomovírus aqueles isolados com a sequência completa do componente genômico DNA-A

com identidade nucleotídica <91%, quando comparada com todas as outras sequências de espécies definitivas descritas, enquanto valores entre <94% e >91% são consideradas novas estirpes de uma espécie (Fauquet *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2015). Desta forma, quatro isolados que potencialmente poderiam representar novas espécies virais (denominados **AM-10**, **TO-45**, **TO-83** e **TO-167**) foram selecionados para serem caracterizados mais detalhadamente (**Tabela 1**) (para informações sobre a lista completa de isolados analisados na região Norte, ver **ANEXO 1**).

A sequência completa do componente DNA-A do isolado **AM-010** (2.615 pb), que foi coletado em 2007 no município de Silves, Estado do Amazonas (AM), com sintomas de clorose internerval, apresentou identidade máxima de nucleotídeos (87%) com o componente DNA-A de *Chino del tomate virus* (CdTV, número de acesso GenBank DQ885456), um begomovírus bipartido previamente caracterizado infectando plantas de tomate no México (Brown *et al.*, 1998). De acordo com os parâmetros estabelecidos, estes resultados confirmam que o isolado **AM-10** representa uma nova espécie de begomovírus (Brown *et al.*, 2015). O nome Chino del tomate Amazonas virus (CdTAV, número de acesso GenBank HM357461) é proposto para esta nova espécie.

A sequência completa do componente DNA-A do isolado **TO-45** (2.630 pb), coletado em 2008 no município de Gurupi, estado do Tocantins (TO), com sintomas de pontos cloróticos acentuados, apresentou identidade máxima de nucleotídeos (82%) com o componente DNA-A de uma estirpe de *Tomato mottle leaf curl virus* (ToMoLCV, número de acesso GenBank JF803250), um begomovírus previamente caracterizado infectando plantas de tomate em Juazeiro, no Estado da Bahia (BA) (Albuquerque *et al.*, 2012). O nome Tomato golden leaf distortion virus (ToGLDV, número de acesso GenBank HM357456) é proposto para esta nova espécie.

Ainda em Tocantins (TO), no município de Araguaína, outros dois isolados foram coletados em 2008. A sequência completa do componente DNA-A (2.669 pb) do isolado denominado **TO-83**, coletado em plantas de tomateiro exibindo sintomas de nanismo e clorose, apresentou identidade máxima de nucleotídeos (82%) com o componente DNA-A de *Tomato yellow spot virus* (ToYSV, número de acesso GenBank KJ742419), uma estirpe caracterizada infectando plantas de chia (*Salvia hispanica* L.) na Argentina (Celli *et al.*, 2014). O nome Tomato golden leaf spot virus (ToGLSV), com número de acesso GenBank KC626021, é proposto para esta nova espécie. Por sua vez, a sequência completa do componente DNA-A (2.639 pb) do isolado **TO-167** (2.639 pb), coletado em plantas de tomateiro exibindo sintomas de mosqueado e clareamento de nervura, apresentou identidade máxima de nucleotídeos (82%) com o componente DNA-A de *Tobacco leaf rugose virus* (TbLRV, número de acesso GenBank AJ488768), um begomovírus previamente caracterizado infectando plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) em Cuba (Domínguez *et al.*, 2002). O nome Tomato bright yellow mottle virus (ToBYMoV), com número de acesso GenBank KC791691, é proposto para esta nova espécie.

Infecções por begomovírus têm sido frequentemente reportadas no tomateiro e em diversas outras hospedeiras no Caribe, México, América Central e América do Sul (Brown *et al.*, 2000; 2015). Nas últimas duas décadas, o surgimento de novos begomovírus em tomateiro tem sido relatado em vários países latino-americanos (Polston e Anderson, 1997; Ribeiro *et al.*, 2003; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Marquez-Martin *et al.*, 2011; Medina & Lambertini, 2012; Medina *et al.*, 2015). No Brasil, no final da década de 1990, um complexo extremamente diverso de begomovírus emergiu após relatos de surtos populacionais de *B. tabaci* MEAM 1 = biótipo B (Ribeiro *et al.*, 1994; Ambrozevícius *et al.*, 2002). Simultaneamente com a disseminação de *B. tabaci* MEAM 1, também foi observado um aumento na diversidade de espécies de begomovírus capazes de infectar tomateiro (Ribeiro *et al.*, 2003). A ampla gama de hospedeiros e a rápida dispersão da espécie MEAM 1 de mosca-branca pode ter contribuído

para a transferência natural das novas espécies de begomovírus de plantas daninhas e/ou de espécies nativas de solanáceas para o tomateiro cultivado, assim, resultando no aumento significativo do número de novas espécies de begomovírus nessa hortaliça (Fernandes *et al.*, 2008). Todas as espécies virais descritas até o presente momento no Brasil possuem genoma bipartido, diferentes das espécies predominantes no continente europeu. Esses levantamentos indicaram a presença de cerca de doze espécies de begomovírus e dezenas de recombinantes distribuídos nas diferentes regiões produtoras de tomate (Ribeiro *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2006; Inoue-Nagata *et al.*, 2006; Calegario *et al.*, 2007; Cotrim *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2007; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008; Fauquet *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2008; Albuquerque *et al.*, 2012).

A análise comparativa do DNA-A dos isolados **AM-10**, **TO-45**, **TO-83** e **TO-167** com as espécies de begomovírus disponíveis no GenBank (Brown *et al.*, 2015) para as quatro *Open Reading Frames* (ORFs) presentes no componente genômico DNA-A, evidenciou, em geral, identidades não excedendo os valores de 94% (**Figura 2**). Para o gene *cp* do isolado **AM-10** (801 nt), a comparação revelou as maiores percentagens de identidade de nucleotídeos com o begomovírus *Bean chlorosis virus*, da Venezuela (BCV, número de acesso GenBank JN848770) (89%); para o gene *rep* (1.092 nt), com *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV, GenBank AF490004) (82%); para o gene *trap* (390 nt), com *Chino del tomate virus*, (CdTV, GenBank DQ885456) (84%); e o gene *ren* (378 nt) apresentou identidade máxima de nucleotídeos de 87% com *Sida yellow mottle virus*, de Cuba (SiYMoV, GenBank JN411687) (**Tabela 2**).

Todas as ORFs do isolado **TO-45** apresentaram identidade máxima de nucleotídeos com o begomovírus *Centrosema yellow spot virus*, do Brasil (CeYSV, GenBank JN419002). O gene *cp* (759 nt) apresentou identidade máxima de nucleotídeos de 87% com CeYSV; o gene *rep*

(1.221 nt), 94%; o gene *trap* (391 nt), 82%; e o gene *ren* (405 nt) apresentou identidade máxima de nucleotídeos de 84% (**Tabela 2**).

O gene *cp* do isolado **TO-83** (714 nt) apresentou identidade máxima de nucleotídeos de 81% com *Tomato mottle leaf curl virus* (ToMoLCV, GenBank AY049226); o gene *rep* (1.002 nt), 77% com *Abutilon Brazil virus* (AbBV, GenBank FN434438); o gene *trap* (519 nt), 80% com *Tomato severe rugose virus* (ToSRV, GenBank JN419002); e o gene *ren* (305 nt) apresentou identidade máxima de nucleotídeos de 84% com *Melochia mosaic virus* (MelMV, GenBank JN411687) (**Tabela 2**).

Já para os genes *cp* (776 nt) e *rep* (1.170 nt) do isolado **TO-167**, a comparação revelou 84% de identidade nucleotídica com *Macropodium yellow vein virus* (MaYVV, GenBank JN419021); o gene *trap* (447 nt) apresentou 84% de identidade nucleotídica com *Macropodium yellow net virus* (MaYNV, GenBank JN418990); e o gene *ren* (441 nt) apresentou identidade máxima de nucleotídeos de 83% com *Macropodium yellow spot virus* (MaYSV, GenBank KC004131) (**Tabela 2**).

A análise filogenética, incluindo os novos isolados coletados na Região Norte do Brasil (**Figuras 3**), indicou que a espécie representada pelo isolado **TO-45** forma um ramo monofilético, com uma confiança de *bootstrap* de 99% com *Centrosema yellow spot virus* (CeYSV) (GenBank JN419002), um begomovírus que infecta a leguminosa *Centrosema brasilianum* L. (Benth.), conhecida popularmente como feijão-bravo, no Nordeste brasileiro (Silva *et al.*, 2012). A sequência do **TO-45** apresenta 77,7% de identidade nucleotídica com a correspondente de CeYSV. A espécie viral representada pelo isolado **TO-83** forma um ramo monofilético, com uma confiança de *bootstrap* de 100%, com o isolado **TO-167**, ressaltando a proximidade genética entre as duas novas espécies propostas, Tomato bright yellow mottle virus e Tomato golden leaf spot virus, respectivamente.

O conjunto de características estruturais do genoma dos quatro isolados indicou organizações genômicas típicas de begomovírus bipartidos do Novo Mundo (Brown *et al.*, 2015), dados que foram ratificados pela análise filogenética (**Figura 3 e 4**). Todos os isolados apresentaram identidades nucleotídicas inferiores a 91%, quando comparadas com as sequências de begomovírus previamente reportadas, sendo, portanto, consideradas novas espécies de acordo com as demarcações taxonômicas vigentes (Fauquet *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2015).

Esse cenário de extrema diversidade viral é um indicativo de que estratégias de controle genético das begomoviroses podem se mostrar instáveis usando variedades identificadas com resistentes em diferentes regiões produtoras. Os mecanismos genéticos/genômicos que permitem um contínuo surgimento de novas variantes de vírus existentes ou de novas espécies virais capazes de superar os principais fatores de resistência empregados atualmente no melhoramento do tomateiro (Giordano *et al.*, 2005; Boiteux *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2015). Devido ao grande tamanho populacional e do curto tempo de geração, os vírus têm um grande potencial para evoluir e adaptar-se rapidamente sob a pressão da seleção natural (Moya *et al.*, 2004). A alta frequência de eventos de mutação, recombinação e pseudo-recombinação nos genomas dos begomovírus contribuem para a geração de novos variantes (Seal *et al.*, 2006). A ocorrência de potenciais infecções mistas, os altos níveis de replicação atingidos com a forma replicativa de dsDNA e o aumento significativo da gama de hospedeiros com a emergência da mosca-branca *B. tabaci* MEAM 1 são alguns dos fatores que podem favorecer significativamente os eventos de recombinação viral. Os vírus podem, via recombinação, adquirir novas informações genéticas de outros vírus ou até mesmo das plantas hospedeiras, facilitando sua rápida evolução (Padidam *et al.*, 1999). No entanto, é interessante mencionar, que, de acordo com as análises utilizando SweBlast (Fourment *et al.*, 2008), com uma janela de 200 nucleotídeos, não foram detectados sinais significativos de eventos de recombinação com

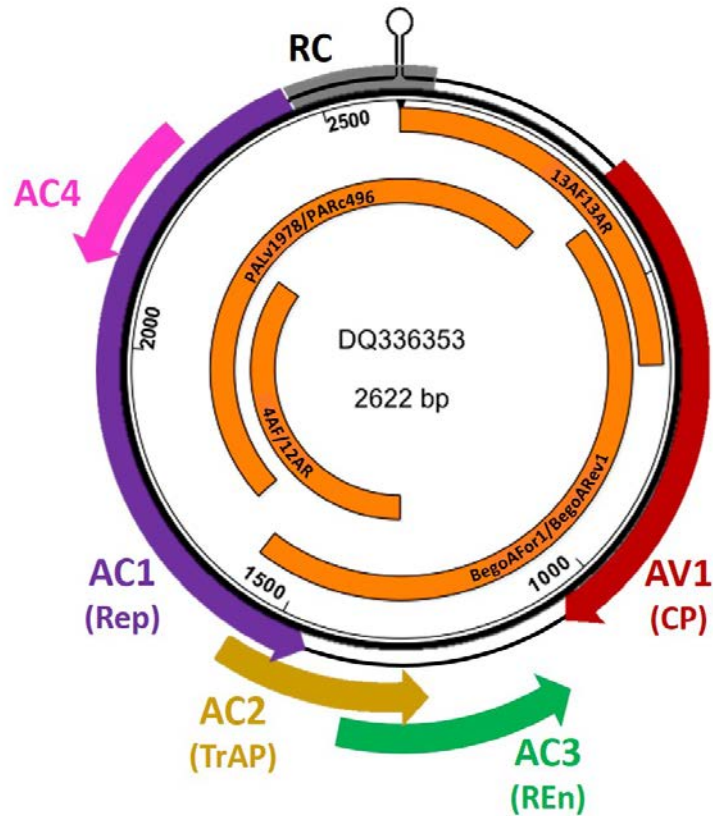


possíveis parentais virais atualmente disponíveis para análise no GenBank para todos os quatro novos isolados virais. Isso se deve, provavelmente, ao fato de que as potenciais espécies que contribuíram com componentes genômicos em presumíveis eventos de recombinação envolvendo esses quatro isolados ainda não tenham sido sequer identificadas e/ou caracterizadas.

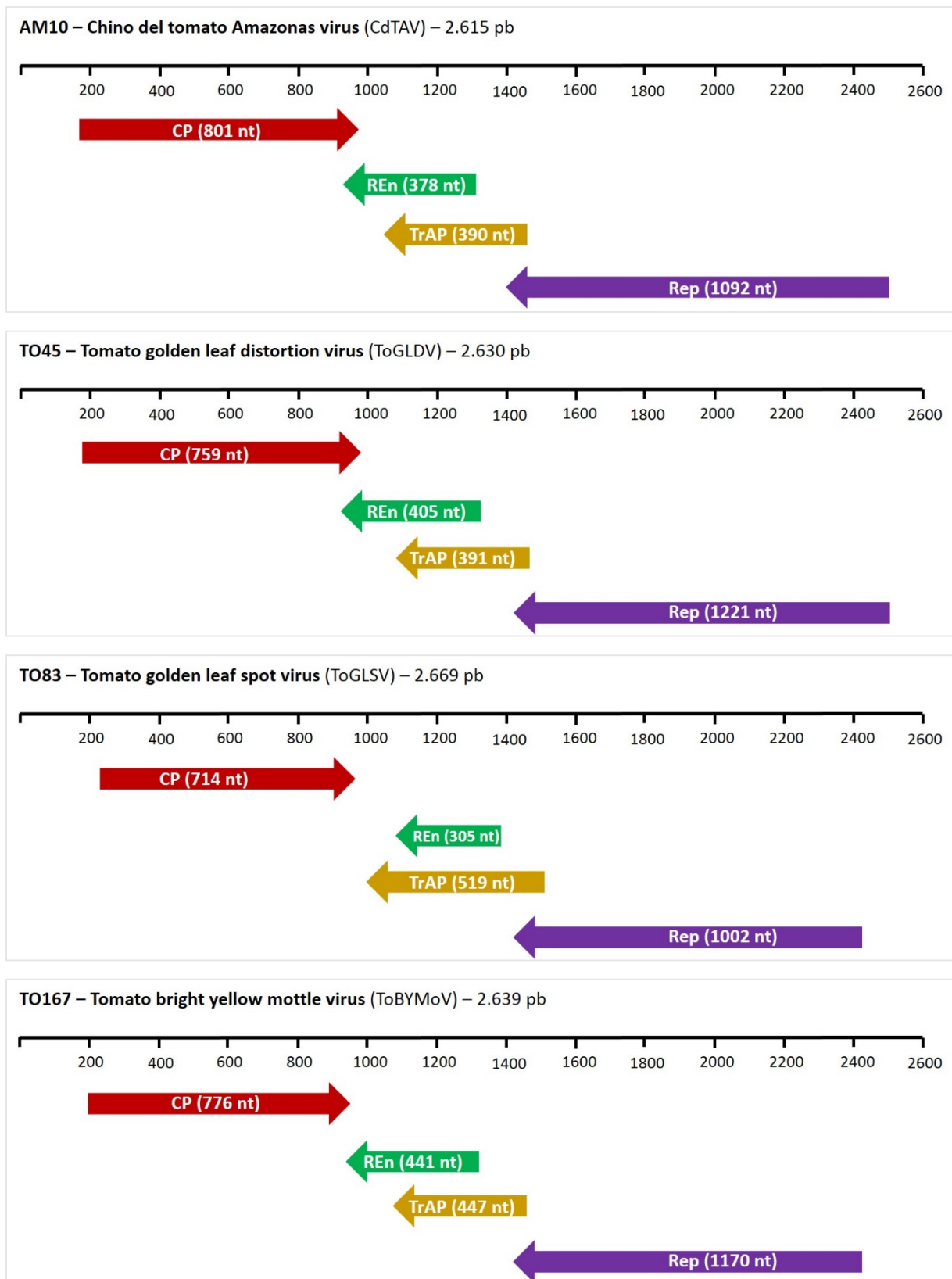
Em resumo, o presente trabalho revela um panorama ainda mais complexo em termos da diversidade de espécies de begomovírus capazes de infectar o cultivo do tomateiro no Brasil. Os resultados também sugerem que a emergência de espécies virais com restrita distribuição geográfica (endêmicas), é influenciada, muito provavelmente, pelas condições agroecológicas peculiares de cada região. A persistência destas espécies virais como importantes patógenos do tomateiro nessas regiões permanece por ser determinada, especialmente após eventos de invasão de espécies predominantes em outras regiões do Brasil. Em termos de ações preventivas para controle desses patógenos, será necessário investigar se as fontes de resistência disponíveis contra espécies de genoma bipartido (Giordano *et al.*, 2005; Boiteux *et al.*, 2007; Garcia-Cano *et al.*, 2008; Pereira-Carvalho *et al.*, 2010; 2015) também se mostraram efetivas contra os isolados de CdTAV, ToGLDV, ToGLSV e ToBYMoV mantidos na coleção de trabalho da Embrapa Hortaliças. A seleção de fontes de resistência para esse grupo de vírus pode ser conduzida usando estratégias mais simplificadas que empregam inoculação direta via biolística de produtos de RCA (*Rolling Circle Amplification*), dispensando, desta maneira, a laboriosa etapa de obtenção de clones infecciosos (Guenoune-Gelbart *et al.*, 2010).

**Tabela 1** – Análise inicial do genoma completo do componente DNA-A de quatro isolados de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) que representam potenciais novas espécies virais. Os isolados usados no presente estudo foram caracterizados de acordo com o local e data da coleta (mês/ano), código do isolado, espécie viral com maior nível de identidade BLASTn (% de identidade) e número de acesso no GenBank correspondente a espécie viral que apresentou níveis mais elevados de identidade com cada isolado.

Local	Data coleta	Isolado	Espécie Viral (DNA-A)	Blastn	Acesso GenBank
Silves – AM	11/2007	<b>AM-10</b>	<i>Chino del tomate virus</i>	<b>87%</b>	DQ885456
Gurupi – TO	08/2008	<b>TO-45</b>	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	<b>82%</b>	JF803250
Araguaina – TO	07/2008	<b>TO-83</b>	<i>Tomato yellow spot virus</i>	<b>82%</b>	KJ742419
Araguaina – TO	08/2008	<b>TO-167</b>	Tobacco leaf rugose virus	<b>82%</b>	AJ488768



**Figura 1** – Diagrama do componente DNA-A típico de um begomovírus de genoma bipartido deo Novo Mundo. Os círculos representam o genoma viral e as setas coloridas indicam as respectivas ORFs (*Open Reading Frames*) no sentido viral (V) e complementar (C). AV1, CP (proteína capsidial); AC1, Rep (proteína associada à replicação); AC2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3 ou AC3, REn, (proteína potenciadora de replicação); AC4 (proteína determinante de sintoma). As barras em cor laranja representam as regiões amplificadas por quatro pares de iniciadores universais: PALv1978/PARc496 (Rojas *et al.* 1993); BegoAFor1/BegoARev1 (Ha *et al.*, 2006) e mais dois novos pares de iniciadores (4AF/12AR e 13AF/13AR) desenvolvidos e validados por M.E.N. Fonseca *et al.* (manuscrito em preparação).



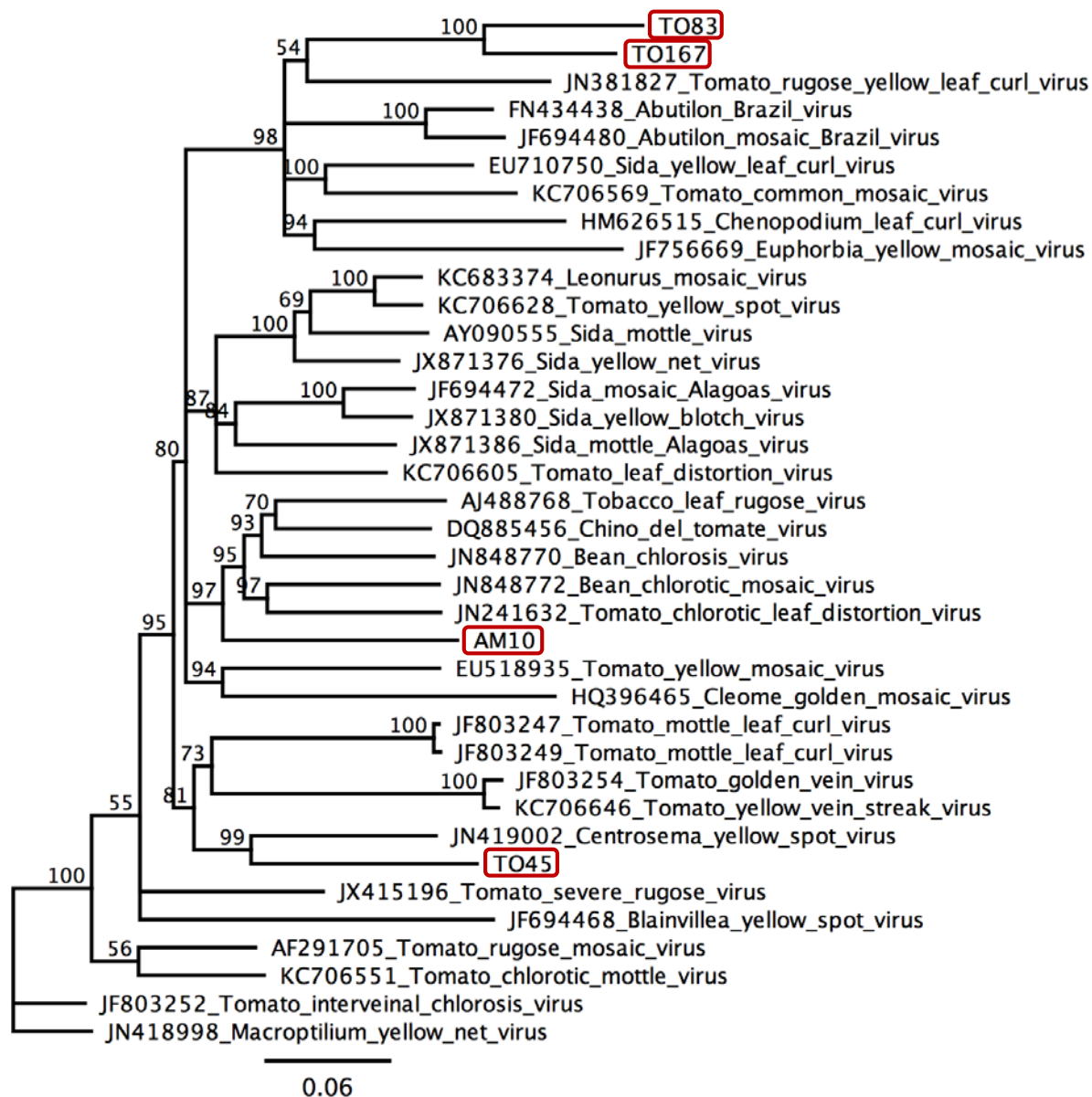
**Figura 2** – Mapa genômico assinalando as posições das quatro *Open Reading Frames* (ORFs) presentes nos componentes genômicos DNA-A dos quatro isolados caracterizados neste capítulo. CP, *Coat protein*; REn, *Replication enhancer protein*; TrAP, *Transcriptional activator protein*; Rep, *Replication-associated protein*.

**Tabela 2** – Lista dos vírus com maior porcentagem de identidade (resultado do BLASTn) para cada uma das quatro ORFs do componente DNA-A dos isolados **AM-010** (HM357461), **TO-045** (HM357456), **TO-083** (KC626021) e **TO-167** (KC791691). A análise comparativa foi realizada com as espécies de begomovírus disponíveis no GenBank e descritos em Brown *et al.* (2015).

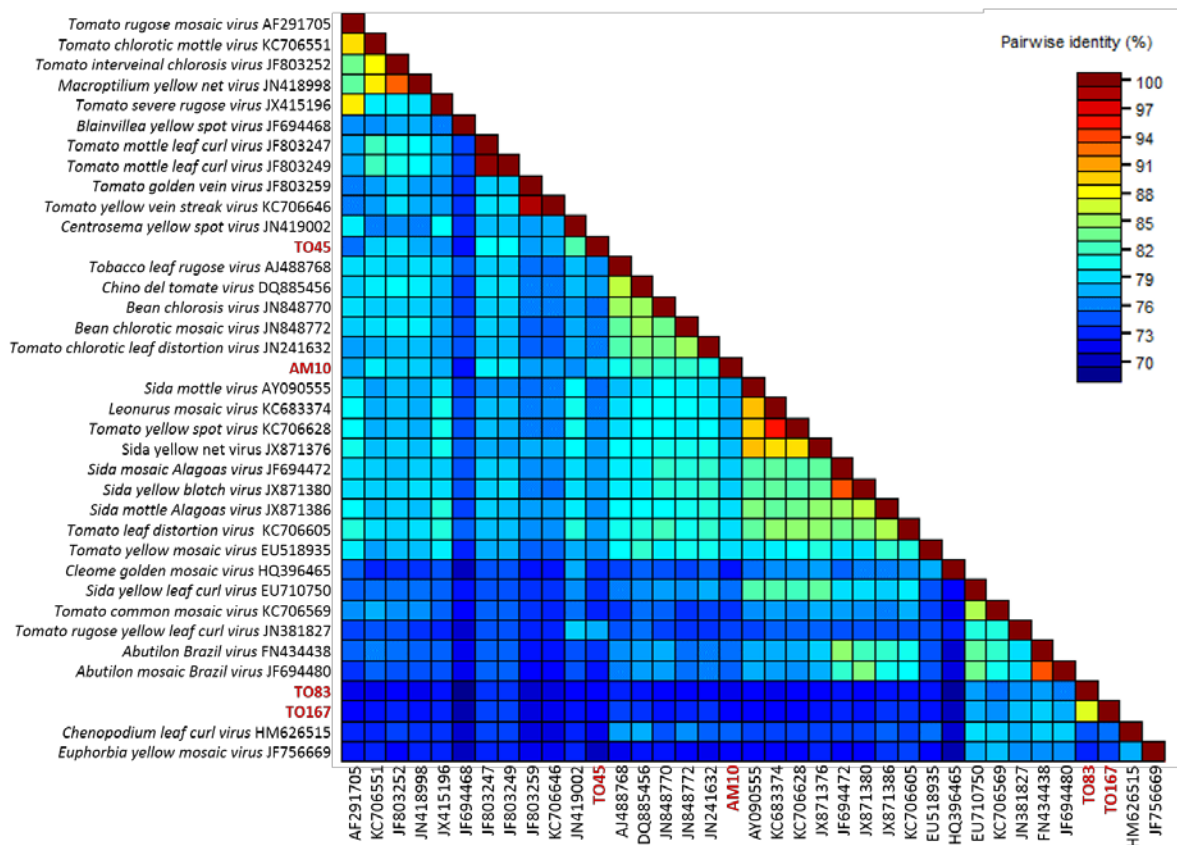
	<b>CP</b>	<b>%</b>	<b>Rep</b>	<b>%</b>	<b>TrAP</b>	<b>%</b>	<b>REn</b>	<b>%</b>
<b>AM10</b> <b>Chino del tomato Amazonas virus</b> (CdTAV)	<i>Bean chlorosis virus</i> JN848770	89	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i> AF490004	82	<i>Chino del tomate virus</i> DQ885456	84	<i>Sida yellow mottle virus</i> JN411687	87
	<i>Sida yellow mottle virus</i> JN411687	87	<i>Chino del tomate virus</i> DQ885456	80	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i> AF490004	82	<i>Chino del tomate virus</i> DQ885456	85
<b>TO45</b> <b>Tomato golden leaf distortion virus</b> (ToGLDV)	<i>Centrosema yellow spot virus</i> JN419002	87	<i>Centrosema yellow spot virus</i> JN419002	94	<i>Centrosema yellow spot virus</i> JN419002	86	<i>Centrosema yellow spot virus</i> JN419002	94
	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i> JF803249	83	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i> JF803249	85	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i> JF803249	82	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i> JF803249	82
<b>TO83</b> <b>Tomato golden leaf spot virus</b> (ToGLSV)	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i> AY049226	81	<i>Abutilon Brazil virus</i> FN434438	77	<i>Tomato severe rugose virus</i> JN419002	80	<i>Melochia mosaic virus</i> KT201151	84
	<i>Sida mottle Alagoas virus</i> JX871386	81	<i>Euphorbia mosaic Venezuela virus</i> JN368145	75	<i>Melochia mosaic virus</i> KT201151	80	<i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i> JN381821	82
<b>TO167</b> <b>Tomato bright yellow mottle virus</b> (ToBYMoV)	<i>Macrottilium yellow vein virus</i> JN419021	84	<i>Macrottilium yellow vein virus</i> JN419021	84	<i>Macrottilium yellow net virus</i> JN418998	81	<i>Macrottilium yellow spot virus</i> KC004131	83
	<i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i> JN381819	81	<i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i> JN381819	81	<i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i> JN381819	80	<i>Tomato severe rugose virus</i> KC004070	82

**Tabela 3** – Lista dos 33 begomovírus utilizados na análise filogenética a partir da informação do DNA-A completo de cada espécie. A árvore filogenética incluiu as quatro potenciais novas espécies virais representadas pelos isolados **AM-10** (Chino del tomate Amazonas virus – CdTAV); **TO-45** (Tomato golden leaf distortion virus – ToGLDV); **TO-83** (Tomato golden leaf spot virus – ToGLSV) e **TO-167** (Tomato bright yellow mottle virus – ToBYMoV).

Nome do vírus	Número de acesso	Acrônimo	País	Sigla país
<i>Abutilon Brazil virus</i>	FN434438	AbBrV	Brasil	BR
<i>Abutilon mosaic Brazil virus</i>	JF694480	AbMBrV	Brasil	BR
<i>Bean chlorosis virus</i>	JN848770	BCV	Venezuela	VE
<i>Bean chlorotic mosaic virus</i>	JN848772	BCMV	Venezuela	VE
<i>Blainvillea yellow spot virus</i>	JF694468	BIYSV	Brasil	BR
<i>Centrosema yellow spot virus</i>	JN419002	CenYSV	Brasil	BR
<i>Chenopodium leaf curl virus</i>	HM626515	ChLCV	Estados Unidos	US
<i>Chino del tomate virus</i>	DQ885456	CdTV	México	MX
<i>Cleome golden mosaic virus</i>	HQ396465	CIGMV	Brasil	BR
<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>	JF756669	EuYMV	Brasil	BR
<i>Leonurus mosaic virus</i>	KC683374	LeMV	Paraguai	PR
<i>Macroptilium yellow net virus</i>	JN418998	MaYNV	Brasil	BR
<i>Sida mosaic Alagoas virus</i>	JF694472	SiMAIV	Brasil	BR
<i>Sida mottle virus</i>	AY090555	SiMoV	Brasil	BR
<i>Sida mottle Alagoas virus</i>	JX871386	SiMoAIV	Brasil	BR
<i>Sida yellow blotch virus</i>	JX871380	SiYBV	Brasil	BR
<i>Sida yellow leaf curl virus</i>	EU710750	SiYLCV	Brasil	BR
<i>Sida yellow net virus</i>	JX871376	SiYNV	Brasil	BR
<i>Tobacco leaf rugose virus</i>	AJ488768	TbLRV	Cuba	CU
<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	KC706551	ToCmOV	Brasil	BR
<i>Tomato chlorotic leaf distortion virus</i>	JN241632	ToCLDV	Venezuela	VE
<i>Tomato common mosaic virus</i>	KC706569	ToCmMV	Brasil	BR
<i>Tomato golden vein virus</i>	JF803259	ToGVV	Brasil	BR
<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	JF803252	ToICV	Brasil	BR
<i>Tomato leaf distortion virus</i>	KC706605	ToLDV	Brasil	BR
<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	JF803247	ToMoLCV	Brasil	BR
<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	JF803249	ToMoLCV	Brasil	BR
<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	AF291705	ToRMV	Brasil	BR
<i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i>	JN381827	ToRYLCV	Uruguai	UY
<i>Tomato severe rugose virus</i>	JX415196	ToSRV	Brasil	BR
<i>Tomato yellow mosaic virus</i>	EU518935	ToYMV	Colômbia	CO
<i>Tomato yellow spot virus</i>	KC706628	ToYSV	Brasil	BR
<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	KC706646	ToYVSV	Brasil	BR



**Figura 3** – Árvore filogenética obtida a partir da informação do componente genômico DNA-A completo de 33 espécies de begomovírus, incluindo o posicionamento filogenético de potenciais novas espécies virais representadas pelos isolados **AM-10** (Chino del tomate Amazonas virus – CdTAV); **TO-045** (Tomato golden leaf distortion virus – ToGLDV); **TO-83** (Tomato golden leaf spot virus – ToGLSV) e **TO-167** (Tomato bright yellow mottle virus – ToBYMoV).



**Figura 4** – Matriz representando a identidade nucleotídica obtida a partir da informação do componente genômico DNA-A completo de 33 espécies de begomovírus e das quatro potenciais novas espécies virais representadas pelos isolados **AM-010** (Chino del tomate Amazonas virus – CdTAV); **TO-045** (Tomato golden leaf distortion virus – ToGLDV); **TO-083** (Tomato golden leaf spot virus – ToGLSV) e **TO-167** (Tomato bright yellow mottle virus – ToBYMoV).



#### 4. LITERATURA CITADA

- ALBUQUERQUE, L.C.; VARSANI, A.; FERNANDES, F.R.; PINHEIRO, B.; MARTIN, D.P.; FERREIRA, P.T.O.; LEMOS, T.O. & INOUE-NAGATA, A.K. 2012. Further characterization of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 157:747–752.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W. & LIPMAN, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403–410.
- AMBROZEVICIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G. & ZERBINI, F.M. 2002. Genetic diversity of *Begomovirus* infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:372–377.
- ANDRADE, E.C.; MANHANI, G.G.; ALFENAS, P.F.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B. & ZERBINI, F.M. 2006. Tomato yellow spot virus, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. *Journal of General Virology* 87:3687–3696.
- BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N. & SIMON, P.W. 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, L.S.; OLIVEIRA, V.R.; SILVA, C.H.; MAKISHIMA, N.; INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N. & GIORDANO, L.B. 2007. Reaction of tomato hybrids carrying the *Ty-1* locus to Brazilian bipartite *Begomovirus* species. *Horticultura Brasileira* 25:20–23.

- BRIDDON, R.W.; PATIL, B.L.; BAGEWADI, B.; NAWAZ-UL-REHMAN, M.S. & FAUQUET, C.M. 2010. Distinct evolutionary histories of the DNA-A and DNA-B components of bipartite begomoviruses. *BMC Evolutionary Biology* 10:97.
- BROWN, J.K.; OSTROW, K.M.; IDRIS, A.M. & STENGER, D.C. 1998. Molecular characterization and Koch's postulates for chilo del tomate geminivirus with purified virions and full-length infectious clones. *Phytopathology* 88:11.
- BROWN, J.K.; OSTROW, K.M.; IDRIS, A.M. & STENGER, D.C. 2000. *Chilo del tomate virus*: Relationships to other begomoviruses and identification of A-component variants that affect symptom expression. *Phytopathology* 90:546–552.
- BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; ZERBINI, F.M.; MORIONES, E. & NAVAS- CASTILLO, J. 2012. Family *Geminiviridae*. In: KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J.; CARSTENS, E.B. & LEFKOWITZ, E.J. (eds). *Virus Taxonomy 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press. London, United Kingdom. p.351–373.
- BROWN, J.K.; ZERBINI, F.M.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; RAMOS-SOBRINHO, R.; SILVA, J.C.F.; FIALLO-OLIVE, E.; BRIDDON, R.W.; HERNANDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; MALATHI, V.G.; MARTIN, D.P.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; UEDA, S. & VARSANI, A. 2015. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593–1619.
- CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C. & ZERBINI, F.M. 2007. Characterization of Tomato yellow spot virus, a novel tomato-infecting begomovirus in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42:1335–1343.
- CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JR, J.E.A.; BRUCKNER, F.P.; LIMA, A.T.M.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P. & ZERBINI, F.M. 2008. Six novel

- begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. Archives of Virology 153:1985–1989.
- CELLI, M.G.; PEROTTO, M.C.; MARTINO, J.A.; FLORES, C.R.; CONCI, V.C. & PARDINA, P.R. 2014. Detection and identification of the first viruses in chia (*Salvia hispanica*). Viruses 6:3450–3457.
- COTRIM, A.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; NARITA, N.; ZERBINI, F.M. & PAVAN, M.A. 2007. Diversidade genética de begomovirus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. Summa Phytopathologica 33:300–303.
- DOMÍNGUEZ, M.; RAMOS, P.L.; ECHEMENDÍA, A.L.; PERAL, R.; CRESPO, J.; ANDINO, V.; PUJOL, M. & BORROTO, C. 2002. Molecular characterization of Tobacco leaf rugose virus, a new Begomovirus infecting tobacco in Cuba. Plant Disease 86:1050.
- FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, M. & ZHOU, X. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. Archives of Virology 153:783–821.
- FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; AVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite *Begomovirus* species associated to tomatoes. Virus Genes 36:251–258.
- FONTES, E.P.B.; GLADFELTER, H.J.; SCHAFFER, R.L.; PETTY, I.T.D. & HANLEY-BOWDOIN, L. 1994. Geminivirus replication origins have a modular organization. The Plant Cell 3:405–416.
- FOURMENT, M.; GIBBS, A.J. & GIBBS, M.J. 2008. SWeBLAST: A sliding window web-based BLAST tool for recombination analysis. Journal of Virological Methods 152:98–101.

- GARCÍA-CANO, E.; RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B.; 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, L.B.; SILVA-LOBO, V.L.; SANTANA, F.M.; FONSECA, M.E.N. & BOITEUX L.S. 2005. Inheritance of resistance to bipartite *Tomato chlorotic mottle begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv. ‘Tyking’. *Euphytica* 143:27–33.
- GUENOUNE-GELBART, D.; SUFRIN-RINGWALD, T.; CAPOBIANCO, H.; GABA, V.; POLSTON, J. E. & LAPIDOT, M. 2010. Inoculation of plants with begomoviruses by particle bombardment without cloning: Using rolling circle amplification of total DNA from infected plants and whiteflies. *Journal of Virological Methods* 168:87–93.
- GUTIERREZ, C. 2000. Geminiviruses and the plant cell cycle. *Plant Molecular Biology* 43:763–772.
- 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.
- HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S.B.; ROBERTSON, D. 2004. Reprogramming plant gene expression: A prerequisite to geminivirus DNA replication. *Molecular Plant Pathology* 5:149–156.
- HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; VARSANI, A. & BROWN, J.K. 2013. Intergeneric recombination between a new, spinach-infecting curtovirus and a new geminivirus belonging to the genus *Becurtovirus*: first New World exemplar. *Archives of Virology* 158:2245–2254.
- INOUE-NAGATA, A.K.; MARTIN, D.P.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B.; BEZERRA, I.C. & ÁVILA, A.C. 2006. New species emergence via recombination among isolates of

- the Brazilian tomato infecting *Begomovirus* complex. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 1329–1332.
- KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MENTJIES, P. & DRUMMOND, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647–1649.
- LAZAROWITZ, S.G. 1992. Geminiviruses: Genome structure and function. *Critical Reviews in Plant Sciences* 11:327–349.
- MARQUEZ-MARTIN, B.; ARAGON-CABALLERO, L.; FIALLO-OLIVE, E.; NAVAS-CASTILLO, J. & MORIONES, E. 2011. Tomato leaf deformation virus, a novel begomovirus associated with a severe disease of tomato in Peru. *European Journal of Plant Pathology* 129:1–7.
- MASTERS, B.C.; FAN, V. & ROSS, H.A. 2011. Species Delimitation – a Geneious plugin for the exploration of species boundaries. *Molecular Ecology Resources* 11:154–157.
- MEDINA, C.G.V. & LAMBERTINI, P.M.L. 2012. Tomato dwarf leaf virus, a New World begomovirus infecting tomato in Argentina. *Archives of Virology* 157:1975–1980.
- MEDINA, C.G.V.; MARTIN, D.P. & LAMBERTINI, P.M.L. 2015. Tomato mottle wrinkle virus, a recombinant begomovirus infecting tomato in Argentina. *Archives of Virology* 160:581–585
- MOYA, A.; HOLMES, E.C. & GONZÁLEZ-CANDELAS, F. 2004. The population genetics and evolutionary epidemiology of RNA viruses. *Nature Reviews Microbiology* 2:279–288.
- NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVE, E. & SANCHEZ-CAMPOS, S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219–248.

- NOUEIRY, A.O.; LUCAS, W.J. & GILBERTSON, R.L. 1994. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport. *Cell* 76:925–932.
- PADIDAM, M.; SAWYER, S. & FAUQUET, C.M. 1999. Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265:218–225.
- PATIL, B.L. & FAUQUET, C.M. 2009. Cassava mosaic geminiviruses: actual knowledge and perspectives. *Molecular Plant Pathology* 10:685–701.
- PEREIRA-CARVALHO, R.C.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; DÍAZ-PENDÓN, J.A.; MORIONES, E.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; CHARCHAR, J.M. & RESENDE, R.O. 2010. Multiple resistance to *Meloidogyne* spp. and to bipartite and monopartite *Begomovirus* spp. in wild *Solanum* (*Lycopersicon*) accessions. *Plant Disease* 94:179–185.
- PEREIRA-CARVALHO, R.C.; DÍAZ-PENDÓN, J.A.; FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; MORIONES, E. & RESENDE, R.O. 2015. Recessive resistance derived from tomato cv. Tyking limits drastically the spread of Tomato yellow leaf curl virus. *Viruses* 7:2518–2533
- POLSTON, J.E. & ANDERSON, P.K. 1997. The emergence of whitefly transmitted geminiviruses in tomato in the western hemisphere. *Plant Disease* 81:1358–1369.
- RIBEIRO, S.G.; MELO, L.V.; BOITEUX, L.S.; KITAJIMA, E.W. & FARIA, J.C. 1994. Tomato infection by a geminivirus in the Federal District, Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 19:330.
- RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVICIUS, L.P.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H. & ZERBINI, F.M. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 148:281–295.
- RIBEIRO, S.G.; MARTIN, D.P.; LACORTE, C.; SIMÕES, I.C.; ORLANDINI, D.R.S. & INOUE-NAGATA, A.K. 2007. Molecular and biological characterization of *Tomato*

- chlorotic mottle virus* suggests that recombination underlies the evolution and diversity of Brazilian tomato begomoviruses. *Phytopathology* 97:702–711.
- ROJAS, M.R. & GILBERTSON, R.L. 2008. Emerging plant viruses: A diversity of mechanisms and opportunities. In: ROOSSINCK, M.J. (ed). *Plant Virus Evolution*. Springer-Verlag. Berlin, Germany. p. 27–51.
- ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSEL, D.R. & MAXWELL, D. 1993. Use of degenerated primers in the Polymerase Chain Reaction to detect whitefly-transmitted Geminiviruses. *Plant Disease* 77:340–347.
- ROJAS, M.R.; HAGEN, C.; LUCAS, W.J. & GILBERTSON, R.L. 2005. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 43:361–394.
- SAITOU, N. & NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406–425.
- SEAL, S.E.; VAN, D.E.N.; BOSCH, F. & JEGER, M.J. 2006. Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: implications for sustainable control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25:23–46.
- SILVA, S. J. C.; CASTILLO-URQUIZA, G. P.; HORA-JÚNIOR, B. T.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A.; PIO-RIBEIRO, G.; MIZUBUTI E. S. G. & ZERBINI, F. M. 2012. Species diversity, phylogeny and genetic variability of begomovirus populations infecting leguminous weeds in northeastern Brazil. *Plant Pathology* 61:457–467.
- STANLEY, J.; BISARO, D.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; HARRISON, B.D.; RYBICKI, E.P. & STENGER, D.C. 2005. Geminiviridae. In: FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U. & BALL, L.A. (eds). *Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier/Academic Press. London, UK. p.301–326.

- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30:2725–2729.
- THOMPSON, J.D., HIGGINS, D.G. & GIBSON, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673–4680.
- VANITHARANI, R.; CHELLAPPAN, P.; PITA, J.S. & FAUQUET, C.M. 2004. Differential roles of AC2 and AC4 of cassava geminiviruses in mediating synergism and suppression of posttranscriptional gene silencing. *Journal of Virology* 78:9487–9498.



# CAPÍTULO 4

---

---

**PRIMEIRO RELATO E SEQUÊNCIA COMPLETA DO GENOMA  
DO DNA-A DE VARIANTES DO VÍRUS Sida yellow net vírus  
INFECTANDO TOMATEIRO NO BRASIL**

## **Primeiro relato e sequência completa do genoma do DNA-A de variantes do vírus Sida yellow net virus infectando tomateiro no Brasil.**

### **RESUMO**

Amostras foliares de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) para o mercado *in natura* foram coletadas exibindo manchas cloróticas e mosaico amarelo durante levantamentos conduzidos em duas regiões produtoras do Rio de Janeiro (São José do Ubá-RJ e Cambuci-RJ). Sintomas semelhantes também foram observados em plantas de tomateiro coletadas em Silves-AM (Estado do Amazonas). Estas plantas estavam colonizadas pela mosca-branca *Bemisia tabaci* MEAM 1 (= biótipo B). O DNA total foi extraído a partir de tecido foliar sintomático, utilizando o protocolo CTAB. Segmentos genômicos de DNA-A e DNA-B foram amplificados através de PCR utilizando pares de iniciadores universais. Os resultados indicaram a presença exclusiva de espécies de begomovírus bipartidos em todas as amostras. Amplicons correspondendo a um segmento do componente genômico DNA-A ( $\approx 1200$  pb) englobando a região 5' terminal da proteína do gene Rep, toda a região intergênica, e a região 5' terminal do gene da capa proteica (CP) foram obtidos para todos os três isolados e diretamente sequenciados. As comparações das sequências de nucleotídeos dos isolados AM-012 (obtido em Silves-AM em 2007), RJ-016 (São José do Ubá-RJ, em 2006) e RJ-028 (obtido no Cambuci- RJ em 2010) indicaram níveis de identidade de sequência nucleotídica que variam de 96 a 98% correspondente ao DNA do begomovírus bipartido Sida yellow net virus (SiYNV) (GenBank JX871376), previamente caracterizado em plantas da planta daninha *Sida micrantha* (Malvaceae), em Minas Gerais. Estes valores de identidade indicaram que estes isolados podem ser classificados como estirpes de SiYNV. A sequência completa do genoma do DNA-A dos isolados foi obtidas através de *primer walking* usando a informação genômica do SiYNV. As plantas daninhas da família Malvaceae têm sido associadas com o surgimento (em condições naturais) de novos begomovírus que

infectam o tomateiro. De acordo com o nosso conhecimento, este é o primeiro registro formal de *S. lycopersicum* como hospedeira natural de isolados de SiYNV. Esse resultado reforça a importância epidemiológica (nas condições brasileiras) de plantas daninhas associadas com a cultura do tomate, como hospedeiras alternativas de espécies de begomovírus.

Palavras-chave: begomovírus, diversidade, tomate.

## **First report and complete DNA-A genome sequence of tomato-infecting Sida yellow net virus isolates from Brazil.**

### **ABSTRACT**

Fresh-market tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants exhibiting chlorotic leaf sectors and yellow mosaic were collected during field surveys in two tomato-producing regions (São José do Ubá–RJ and Cambuci–RJ) in Rio de Janeiro State, Brazil. Similar symptoms were also observed in Silves–AM (State of Amazonas). These plants were colonized by the whitefly *Bemisia tabaci* MEAM 1 species (= biotype B). Total DNA was extracted from symptomatic leaf samples using a CTAB protocol. Genomic DNA-A and DNA-B segments were amplified via PCR using universal primer pairs. The results indicated the exclusive presence of bipartite begomovirus species in all samples. PCR amplicons corresponding to a segment of the DNA-A genomic component ( $\approx 1200$  bp) encompassing the 5' terminal region of protein gene associated with replication (Rep), the entire intergenic region, and the 5' terminal region of the coat protein gene (CP) were amplified and directly sequenced for all tree isolates. Comparisons of the nucleotide sequences of isolates **AM-012** (obtained in Silves-AM in 2007), **RJ-016** (São José do Ubá-RJ in 2006) and **RJ-028** (obtained in Cambuci-RJ in 2010) indicated nucleotide sequence identity levels ranging from 96 and 98% with the corresponding DNA of the bipartite begomovirus Sida yellow net virus (SiYNV) (GenBank JX871376), which was previously characterized infecting plants of the weed *Sida micrantha* (Malvaceae) in Minas Gerais State, Brazil. These identity values indicated that these isolates can be classified as strains of SiYNV. The isolates complete DNA-A genome sequence was obtained through primer walking using the genomic information of the SiYNV isolate. Weeds of the Malvaceae family have been associated with the emergence of new tomato-infecting begomoviruses under natural conditions. To our knowledge, this is the first formal report of *S. lycopersicum* as a natural host

of SiYNV. This result highlights, once again, the epidemiological importance of weeds often associated with the tomato crop as alternative reservoirs of begomovirus species under Brazilian conditions.

Key-words: begomovirus, diversity, tomato.

## 1. INTRODUÇÃO

Vírus de plantas da família *Geminiviridae* são caracterizados por possuírem um genoma constituído por uma ou duas moléculas de DNA circular de fita simples (ssDNA), encapsidadas em partículas icosaédricas geminadas. A família é dividida em sete gêneros com base na gama de hospedeiros, inseto vetor, organização do genoma e relações filogenéticas (Brown *et al.*, 2012; Hernández-Zepeda *et al.*, 2013). Espécies do gênero *Begomovirus* têm um genoma composto por uma (monopartidos) ou duas (bipartidos) moléculas de ssDNA e são transmitidos pela mosca-branca *Bemisia tabaci* para as plantas dicotiledôneas (Rojas *et al.*, 2005; Stanley *et al.*, 2005).

A cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é de grande importância econômica para o Brasil, sendo o país o maior produtor desta hortaliça na América Latina, com aproximadamente 4,2 milhões de toneladas/ano (IBGE, 2015). Na última década, o cultivo do tomateiro tem sido grandemente afetado por um complexo de espécies virais do gênero *Begomovirus* (Ambrozevícius *et al.*, 2002). Este grupo de patógenos virais está atualmente associado com as doenças economicamente mais importantes para o cultivo do tomateiro do Brasil. A mosca-branca cosmopolita *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM 1 = ex-biótipo B) é uma das principais pragas e um importante vetor de muitos vírus em áreas tropicais e subtropicais (Navas-Castillo *et al.*, 2011). A ampla disseminação de *B. tabaci* MEAM 1 em todas as áreas produtoras de hortaliças do Brasil e o enorme número de plantas hospedeiras explicam, em parte, a transferência natural de begomovírus de ervas daninhas para o tomateiro e os altos níveis de diversidade de begomovírus que têm sido observados nesta cultura (Ribeiro *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2008; Fernandes, 2010).

Um elevado grau de relacionamento genético tem sido observado entre as espécies do complexo de begomovírus reportados infectando tomateiro no Brasil com espécies virais descritas infectando ervas daninhas frequentemente associadas com o cultivo desta hortaliça,

indicando a provável transferência natural de segmentos virais entre as diferentes plantas hospedeiras, mediada pelo vetor *B. tabaci* MEAM 1 (Ambrozevicius *et al.*, 2002; Ribeiro *et al.*, 2003). Neste contexto, a família Malvaceae apresenta uma relevante importância epidemiológica, estando, muito provavelmente, associada com a evolução de muitas doenças causadas por espécies de begomovírus registradas em plantas cultivadas. Algumas espécies de malváceas têm sido reportadas como hospedeiras de begomovírus em vários países das Américas (Frischmuth *et al.*, 1997; Jones, 2003; Fauquet *et al.*, 2008; Hernandez-Zepeda *et al.*, 2007). Além disso, alguns gêneros e espécies dentro da família Malvaceae apresentam importância econômica e podem sofrer severas perdas econômicas consideráveis devido à infecção por begomovírus, incluindo os gêneros *Gossypium* (algodoeiro); *Abelmoschus* (quiabeiro) e diversas espécies ornamentais do gênero *Hibiscus* (Mansoor *et al.*, 2006). Este estudo apresenta o primeiro relato de uma estirpe de um típico begomovírus de malváceas infectando, em condições naturais, o tomateiro no Brasil.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção dos isolados e análises iniciais do DNA viral**

O DNA total purificado de amostras de tomateiro provavelmente infectadas por begomovírus e apresentando sintomas de pontos cloróticos (**Figura 1**), coletadas em regiões produtoras do Estado do Amazonas (AM) e no Rio de Janeiro (RJ). Os ácidos nucleicos purificados foram analisados por reação em cadeia da polimerase (*Polymerase chain reaction*, PCR) usando inicialmente os pares de iniciadores universais 'PAL1v1978' e 'PAR1c496' para um segmento do DNA-A e 'PBL1v2040' e 'PCRC1' para um segmento do DNA-B (Rojas *et al.*, 1993). Os produtos de amplificação foram analisados em géis de agarose 1% (p/v), corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta. Estas amostras fazem parte da

coleção de trabalho de begomovírus do Laboratório de Melhoramento Vegetal da Embrapa Hortaliças, Brasília – DF, Brasil.

## **2.2. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação obtidos**

Após a confirmação da presença de begomovírus bipartidos nas amostras analisadas via PCR, os produtos da amplificação inicial para um segmento de aproximadamente 1200 pb do DNA-A foram diretamente sequenciados utilizando o protocolo BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems). As sequências nucleotídicas foram submetidas a uma busca no BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) para a comparação com as sequências disponíveis no banco de dados do GenBank e, posteriormente, foram analisadas para níveis de identidade para a atribuição da espécie. O alinhamento das sequências foi realizado por meio do MegAlign (DNASTAR, Lasergene, Madison, WI, USA), utilizando-se o método CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994).

## **2.3. Obtenção da sequência completa do componente DNA-A dos isolados selecionados para caracterização viral**

Baseado nos resultados de comparação de sequências, três isolados atípicos foram selecionados para a caracterização viral. A sequência completa do DNA-A dos isolados **AM-012** (coletado em Silves – AM, em 2007), **RJ-016** (São José do Ubá-RJ, em 2006) e **RJ-028** (coletado em Cambuci-RJ, em 2010) foi obtida via *primer walking*, utilizando a informação genômica disponível no GenBank. O sequenciamento foi realizado na Embrapa Hortaliças, utilizando quatro pares de iniciadores universais para begomovírus, sendo eles: ‘PAL1v1978’ e ‘PAR1c496’ (Rojas *et al.*, 1993); ‘BegoAFor1’ e ‘BegoARev1’ (Ha *et al.*, 2006) e mais dois pares de *primers* desenvolvidos e validados por Fonseca *et al.* (manuscrito em preparação) (**Figura 2**). Este conjunto de iniciadores é capaz de produzir fragmentos com vários segmentos que parcialmente se sobrepõem, permitindo a formação inequívoca dos *contigs*. Os *contigs* foram montados utilizando o programa SeqMan (DNASTAR, Lasergene, Madison, WI, USA).



A qualidade das sequências foi testada pelo SeqMan e visualmente pelo formato e intensidade dos picos e comparação entre os picos obtidos com pelo menos dois iniciadores distintos. As sequências correspondentes ao genoma completo do componente DNA-A dos isolados **AM-012**, **RJ-016** e **RJ-028** foram inicialmente analisadas com o algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) para determinar as espécies virais com a maior identidade. As identidades nucleotídicas das sequências foram determinadas utilizando CLUSTAL W.

#### **2.4. Alinhamento das sequências e análise filogenética**

Alinhamentos múltiplos, incluindo os isolados deste estudo e outros begomovírus das Américas (**Tabela 1**), foram obtidos utilizando o *plugin* do algoritmo *Muscle* presente no programa Geneious R8 (Kearse *et al.*, 2012). A árvore de análise por *Neighbor-joining* (NJ) (Saitou & Nei, 1987), com base no alinhamento do DNA-A, foi construída utilizando o *software* Geneious Tree Builder. Para identificar e colorir os clados, foi usado o *plugin* Species Delimitation versão 1.4.4 (Masters *et al.*, 2011). Análise de Bootstrap (1000 repetições) foi realizada para verificar a consistência de cada ramo de árvore. O programa MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013) foi utilizado para determinar o modelo de substituição de nucleotídeos com o melhor ajuste para cada conjunto de dados.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As begomoviroses são geralmente causadas por complexos de espécies virais nas diferentes regiões produtoras de tomate no mundo (Navas-Castillo *et al.*, 2011). Este grupo de patógenos virais está atualmente associado com as doenças de tomateiro economicamente mais importantes no Brasil. Amostras foliares de plantas de tomateiro para o mercado *in natura* exibindo manchas foliares cloróticas e mosaico amarelo foram coletadas durante pesquisas de campo nos municípios de São José do Ubá e Cambuci, duas regiões produtoras de tomate localizadas em áreas montanhosas que fazem fronteira com a região de Mata Atlântica no estado

do Rio de Janeiro. Sintomas semelhantes também foram observados no município Silves (AM), na Bacia do Rio Amazonas.

Segmentos genômicos de DNA-A e DNA-B foram amplificados através de PCR utilizando pares de iniciadores universais (Rojas *et al.*, 1993) e os resultados indicaram a presença exclusiva de espécies de begomovírus bipartidos em todas as amostras. As comparações das sequências nucleotídicas dos produtos de amplificação correspondentes ao componente genômico DNA-A ( $\approx 1200$  pb) dos isolados **AM-12** (obtido em Silves-AM, em 2007), **RJ-016** (São José do Ubá-RJ, em 2006) e **RJ-028** (obtido em Cambuci-RJ, em 2010) indicaram níveis de identidade de sequência nucleotídica que variam de 96 a 98% com o DNA-A do begomovírus bipartido Sida yellow net virus (SiYNV) (número de acesso GenBank JX871376), que foi previamente caracterizado infectando plantas da erva daninha *Sida micrantha* (Malvaceae), em Minas Gerais (MG) (Tavares *et al.*, 2012). Estes valores de identidade indicaram que estes isolados podem ser classificados como novos variantes de SiYNV (Fauquet *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2015).

A sequência completa do genoma do DNA-A dos isolados foi obtida via *primer walking*, usando a informação genômica do isolado de SiYNV disponível no GenBank (JX871376). A análise filogenética foi conduzida usando informações do genoma do DNA-A completo destes três isolados. Essa análise permitiu o posicionamento destes isolados como variantes de sequência de SiYNV que infectam tomateiro (**Figura 3 e 4**). Observou-se um elevado grau de relacionamento entre as espécies de begomovírus relatadas nas plantas de tomate com um subgrupo de espécies de ervas daninhas registradas muitas vezes associados com o cultivo desta hortaliça. Esta similaridade genética indica uma provável transferência natural de segmentos virais entre vírus de diferentes plantas hospedeiras. Na verdade, ervas daninhas da família das malváceas têm sido associadas com o aparecimento de novos begomovírus que infectam tomateiro sob condições naturais (Ambrozevicius *et al.*, 2002; Andrade *et al.*, 2006; Calegario

*et al.*, 2007). De fato, a infecção direta de plantas de tomate por begomovírus registrados e amplamente disseminados em espécies da família Malvaceae já foi previamente relatada em condições brasileiras, incluindo *Sida mottle virus* (SiMoV) e *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV) (Calegario *et al.*, 2004; Cotrim *et al.*, 2007). No entanto, a nosso conhecimento, este é o primeiro relato formal de *S. lycopersicum* como hospedeiro natural de SiYNV. A presença de SiYNV em amostras foliares de tomateiro em duas regiões geograficamente e ecologicamente distintas (Rio de Janeiro e do Estado do Amazonas), sugere que esse vírus pode tornar-se uma ameaça potencial para esta hortaliça. No Rio de Janeiro, severas perdas foram observadas em plantas da cultivar 'Alambra', infectada por SiYNV (**Figura 1**). Além disso, este vírus foi associado com surtos graves em duas áreas de produção de tomate (São José do Ubá-RJ e Cambuci-RJ) em levantamentos conduzidos em dois anos distintos (2006 e 2010), indicando que o vírus pode ter competência epidemiológica para se estabelecer em condições naturais.

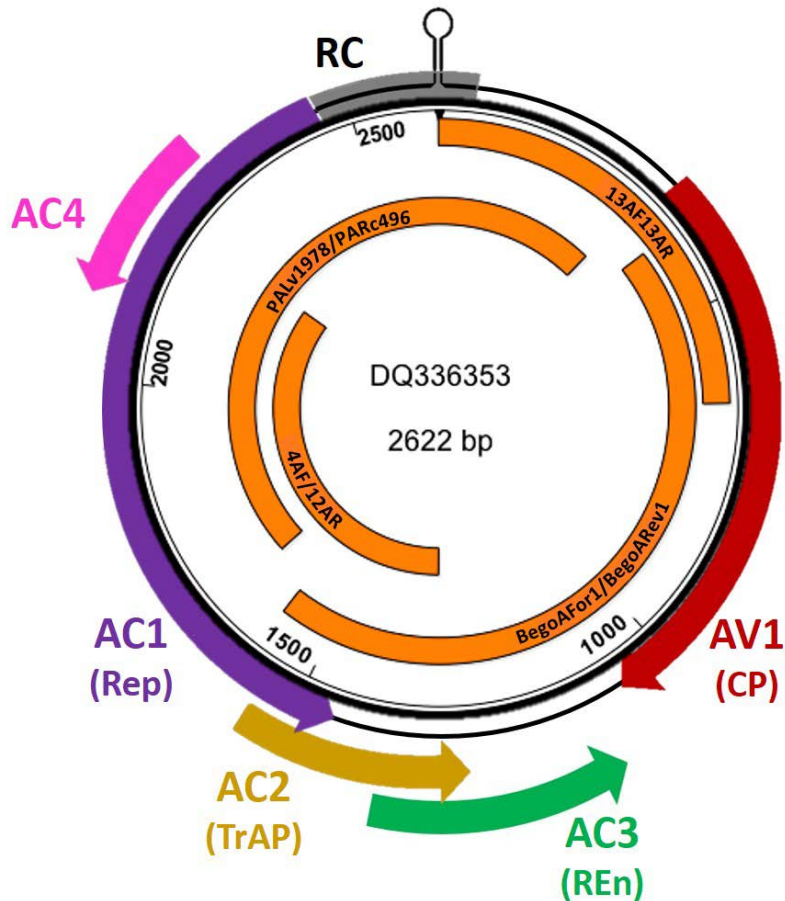
No Brasil, espécies da família Malvaceae têm sido registradas como hospedeiras de begomovírus desde o século passado (Costa & Bennett, 1950; Costa & Carvalho, 1955; Costa, 1955; Costa, 1976). Isolados virais obtidos no país em espécies do gênero *Sida* vêm sendo caracterizados a nível molecular e os resultados têm demonstrado que um complexo de espécies de begomovírus está presente nesta hospedeira (Jovel *et al.*, 2004; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008). Além disso, plantas invasoras da família Malvaceae estão frequentemente associadas com várias culturas hortícolas tipicamente afetadas por geminivirose, podendo, desta forma, servir como potenciais fontes de inóculo (Ambrozevícius *et al.*, 2002; Jovel *et al.*, 2004; Castillo-Urquiza *et al.*, 2008).

Essa ocorrência de SiYNV em tomateiro ressalta, mais uma vez, a importância epidemiológica de ervas daninhas, muitas vezes associadas com a cultura devido a natural tolerância aos herbicidas aplicados. Essas plantas podem funcionar como reservatórios

alternativos de espécies de begomovírus em condições brasileiras (Fernandes, 2010; Barreto *et al.*, 2013; Fernandes-Acioli *et al.*, 2014). Será interessante investigar se as fontes de resistência disponíveis em programas de melhoramento do tomateiro contra espécies bipartidas neotropicais (Giordano *et al.*, 2005; Boiteux *et al.*, 2007; Garcia-Cano *et al.*, 2008; Pereira-Carvalho *et al.*, 2010; 2015) também se mostram eficazes contra isolados de SiYNV.



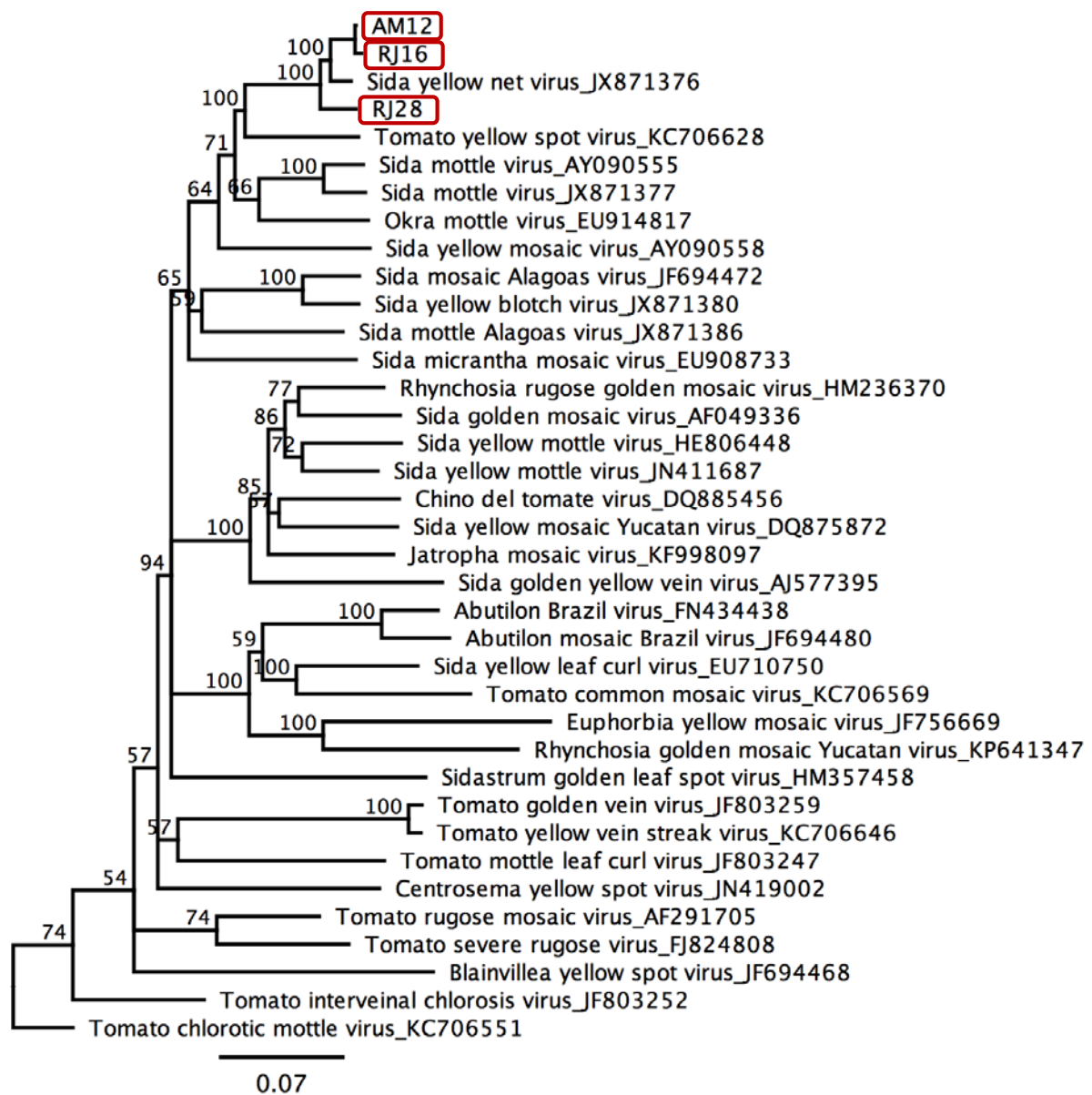
**Figura 1.** Plantas de tomate com sintomas induzidos pela infecção de Sida yellow net virus (SiYNV) em campos comerciais no estado do Rio de Janeiro.



**Figura 2** – Diagrama do componente DNA-A típico de um begomovírus de genoma bipartido deo Novo Mundo. Os círculos representam o genoma viral e as setas coloridas indicam as respectivas ORFs (*Open Reading Frames*) no sentido viral (V) e complementar (C). AV1, CP (proteína capsidial); AC1, Rep (proteína associada à replicação); AC2, TrAP (proteína ativadora da transcrição); C3 ou AC3, REn, (proteína potenciadora de replicação); AC4 (proteína determinante de sintoma). As barras em cor laranja representam as regiões amplificadas por quatro pares de iniciadores universais: PALv1978/PARc496 (Rojas *et al.* 1993); BegoAFor1/BegoARev1 (Ha *et al.*, 2006) e mais dois novos pares de iniciadores (4AF/12AR e 13AF/13AR) desenvolvidos e validados por M.E.N. Fonseca *et al.* (manuscrito em preparação).

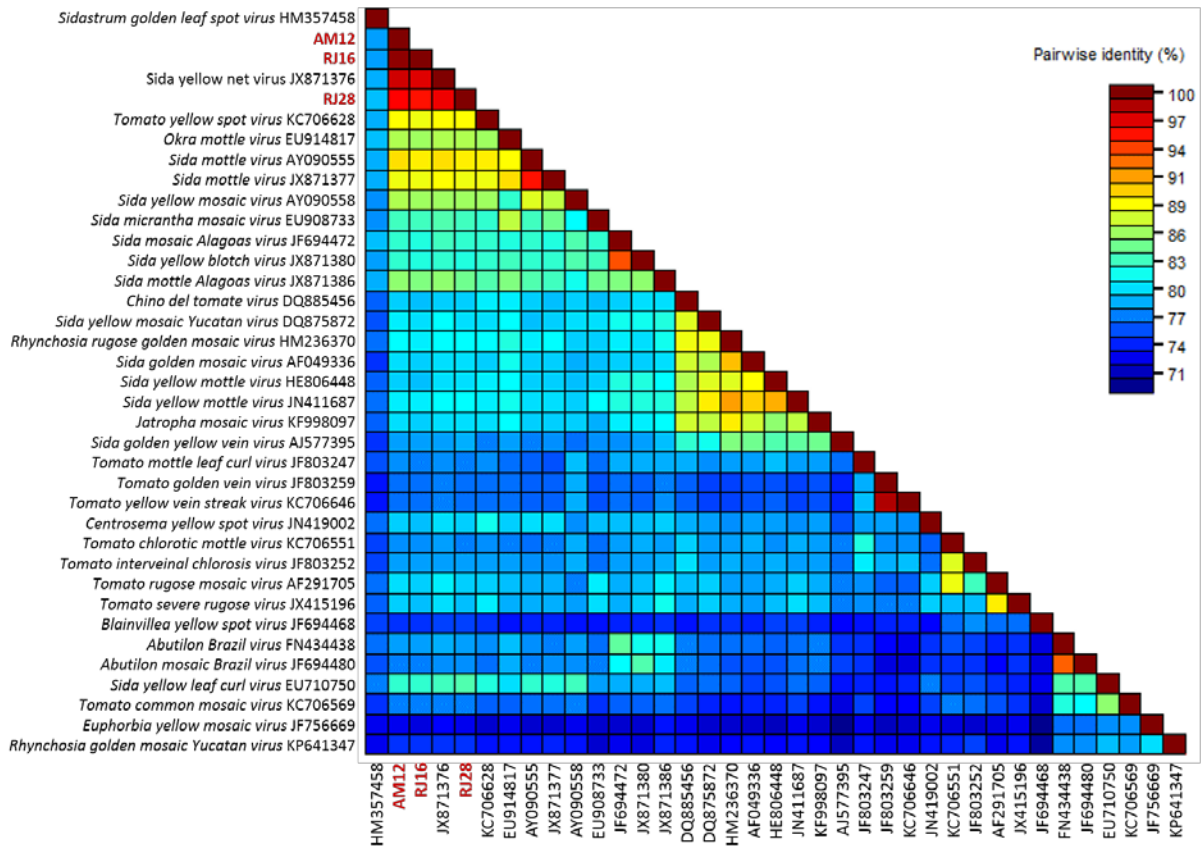
**Tabela 1** – Lista dos 34 begomovírus utilizados na análise filogenética a partir da informação do DNA-A completo de cada espécie. A árvore filogenética incluiu os três novos variantes de sequência de Sida yellow net virus (JX871376), representados pelos isolados **AM-012**, **RJ-016** e **RJ-028**.

Nome do vírus	Número de acesso	Acrônimo	País	Sigla país
<i>Abutilon Brazil virus</i>	FN434438	AbBrV	Brasil	BR
<i>Abutilon mosaic Brazil virus</i>	JF694480	AbMBrV	Brasil	BR
<i>Blainvillea yellow spot virus</i>	JF694468	BIYSV	Brasil	BR
<i>Centrosema yellow spot virus</i>	JN419002	CenYSV	Brasil	BR
<i>Chino del tomate virus</i>	DQ885456	CdTV	México	MX
<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>	JF756669	EuYMV	Brasil	BR
<i>Jatropha mosaic virus</i>	KF998097	JMV	Estados Unidos	US
<i>Okra mottle virus</i>	EU914817	OMoV	Brasil	BR
<i>Rhynchosia rugose golden mosaic virus</i>	HM236370	RhRGMV	Cuba	CU
<i>Rhynchosia golden mosaic Yucatan virus</i>	KP641347	RhGMYuV	Jamaica	JM
<i>Sida golden mosaic virus</i>	AF049336	SiGMV	Brasil	BR
<i>Sida golden yellow vein virus</i>	AJ577395	SiGYVV	Cuba	CU
<i>Sida micrantha mosaic virus</i>	EU908733	SiMMV	Brasil	BR
<i>Sida mosaic Alagoas virus</i>	JF694472	SiMAIV	Brasil	BR
<i>Sida mottle Alagoas virus</i>	JX871386	SiMoAlV	Brasil	BR
<i>Sida mottle virus</i>	AY090555	SiMoV	Brasil	BR
<i>Sida mottle virus</i>	JX871377	SiMoV	Brasil	BR
<i>Sida yellow blotch virus</i>	JX871380	SiYBV	Brasil	BR
<i>Sida yellow leaf curl virus</i>	EU710750	SiYLCV	Brasil	BR
<i>Sida yellow mosaic virus</i>	AY090558	SiYMV	Brasil	BR
<i>Sida yellow mottle virus</i>	HE806448	SiYMoV	Cuba	CU
<i>Sida yellow mottle virus</i>	JN411687	SiYMoV	Cuba	CU
<b>Sida yellow net virus</b>	JX871376	SiYNV	Brasil	BR
<i>Sida yellow mosaic Yucatan virus</i>	DQ875872	SiYMYuV	México	MX
<i>Sidastrum golden leaf spot virus</i>	HM357458	SiGLSV	Brasil	BR
<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	KC706551	ToCMoV	Brasil	BR
<i>Tomato common mosaic virus</i>	KC706569	ToCmMV	Brasil	BR
<i>Tomato golden vein virus</i>	JF803259	ToGVV	Brasil	BR
<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	JF803252	ToICV	Brasil	BR
<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	JF803247	ToMoLCV	Brasil	BR
<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	AF291705	ToRMV	Brasil	BR
<i>Tomato severe rugose virus</i>	FJ824808	ToSRV	Brasil	BR
<i>Tomato yellow spot virus</i>	KC706628	ToYSV	Brasil	BR
<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	KC706646	ToYVSV	Brasil	BR



**Figura 3** – Árvore filogenética obtida a partir da informação do genoma completo do componente genômico DNA-A de 34 espécies de begomovírus, incluindo o posicionamento filogenético dos novos variantes de sequência de Sida yellow net virus (JX871376), representados pelos isolados **AM-012**, **RJ-016** e **RJ-028**.





**Figura 4** – Matriz representando a identidade nucleotídica obtida a partir da informação do componente genômico DNA-A completo de 34 espécies de begomovírus e dos novos variantes de sequência de Sida yellow net virus (JX871376), representados pelos isolados **AM-012**, **RJ-016** e **RJ-028**.

#### 4. LITERATURA CITADA

- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403–410.
- AMBROZEVICIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G. & ZERBINI, F.M. 2002. Genetic diversity of *Begomovirus* infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:372–377.
- ANDRADE, E.C.; MANHANI, G.G.; ALFENAS, P.F.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B. & ZERBINI, F.M. 2006. Tomato yellow spot virus, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. *Journal of General Virology* 87:3687–3696.
- BARRETO, S.S.; HALLWASS, M.; AQUINO, O.M. & INOUE-NAGATA, A K. 2013. A study of weeds as potential inoculum sources for a tomato-infecting begomovirus in central Brazil. *Phytopathology* 103:436–444.
- BOITEUX, L.S.; OLIVEIRA, V.R.; SILVA, C.H.; MAKISHIMA, N.; INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N. & GIORDANO, L.B. 2007. Reaction of tomato hybrids carrying the *Ty-1* locus to Brazilian bipartite *Begomovirus* species. *Horticultura Brasileira* 25:20–23.
- BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; ZERBINI, F.M.; MORIONES, E. & NAVAS- CASTILLO, J. 2012. Family *Geminiviridae*. In: King, A.M.Q.; Adams, M.J.; Carstens, E.B. & Lefkowitz, E.J. (eds). *Virus Taxonomy 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press. London, United Kingdom. p. 351–373.
- BROWN, J.K.; ZERBINI, F.M.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; RAMOS-SOBRINHO, R.; SILVA, J.C.F.; FIALLO-OLIVE, E.; BRIDDON, R.W.;

- HERNANDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; MALATHI, V.G.; MARTIN, D.P.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; UEDA, S. & VARSANI, A. 2015. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593–1619.
- CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C. & ZERBINI, F.M. 2004. Caracterização de um isolado do *Begomovirus Sida micrantha virus* (SimMV) obtido de tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 29:150.
- CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C. & ZERBINI, F.M. 2007. Characterization of Tomato yellow spot virus, a novel tomato-infecting begomovirus in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42:1335–1343.
- CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JR, J.E.A.; BRUCKNER, F.P.; LIMA, A.T.M.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P. & ZERBINI, F.M. 2008. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Archives of Virology* 153:1985–1989.
- COSTA, A.S. 1955. Studies on *Abutilon* mosaic in Brazil. *Phytopathologische Zeitschrift* 24:97–112.
- COSTA, A.S. 1976. Whitefly-transmitted plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 14:429-440.
- COSTA, A.S. & BENNETT, C.W. 1950. Whitefly transmitted mosaic of *Euphorbia prunifolia*. *Phytopathology* 40:266–283.
- COSTA, A.S. & CARVALHO, A.M. 1955. Comparative studies between *Abutilon* and *Euphorbia* mosaic viruses. *Phytopathologische Zeitschrift* 38:129-132.
- COTRIM, A.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; NARITA, N.; ZERBINI, F.M. & PAVAN, M.A. 2007. Diversidade genética de begomovírus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. *Summa Phytopathologica* 33:300–303.

- FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, M. & ZHOU, X. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology* 153:783–821.
- FERNANDES, N.A.N. 2010. Variabilidade genômica e geográfica de espécies de begomovírus em tomateiro e em dois gêneros de plantas daninhas no Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil.
- FERNANDES-ACIOLI, N.A.N.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; SEGNANA, L.R.G. & KITAJIMA, E.W. 2014. Report of Tomato yellow spot virus infecting *Leonurus sibiricus* in Paraguay and within tomato fields in Brazil. *Plant Disease* 98:1445.
- FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; AVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite *Begomovirus* species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251–258.
- FRISCHMUTH, S.; FRISCHMUTH, T.; LAUSTER, S. & JESKE, H. 1997. Nucleotide sequence evidence for the occurrence of three distinct whitefly-transmitted Sida-infecting bipartite geminiviruses in Central America. *Journal of General Virology* 78:2675-2682.
- GARCÍA-CANO, E.; RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; GIORDANO, L.B.; 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, L.B.; SILVA-LOBO, V.L.; SANTANA, F.M.; FONSECA, M.E.N. & BOITEUX L.S. 2005. Inheritance of resistance to bipartite *Tomato chlorotic mottle begomovirus* derived from *Lycopersicon esculentum* cv. ‘Tyking’. *Euphytica* 143:27–33.
- 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.

- HERNANDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.M.; CARNEVALI, G.; BROWN, J.K. & MORENO-VALENZUELA, O.A. 2007. Molecular characterization and phylogenetic relationships of two new bipartite begomovirus infecting malvaceous plants in Yucatan, Mexico. *Virus Genes* 35:369–377.
- HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C.; VARSANI, A. & BROWN, J.K. 2013. Intergeneric recombination between a new, spinach-infecting curtovirus and a new geminivirus belonging to the genus *Becurtovirus*: first New World exemplar. *Archives of Virology* 158:2245–2254.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro: 1-81. 29:1-83
- JONES, D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109:195–219.
- JOVEL, J.; RESKI, G.; ROTHENSTEIN, D.; RINGEL, M.; FRISCHMUTH, T. & JESKE, H. 2004. *Sida micrantha* mosaic is associated with a complex infection of begomoviruses different from *Abutilon mosaic virus*. *Archives of Virology* 149:829-841.
- KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MENTJIES, P. & DRUMMOND, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647–1649.
- MANSOOR, S.; ZAFAR, Y. & BRIDDON RW. 2006. Geminivirus disease complexes: the threat is spreading. *Trends in Plant Science* 11:209-212.
- MASTERS, B.C.; FAN, V. & ROSS, H.A. 2011. Species Delimitation - a Geneious plugin for the exploration of species boundaries. *Molecular Ecology Resources* 11:154–157.

- NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVE, E. & SANCHEZ-CAMPOS, S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219–248.
- PEREIRA-CARVALHO, R.C.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; DÍAZ-PENDÓN, J.A.; MORIONES, E.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; CHARCHAR, J.M. & RESENDE, R.O. 2010. Multiple resistance to *Meloidogyne* spp. and to bipartite and monopartite *Begomovirus* spp. in wild *Solanum* (*Lycopersicon*) accessions. *Plant Disease* 94:179–185.
- PEREIRA-CARVALHO, R.C.; DÍAZ-PENDÓN, J.A.; FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S.; FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; MORIONES, E. & RESENDE, R.O. 2015. Recessive resistance derived from tomato cv. Tyking limits drastically the spread of Tomato yellow leaf curl virus. *Viruses* 7:2518–2533
- RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVICIUS, L.P.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H. & ZERBINI, F.M. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 148: 281–295.
- ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSEL, D.R. & MAXWELL, D. 1993. Use of degenerated primers in the Polymerase Chain Reaction to detect whitefly-transmitted Geminiviruses. *Plant Disease* 77: 340–347.
- ROJAS, M.R.; HAGEN, C.; LUCAS, W.J. & GILBERTSON, R.L. 2005. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 43:361–394.
- SAITOU, N. & NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406–425.
- STANLEY, J.; BISARO, D.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; HARRISON, B.D.; RYBICKI, E.P. & STENGER, D.C. 2005. Geminiviridae. *In*: FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U. & BALL, L.A.

- (eds). Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier/Academic Press. London, UK. p. 301–326.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution* 30: 2725–2729.
- TAVARES, S.S., RAMOS-SOBRINHO, R., GONZÁLEZ-AGUILERA, J., LIMA, G.S.A., ASSUNÇÃO, I.P., ZERBINI, F.M. 2012. Further molecular characterization of weed-associated begomoviruses in Brazil with an emphasis on *Sida* spp. *Planta Daninha* 30:305–315.
- THOMPSON, J.D., HIGGINS, D.G. & GIBSON, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673–4680.

# CAPÍTULO 5

---

---

**ANÁLISE DO GENE mtCOI DE POPULAÇÕES DE  
MOSCA-BRANCA EM TOMATEIRO NO BRASIL INDICA A  
PREDOMINANTE PRESENÇA DE *Bemisia tabaci* MEAM 1  
EM ASSOCIAÇÃO COM MÚLTIPLAS ESPÉCIES DE  
BEGOMOVÍRUS DE GENOMA BIPARTIDO**



**Análise do gene mtCOI de populações de mosca-branca em tomateiro no Brasil indica a predominante presença de *Bemisia tabaci* MEAM 1 em associação com múltiplas espécies de begomovírus de genoma bipartido.**

**RESUMO**

As espécies do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) são transmitidas por um complexo de espécies crípticas de mosca-branca (*Bemisia tabaci* Gennadius) e causam danos significativos em diversas plantas dicotiledôneas, incluindo o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.). Graves surtos populacionais de *B. tabaci* são geralmente acompanhados de uma alta incidência de begomovírus. No Brasil, a introdução na década de 1990 da espécie *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM 1 = biótipo B) favoreceu uma rápida e ampla disseminação de um complexo de cerca de duas dezenas de espécies de *Begomovirus* para todas as principais áreas produtoras de tomate. Essa ampla variabilidade de espécies virais sugere uma potencial diversidade biológica do inseto vetor. Do ponto de vista do estabelecimento de sistemas de controle químico e genéticos eficientes, um conhecimento mais detalhado da variabilidade desse complexo vetor/vírus é de extremo interesse. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi caracterizar a diversidade molecular de populações de *B. tabaci* e das espécies de *Begomovirus* associadas com esse inseto vetor em diferentes regiões onde o tomateiro tem sido cultivado no Brasil. A análise das sequências do gene mitocondrial citocromo oxidase 1 (mtCOI) obtidas de ovos e ninfas de 62 populações de mosca-branca coletadas em tomateiros infestados indicou uma alta identidade (entre 99 e 100%) com a sequência consenso para populações da espécie MEAM 1. Outras espécies de *B. tabaci* indígenas/nativas já descritas nos Neotrópicos não foram detectadas infestando o tomateiro em todas as regiões geográficas amostradas. Estes resultados sugerem que as espécies nativas aparentemente não apresentam competência epidemiológica para se estabelecerem e/ou predominarem nas diferentes

condições de cultivo do tomateiro no Brasil. A exclusiva presença de *B. tabaci* MEAM 1 está de acordo com um prévio registro sobre a diversidade de espécies de mosca-branca infestando o tomateiro e outras hortaliças e grandes culturas na América do Sul. A espécie *B. tabaci* Mediterranean (MED = biótipo Q) já foi detectada no cone Sul do continente sul-americano, no entanto, esta espécie vetora ainda não foi constatada em tomateiro nas principais regiões do Brasil, indicando que o ingresso da espécie MED no continente se fez por vias diferentes daquela observada para a espécie MEAM 1. Embora não tenha sido observada diversidade significativa nas populações de *B. tabaci* infestando o tomateiro, os dados de sequenciamento do DNA-A dos isolados virais presentes nas plantas infestadas indicaram a associação das diferentes populações do inseto vetor com um complexo de seis espécies de begomovírus previamente descritas (*Tomato mottle leaf curl virus*; *Tomato interveinal chlorosis virus*; *Tomato severe rugose virus*; *Tomato common mosaic virus*; *Tomato chlorotic mottle virus* e *Tomato golden vein virus*) e também uma possível nova espécie viral. Esse é o primeiro trabalho extensivo que relaciona a ocorrência de *B. tabaci* com a diversidade de espécies de begomovírus presentes no cultivo do tomateiro em regiões Neotropicais. Esses resultados, obtidos em condições naturais, corroboram a extraordinária capacidade/habilidade de *B. tabaci* MEAM 1 em transmitir uma ampla gama de espécies de begomovírus e explicam, em parte, a grande quantidade e severidade das epidemias deste grupo de patógenos após a invasão desta peste exótica no Brasil.

Palavras-chave: *Bemisia tabaci*; diversidade; Middle East–Asia Minor 1 (MEAM 1); mtCOI; tomate.

**Analysis of the mtCOI gene in tomato-infesting whitefly populations from Brazil indicates the predominant presence of *Bemisia tabaci* MEAM 1 in association with multiple bipartite begomovirus species.**

## **ABSTRACT**

Viral species of the genus *Begomovirus* (family *Geminiviridae*) are transmitted by a complex of cryptic whitefly (*Bemisia tabaci*) species. These viruses can cause significant damage in many dicotyledonous plants, including tomato (*Solanum lycopersicum* L.). In Brazil, serious whitefly infestations are usually accompanied by outbreaks of begomoviruses in tomato crops, especially after the biological invasion of *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM 1 = B biotype) in the early 1990s. This cryptic species favored a substantial spread to major tomato producing areas of a complex comprising around 20 begomovirus species. This wide variability of viral species suggests a potential biological diversity of the vector. From the view point of establishing efficient chemical and genetic resistance control systems, a more detailed knowledge of the variability of this virus/vector complex is of extreme interest. In this context, the objective of the present study was to characterize the molecular diversity of *B. tabaci* populations as well as the begomovirus species associated with this insect vector in different tomato-producing regions of Brazil. Partial sequences of the mitochondrial cytochrome oxidase 1 (mtCOI) gene was obtained through PCR using as template the total DNA purified from eggs and nymphs of 62 tomato-infesting whitefly populations collected in nine States and in The Federal District. The analysis indicated high identity levels (from 99 to 100%) with the consensus sequence of *B. tabaci* MEAM 1. Other sequences of indigenous/native *B. tabaci* species already described in the Neotropics were not found infesting tomato plants in all surveyed geographic regions. These results suggest that apparently these native species do not have epidemiological competence to colonize tomato plants under the different conditions of

cultivation in Brazil. The exclusive presence of *B. tabaci* MEAM 1 infesting tomatoes agrees with previous reports on the diversity of whitefly species in this crop as well as in other vegetables and field crops in South America. The exotic species *B. tabaci* Mediterranean (MED = Q biotype) was recently reported infesting tomatoes of the Southern cone of the South America. However, *B. tabaci* MED was not observed in all major tomato-producing regions of Brazil, indicating that the route of invasion of these two exotic whitefly species into the Neotropics were quite distinct. Although a significant diversity was not observed in whitefly populations associated with tomatoes, the data from DNA-A genome sequencing of the viral isolates present in plants infested with *B. tabaci* MEAM 1 indicated the association of this vector species with a complex of six previously described bipartite *Begomovirus* species (viz. *Tomato mottle leaf curl virus*; *Tomato interveinal chlorosis virus*; *Tomato severe rugose virus*; *Tomato common mosaic virus*; *Tomato chlorotic mottle virus*, and *Tomato golden vein virus*) and also some potentially new viral species. According to our knowledge, this is the first extensive work describing this vector-virus complex in Neotropical areas. These results (obtained under natural conditions) confirm the extraordinary ability of *B. tabaci* MEAM 1 populations in transmitting a wide range of bipartite begomoviruses and may partially explain the profuse and severe occurrence of outbreaks in the tomato crop after invasion of this exotic pest into Brazil.

Key-words: *Bemisia tabaci*; diversity; Middle East–Asia Minor 1; mtCOI gene; tomato.

## 1. INTRODUÇÃO

A mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) é um inseto da ordem Hemiptera, família Aleyrodidae, que suga a seiva do floema das plantas hospedeiras e vive predominantemente em espécies herbáceas (Jones, 2003). As espécies de mosca-branca são cosmopolitas e polípagas, sendo considerada como uma das mais importantes pragas agrícolas do mundo (Jones, 2003; Ghanim *et al.*, 2007; Dinsdale *et al.*, 2010). *Bemisia tabaci* pode causar danos diretos às culturas ao se alimentar da seiva, provocando alterações no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da planta. Outro dano direto está relacionado com a excreção de substâncias açucaradas (*honeydew*) que cobrem as folhas e favorecem o desenvolvimento da fumagina (*Capnodium* sp.), o que leva à redução do processo fotossintético e do valor comercial das culturas (Villas Bôas *et al.*, 2002). Em tomate ocorre também o amadurecimento irregular dos frutos, o que dificulta o reconhecimento do ponto de colheita e reduz a produção e a qualidade da pasta, após o processamento (Villas Bôas *et al.* 1997). No entanto, o dano mais sério causado por mosca-branca é o chamado dano indireto, através da transmissão de um grande número de patógenos virais, pertencentes aos gêneros *Begomovirus*, *Carlavirus*, *Crinivirus*, *Ipomovirus* e *Torradovirus* (Jones, 2003; Navas-Castillo *et al.*, 2011).

Atualmente, *B. tabaci* vem sendo considerada como um complexo de espécies, visto que nenhum caráter morfológico, tanto na fase juvenil quanto na fase adulta, pode ser utilizado para distinguir as diferentes variantes deste inseto (Rosell *et al.*, 1997; Brown, 2000). Técnicas moleculares e fisiológicas, assim como diferenças na gama de hospedeiros e/ou na especialização por hospedeiros, o grau de fecundidade, a variabilidade da eficiência de transmissão do vírus e a capacidade de causar fitotoxicidade, têm sido utilizados para distinguir os chamados biótipos de *B. tabaci* (Brown, 2000). Como as características biológicas são difíceis de serem testadas e reproduzidas entre diferentes laboratórios, o método atualmente disponível com maior reprodutibilidade e mais informativo para se determinar a filiação de um

indivíduo de *B. tabaci* é baseado na informação genética fornecida pela sequência do gene mitocondrial citocromo oxidase 1 (mtCOI) (De Barro *et al.*, 2011). Dinsdale *et al.* (2010) sugerem que os indivíduos com divergência igual ou maior que 3,5% para o gene mtCOI pertencem a diferentes espécies. Com base na sequência parcial do gene mtCOI, geralmente tem sido aceito que, ao invés de um complexo de espécies, *B. tabaci* é um complexo de 11 grupos genéticos de alto nível, contendo pelo menos 36 espécies morfologicamente indistinguíveis (= crípticas), todas separadas por um mínimo de 3,5% de divergência nucleotídica no gene mtCOI (Dinsdale *et al.*, 2010; De Barro *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2011; Alemandri *et al.*, 2012; Boykin *et al.*, 2012; Tay *et al.*, 2012; Barbosa *et al.*, 2014).

A estrutura de espécies proposta por Dinsdale *et al.* (2010) também é apoiada pela evidência de incompatibilidade reprodutiva entre alguns dos grupos genéticos (Xu *et al.*, 2010) ou ainda, pela redução no desempenho biológico da progênie (De Barro & Hart 2000; Elbaz *et al.* 2010; Wang *et al.*, 2011). Os atuais critérios de classificação, com base em marcadores moleculares, sugerem que o uso do termo biótipo não é adequado (De Barro *et al.*, 2011; Marubayashi *et al.*, 2013). Assim, dentro do complexo *B. tabaci*, o polífago biótipo B pertence à espécie críptica “Middle East-Asia Minor 1” (MEAM 1). Por sua vez, o biótipo Q pertence à espécie “Mediterranean” (MED) e os diferentes biótipos nativos das Américas (A, C, D, F, Jatropha, N, R e Sida) pertencem às espécies “New World” (NW) (Barbosa *et al.*, 2014; Marubayashi *et al.*, 2013) e “NewWorld 2” (NW2) (Barbosa *et al.*, 2014).

No Brasil, as populações de *B. tabaci* pertencentes às espécies MEAM 1 são predominantes e encontram-se distribuídas por todo o país, mas as duas espécies nativas, NW e NW2 também foram relatadas em diferentes localidades do Brasil e na América Latina (Barbosa *et al.*, 2014). Até agora, apenas as espécies NW, NW2, MEAM 1 e, mais recentemente, MED, foram relatadas em hortaliças no Brasil (Rocha *et al.*, 2011; Valle *et al.*,

2011; Barbosa *et al.*, 2014; Barbosa *et al.*, 2015). A espécie MED, até o presente momento não foi detectada infestando o tomateiro no Brasil.

No Brasil, a introdução na década de 1990 da espécie *B. tabaci* MEAM 1 favoreceu a rápida e ampla disseminação de um complexo de cerca de duas dezenas de espécies de *Begomovirus* para todas as principais áreas produtoras de tomate (Brown *et al.*, 2015). Essa ampla variabilidade de espécies virais sugere uma potencial diversidade biológica do inseto vetor. Do ponto de vista do estabelecimento de sistemas de controle químico e genético eficientes, o conhecimento mais detalhado da variabilidade desse complexo vetor/vírus é de extremo interesse. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi caracterizar molecularmente a ocorrência de populações de *B. tabaci* e das espécies de *Begomovirus* associadas com esse inseto vetor em diferentes regiões produtoras de tomate no país.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção dos isolados de begomovírus**

Sessenta e duas amostras foliares de tomateiro colonizadas por *B. tabaci* e apresentando sintomas típicos de infecções causadas por espécies de *Begomovirus*, tais como clorose internerval, deformação foliar, mosaico amarelo apical, rugosidade e nanismo, foram coletadas em dez estados brasileiros (Roraima, Tocantins, Bahia, Pernambuco, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás, Paraná e Santa Catarina) e no Distrito Federal, durante os anos de 2003 a 2013 (**Tabela 1**). Foram coletadas as folhas mais jovens, correspondentes à região do ponteiro das plantas.

### **2.2. Análise do DNA do inseto vetor presente em tecido foliar de tomateiros infestados**

O DNA total foi purificado de folhas jovens de tomateiro sintomáticas, contendo ovos e ninfas, mas isentas de adultos de *B. tabaci*. O DNA extraído foi submetido à reação em cadeia

da polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR). Parte do gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (mtCOI) foi amplificado utilizando os iniciadores específicos CI-J-2195-FW e L2-N-3014-RV (Simon *et al.*, 1994), produzindo um fragmento de 860 pb. Os produtos de amplificação foram visualizados em géis de agarose 1% (p/v), corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta (Ambrozevicius *et al.*, 2002).

### **2.3. Reações de sequenciamento com os produtos de amplificação**

Os produtos de amplificação para um segmento de cerca de 860 pb do gene mtCOI, obtidos com os iniciadores específicos, foram diretamente sequenciados utilizando o protocolo BigDye® *Terminator* v3.1 *Cycle Sequencing Ready Reaction Kit* (Applied Biosystems). O sequenciamento foi realizado em sequenciador ABI PRISM 3100 da Embrapa Hortaliças (CNPq), utilizando o *kit* *ABI Prism BigDye version 3.0 Chemistry* (Applied Biosystems). As sequências *forward* e *reverse* de cada material foram usadas na criação de uma sequência consenso, usando o programa Geneious R8 (Kearse *et al.*, 2012). Bases ambíguas foram verificadas e corrigidas manualmente, usando o cromatograma de ambas as sequências. As sequências com baixa qualidade foram removidas da análise.

### **2.4. Comparações de sequências**

As sequências nucleotídicas do DNA dos insetos foram inseridas no programa Geneious R8 (Kearse *et al.*, 2012). Para confirmação prévia de etiologia, foi usado o *plugin* do BLAST no Geneious R8, pela opção MegaBlast, avaliando-se os dez primeiros hits gerados.

### **2.5. Banco de sequências de referências de Aleirodídeos**

Sequências representativas dos diferentes grupos de espécies propostos por Dinsdale *et al.* (2010), Hu *et al.* (2011), Alemandri *et al.* (2012), Chowda-Reddy *et al.* (2012), Firdaus *et al.* (2012) e Boykin & De Barro (2014) foram selecionadas. Após essa busca, as sequências foram renomeadas por acesso/país e origem/espécie. Outras espécies de aleirodídeos foram selecionadas como *outgroups*: *Aleurocanthus camelliae*, *Aleurocanthus spiniferus*,



*Aleurochiton aceris*, *Aleurodicus dispersus*, *Aleurodicus dugesii*, *Aleurotrachelus camelliae*, *Tetraleurodes acaciae*, *Neomaskellia andropogonis*, *Vasdavivus concursus*, *Bemisia afer*, *Bemisia berbericola*, *Bemisia tuberculata*, *Bemisia emiliae*, *Trialeurodes abutilonea* e *Trialeurodes vaporariorum*.

## **2.6. Alinhamento das sequências e análise filogenética**

As 62 sequências deste estudo, mais as 237 sequências de referência e 15 *outgroups*, totalizando 317 sequências, foram alinhadas pelo *plugin* do algoritmo *Muscle* presente no Geneious R8, usando os parâmetros padrões desse. Após esse processo, o alinhamento foi corrigido manualmente, com cortes das extremidades, mantendo todas as sequências com mesmo tamanho, finalizando com um total de 657 bases. A árvore filogenética foi construída utilizando o programa Geneious R8, pelo método de *Neighbor-joining* (NJ) (Saitou & Nei, 1987). Foi utilizado o índice de suporte *bootstrap* com 10.000 repetições (Felsenstein, 1985). Todos os espaços (*gaps*) gerados no alinhamento foram considerados na construção das árvores. O modelo Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) (1985) foi selecionado com a ajuda do programa MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013) e utilizado na análise filogenética. As sequências geradas nesse estudo foram marcadas em azul para facilitar a visualização na árvore.

## **2.7. Análises do isolados virais associados com as populações de mosca-branca**

O DNA total purificado de folhas de tomateiro sintomáticas de todos os isolados foi submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR), amplificando segmentos dos DNA-A e DNA-B viral. Os pares de iniciadores universais utilizados foram: ‘PAL1v1978’ e ‘PAR1c496’ para um segmento do DNA-A e ‘PBL1v2040’ e ‘PCRC1’ para um segmento do DNA-B (Rojas *et al.*, 1993). Os produtos de amplificação foram analisados em géis de agarose 1% (p/v), corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta. Os produtos de amplificação para um segmento de aproximadamente 1200 pb do DNA-A, obtidos com os iniciadores universais de Rojas *et al.* (1993) foram diretamente sequenciados utilizando o protocolo

BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems). Sequências nucleotídicas do DNA-A dos begomovírus foram inicialmente submetidas a uma busca no BLAST $n$  para a comparação com as sequências disponíveis no banco de dados do GenBank e, posteriormente, foram analisadas para níveis de identidade para a atribuição da espécie. O alinhamento das sequências foi realizado por meio do MegAlign (DNASTAR, Lasergene, Madison, WI, USA), utilizando-se o método CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Levantamentos de populações de *B. tabaci* infestando o tomateiro foram conduzidos entre 2003 e 2013, nas principais regiões produtoras do Distrito Federal e mais dez estados do Brasil (**Tabela 1**). Na análise por CLUSTAL W, todas as sessenta e duas sequências parciais do gene mtCOI obtidas neste levantamento apresentaram alta identidade de sequência nucleotídica (entre 99 e 100%) com a sequência consenso para populações da espécie “Middle East-Asia Minor 1” (MEAM 1), previamente classificadas como *B. tabaci* biótipo B. Assim, considerando um mínimo de 3,5% de divergência nucleotídica no gene mtCOI para as espécies, todos estes exemplares brasileiros poderiam ser considerados membros da espécie MEAM 1 (**Tabela 1**). Nenhuma diferença foi encontrada entre os indivíduos sequenciados.

Nas análises filogenéticas usando NJ, uma árvore filogenética (**Figura 1**) foi construída utilizando as sessenta e duas sequências do gene mtCOI obtidas neste levantamento, mais as 237 sequências de referência, englobando os representantes dos diferentes grupos de espécies propostos por Dinsdale *et al.* (2010), Hu *et al.* (2011), Alemandri *et al.* (2012), Chowda-Reddy *et al.* (2012) e Firdaus *et al.* (2012). A árvore filogenética produziu 37 grupos e todas as amostras obtidas infestando o tomateiro no Brasil agruparam com a sequência correspondente ao clado MEAM 1, ao invés de agruparem com outras espécies do complexo de espécies da América.

No Brasil, a espécie MEAM 1 foi introduzida no início da década de 1990 no estado de São Paulo (Lourenção & Nagai, 1994), atingindo rapidamente as principais fronteiras agrícolas do país (Lourenção *et al.*, 2003). Com o surgimento desta espécie, os problemas com doenças causadas por vírus se intensificaram (Ribeiro *et al.*, 1998). Os primeiros surtos de infestação desta praga acabaram por estar relacionados com a espécie MEAM 1, que deslocou a espécie “New World” (NW, anteriormente biótipo A) existente no país (Lourenção & Nagai, 1994).

Barbosa *et al.* (2014) avaliaram a distribuição das populações nativas de *B. tabaci* das Américas (NW e NW2) e mostraram que estas não foram completamente deslocadas pela espécie altamente invasiva MEAM 1, sugerindo a adaptação destas espécies em colonizarem hospedeiras não preferencialmente colonizadas pela espécie MEAM 1, como *Solanum gilo*, *Ipomoea* sp. e *Euphorbia* sp. no Brasil. Eles observaram ainda que, em campos de tomate em sistema de produção comercial, sob uso maciço de agrotóxicos, MEAM 1 deslocou quase que completamente as espécies nativas, sugerindo que as populações de MEAM 1 que estão distribuídas na América Latina parecem ser mais resistentes a pesticidas em comparação com as moscas-brancas nativas.

Neste levantamento realizado em tomateiro no Brasil, a ocorrência das espécies nativas das Américas (NW e NW2), assim como a ocorrência da espécie “Mediterranean” (MED, anteriormente biótipo Q) não foi detectada. As espécies nativas de *B. tabaci* aparentemente não apresentam uma significativa importância como pragas no cultivo do tomateiro. No entanto, seria interessante estudar se essas populações são capazes de eventualmente transmitir para o tomateiro algumas das novas espécies virais reportadas em outras hospedeiras onde elas foram coletadas.

Dentro do complexo *B. tabaci*, as espécies MEAM 1 e MED são as mais invasivas e amplamente distribuídas em todo o mundo (Barbosa *et al.*, 2015). A espécie MED foi recentemente detectada no Brasil e deve ser motivo de preocupação para todos os envolvidos

com a cultura do tomateiro. Isso porque esta espécie, além de ser resistente à maioria dos inseticidas hoje eficientes para o controle da mosca-branca, é eficiente vetora de *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), que é exótico no país e que, se introduzido no Brasil, pode causar danos severos à tomaticultura nacional (Villas Bôas *et al.*, 2009). A espécie *B. tabaci* MED já havia sido detectada inicialmente no cone sul do continente sul-americano (Grille *et al.*, 2011). No entanto, *B. tabaci* MED não foi constatada em tomateiro nas principais regiões do Brasil, indicando que o ingresso da espécie MED se fez por vias diferentes daquela observada para a espécie MEAM 1. Recentemente, um levantamento da ocorrência da espécie MED foi realizado no Brasil, por Barbosa *et al.* (2015). Neste trabalho, os autores relataram a ocorrência da espécie MED em pimentão (*Capsicum annuum* L.) e em batata-doce (*Ipomoea batatas*) no Estado do Rio Grande do Sul, em um município que faz fronteira com Uruguai e Argentina, dois países onde *B. tabaci* MED já havia sido detectada (Grille *et al.*, 2011). Apesar deste primeiro relato de ocorrência de MED no Brasil, nosso levantamento indica que, aparentemente, esta espécie ainda não está disseminada na maioria das principais áreas de cultivo do tomateiro no Brasil. Será de extremo interesse observar se esse cenário vai se modificar em um futuro próximo uma vez que relatos recentes na Argentina indicam a presença simultânea de *B. tabaci* NW2, MEAM 1 e MED em algumas regiões de cultivo (Alemandri *et al.*, 2015).

Uma observação de interesse foi que embora a diversidade de *B. tabaci* infestando o tomateiro seja extremamente reduzida, as diferentes populações estiveram em associação com pelo menos seis espécies virais já previamente descritas neste hospedeiro (*Tomato mottle leaf curl virus*; *Tomato interveinal chlorosis virus*; *Tomato severe rugose virus*; *Tomato common mosaic virus*; *Tomato chlorotic mottle virus* e *Tomato golden vein virus*) bem como uma possível nova espécie relacionada com o *Tomato mottle leaf curl virus* (isolado TO-026). Esses resultados corroboram a ampla capacidade de transmissão de espécies de *Begomovirus* pela espécie vetora *B. tabaci* MEAM 1. Algumas amostras, embora apresentando sintomas similares

aos induzidos por begomovírus, se mostraram livres da infecção por esse grupo de patógenos, como indicado com repetidas análises (pelo menos três vezes) empregando *primers* universais para detecção deste grupo de patógenos (Rojas *et al.*, 1993), sendo, portanto, classificadas com avirulíferas.

Dados de levantamento sobre a distribuição de espécies de *Begomovirus* no tomateiro indicam uma marcante regionalização (Fernandes *et al.*, 2008; Fernandes, 2010; ver capítulo 2). Nas regiões Nordeste e Norte ocorre a predominante presença de ToMoLCV e algumas espécies filogeneticamente relacionadas. Na região Sul ocorre a presença predominante de ToSRV. Por sua vez, a espécie ToCmMV tem sido predominantemente reportada na região da Serra do Mar nos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro. Os dados obtidos no presente trabalho indicam que estas três espécies virais são indistintamente transmitidas por populações de *B. tabaci* MEAM 1. Desta forma, a regionalização e/ou endemismo da ocorrência de algumas espécies de begomovírus observadas no Brasil não pode ser explicada pela ocorrência regional de variantes do inseto vetor. A resposta para essa questão permanece obscura uma vez que na região Centro-Oeste, por exemplo, essas três espécies virais já foram detectadas (Fernandes, 2010).

Interessante observar que espécies de *B. tabaci* indígenas/nativas dos Neotrópicos e descritas em associação com outras hospedeiras no Brasil (Marubayashi *et al.*, 2013; Barbosa *et al.*, 2014) não foram descritas infestando o cultivo do tomateiro em todas as regiões geográficas amostradas no presente trabalho. Estes resultados sugerem que essas populações nativas aparentemente não conseguem ou não apresentam competência epidemiológica para se estabelecerem e/ou predominarem nas diferentes condições de cultivo do tomateiro no Brasil. A exclusiva presença de *B. tabaci* MEAM 1 infestando o tomateiro em todas as regiões amostradas no presente trabalho está de acordo com um prévio registro sobre a ocorrência de espécies de mosca-branca infestando hortaliças no Estado de São Paulo (Rocha *et al.*, 2011).

Neste levantamento, apenas *B. tabaci* MEAM 1 foi detectada no tomateiro e em todas as solanáceas amostradas em diferentes regiões produtoras do Estado. Na Venezuela, foi observado um cenário similar, onde *B. tabaci* MEAM 1 (uma espécie exótica e invasiva) se mostrou predominante sobre espécies nativas da região.

De acordo com o nosso conhecimento, esse é o primeiro trabalho extensivo que relaciona a diversidade genética do complexo *B. tabaci* com a diversidade de espécies de *Begomovirus* presentes no cultivo do tomateiro nos Neotrópicos. A melhor maneira de reduzir danos por geminivírus tem sido por meio de melhoramento, com o uso de variedades resistentes ou tolerantes aos vírus. Neste contexto, a informação gerada no presente trabalho fornece um quadro mais refinado sobre a ocorrência de populações de *B. tabaci* presentes nos diferentes agroecossistemas do tomateiro no Brasil e fornece ao melhoramento genético um panorama das espécies que apresentam relevância epidemiológica no Brasil.

**Tabela 1:** Lista de 62 populações de *Bemisia tabaci* obtidas de plantas de tomateiro (local e data de coleta, isolado, identidade com a sequência de consenso MEAM 1 e espécie de begomovírus associada com cada população de *B. tabaci*).

Local da coleta	Data da coleta (mês/ano)	Código da população de <i>Bemisia</i>	Identidade com a sequência consenso MEAM 1 (%)	Número de acesso no GenBank	Espécie viral detectada em associação com a população de <i>B. tabaci</i>	BLASTn %	Número de acesso no GenBank
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-027</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99%	KC706616
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-030</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98%	JF803250
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-031</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	JF803246
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-032</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	JF803246
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-034</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	KC706616
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-035</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99%	KC706616
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-036</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98%	JF803250
América Dourada – BA	12/07	<b>BA-037</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	JF803250
Jaguaquara – BA	03/11	<b>BA-120</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99%	KC706616
Wagner – BA	04/11	<b>BA-131</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	KC706616
Irecê – BA	04/11	<b>BA-143</b>	99,7%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89%	JF803251
Irecê – BA	04/11	<b>BA-144</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	JF803250
Irecê – BA	04/11	<b>BA-145</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92%	JF803251
Ponte Alta – DF	06/03	<b>DF-065</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Planaltina – DF	06/07	<b>DF-228</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Planaltina – DF	06/07	<b>DF-235</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98%	KC706616
Planaltina – DF	06/07	<b>DF-236</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94%	KC706616
Planaltina – DF	06/07	<b>DF-237</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97%	KC706616
Planaltina – DF	06/07	<b>DF-238</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91%	KC706616
Pipiripau – DF	02/10	<b>DF-340</b>	99,8%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99%	KC706616
Pipiripau – DF	02/10	<b>DF-341</b>	99,8%	DQ989539	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94%	JX415196

Pipiripau – DF	02/10	<b>DF-342</b>	99,7%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96%	JF803261
Planaltina – DF	02/11	<b>DF-380</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97%	FJ824808
Planaltina – DF	02/11	<b>DF-388</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98%	FJ824808
Taquara – DF	12/11	<b>DF-447</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99%	JX415196
Luziânia – GO	03/03	<b>GO-021</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Luziânia – GO	03/03	<b>GO-025</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Luziânia – GO	03/03	<b>GO-026</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Goianápolis – GO	04/03	<b>GO-103</b>	99,8%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99%	FJ824808
Goianápolis – GO	09/03	<b>GO-247</b>	100%	KP310918	<i>Tomato golden vein virus</i>	90%	JF803254
Goianápolis – GO	05/10	<b>GO-468</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Goianápolis – GO	05/10	<b>GO-469</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98%	JX415196
Goianápolis – GO	09/13	<b>GO-569</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94%	FJ824808
Goianápolis – GO	09/13	<b>GO-573</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96%	FJ824808
Goianápolis – GO	09/13	<b>GO-576</b>	99,8%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Morrinhos – GO	08/07	<b>Morr01</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Morrinhos – GO	08/07	<b>Morr02</b>	100%	AY686062	vírus não detectado	—	—
Morrinhos – GO	08/07	<b>Morr03</b>	100%	AY686062	vírus não detectado	—	—
Mateus Leme – MG	04/10	<b>MG-084</b>	100%	KP310918	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97%	AY090557
Mateus Leme – MG	09/10	<b>MG-195</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98%	JF824808
Mateus Leme – MG	09/10	<b>MG-202</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99%	KC004074
Petrolina – PE	05/05	<b>PE-026</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	JF803246
Petrolina – PE	05/05	<b>PE-027</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	JF803246
Petrolina – PE	05/05	<b>PE-028</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96%	JF803246
Petrolina – PE	05/05	<b>PE-029</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97%	JF803246
Petrolina – PE	05/05	<b>PE-034</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99%	JF803250
Pesqueira – PE	10/10	<b>PE-049</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93%	JF803250
Marilândia – PR	04/07	<b>PR-057</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99%	KC706619
Paty do Alferes – RJ	07/06	<b>RJ-005</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Paty do Alferes – RJ	07/06	<b>RJ-009</b>	100%	KP310918	<i>Tomato common mosaic virus</i>	94%	EU710754



São José do Ubá – RJ	07/06	<b>RJ-015</b>	100%	KP310918	<i>Tomato interveinal chorosis virus</i>	92%	JF803253
São José do Ubá – RJ	07/06	<b>RJ-020</b>	100%	KP310918	<i>Tomato interveinal chorosis virus</i>	93%	JF803253
Boa Vista – RR	02/13	<b>RR-004</b>	99,8%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Sto. Amaro da Imperatriz – SC	04/11	<b>SC-051</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99%	HQ606467
Sto. Amaro da Imperatriz – SC	04/11	<b>SC-061</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99%	FJ824808
Piracicaba – SP	02/08	<b>SP-054</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90%	JF803249
Piracicaba – SP	02/08	<b>SP-059</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99%	JF803250
Borborema – SP	07/10	<b>SP-069</b>	100%	KP310918	vírus não detectado	—	—
Capão Bonito – SP	05/11	<b>SP-082</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97%	HQ606461
Capão Bonito – SP	05/11	<b>SP-084</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99%	FJ824808
Capão Bonito – SP	05/11	<b>SP-089</b>	100%	KP310918	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98%	JF824808
Colméia – TO	12/05	<b>TO-026</b>	100%	KP310918	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89%	JF803249

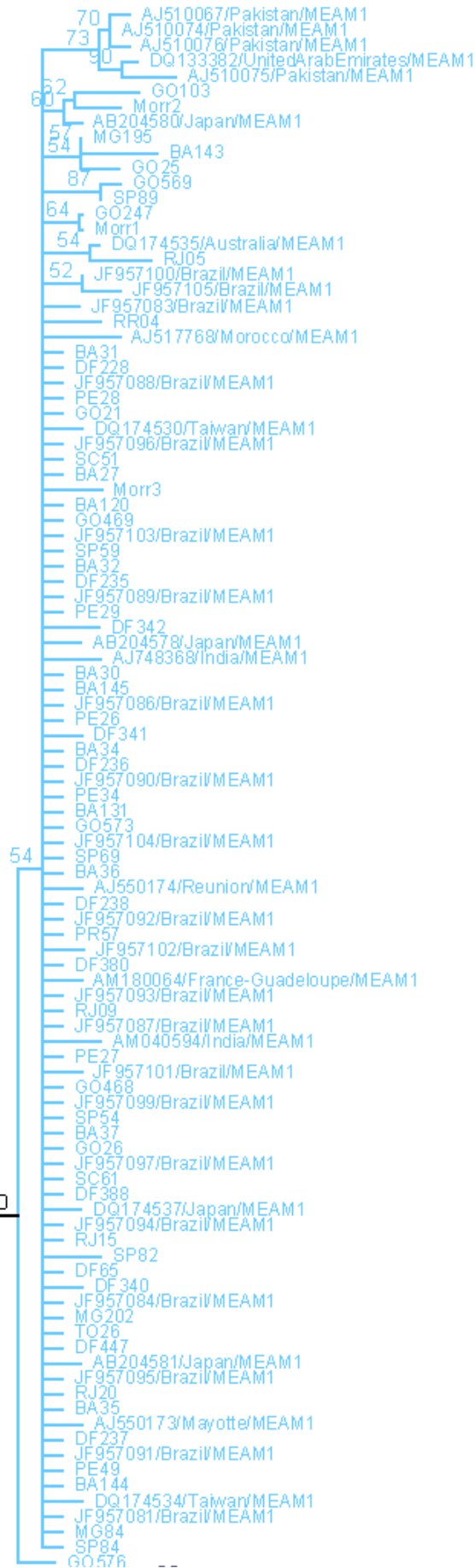
**Tabela 2:** Lista das 37 espécies de *Bemisi tabaci* utilizados na análise filogenética.

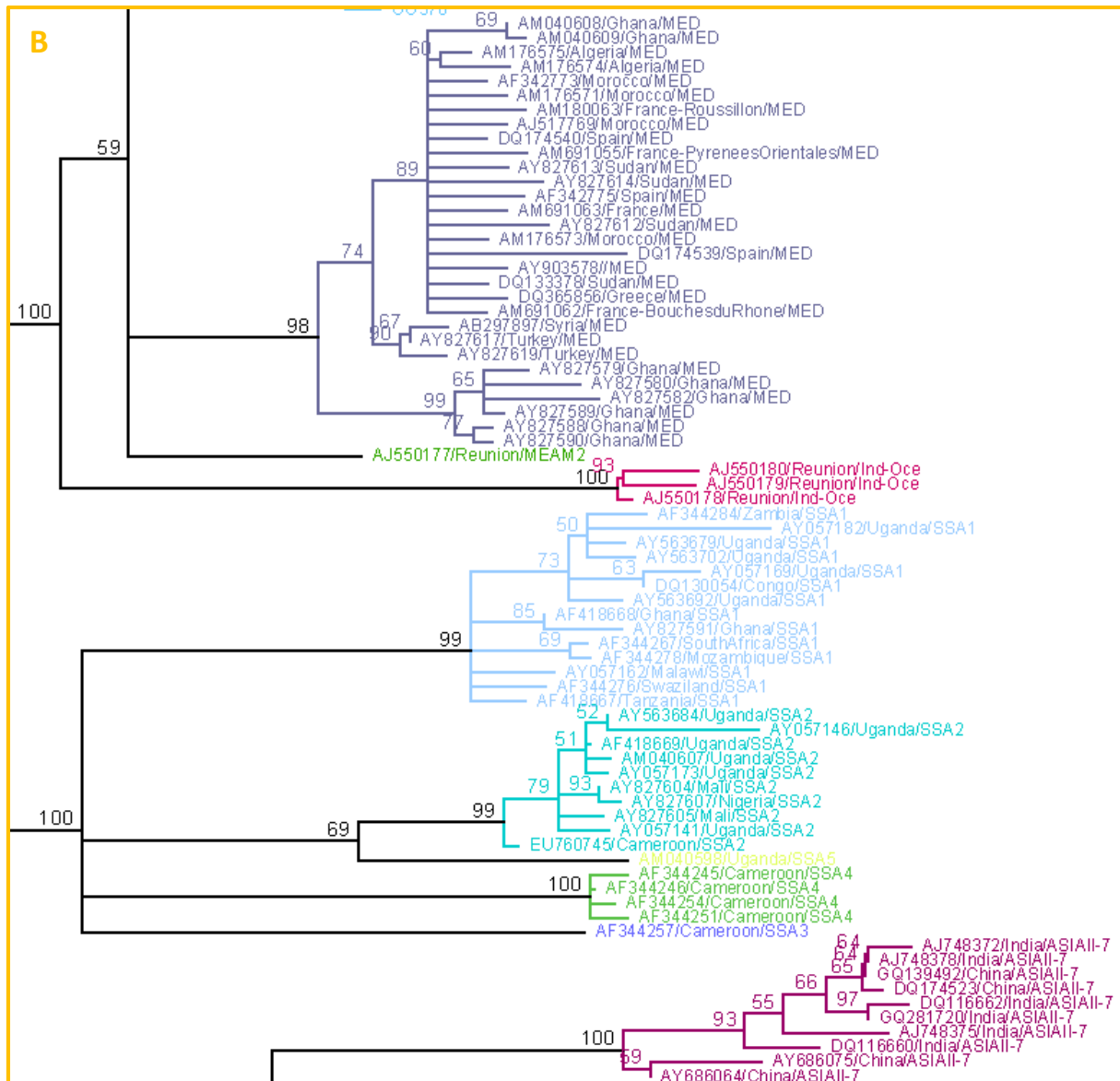
#	Espécie ( <i>low level group</i> )	<i>High level group</i>	Referência
01	Middle East – Asia Minor 1	Africa/ Middle East/ Asia Minor	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
02	Middle East – Asia Minor 2	Africa/ Middle East/ Asia Minor	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
03	Mediterranean	Africa/ Middle East/ Asia Minor	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
04	Indian Ocean	Africa/ Middle East/ Asia Minor	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
05	New World	New World	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
06	New World 2	New World	Alemandri <i>et al.</i> , 2012
07	Asia 1	Asia 1	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
08	Asia I-India	Asia I-India	Chowda-Reddy <i>et al.</i> , 2012
09	Asia II 1	Asia II	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
10	Asia II 2	Asia II	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
11	Asia II 3	Asia II	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
12	Asia II 4	Asia II	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
13	Asia II 5	Asia II	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
14	Asia II 6	Asia II	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
15	Asia II 7	Asia II	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
16	Asia II 8	Asia II India	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
17	Asia II 9	Asia II	Hu <i>et al.</i> , 2011
18	Asia II 10	Asia II	Hu <i>et al.</i> , 2011
19	Asia II 11	Asia II	Firdaus <i>et al.</i> , 2012
20	Asia II 12	Asia II	Firdaus <i>et al.</i> , 2012
21	Asia III	Asia III	Hu <i>et al.</i> , 2011
22	Asia IV	Asia IV	Firdaus <i>et al.</i> , 2012
23	Australia/Indonesia	Australia/Indonesia	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
24	Australia	Australia	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
25	China 1	China	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
26	China 2	China	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
27	China 3	China 3	Hu <i>et al.</i> , 2011
28	Italy	Italy	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
29	Sub-Saharan Africa 1	Sub-Saharan Africa	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
30	Sub-Saharan Africa 2	Sub-Saharan Africa	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
31	Sub-Saharan Africa 3	Sub-Saharan Africa	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
32	Sub-Saharan Africa 4	Sub-Saharan Africa	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
33	Sub-Saharan Africa 5	Sub-Saharan Africa	Firdaus <i>et al.</i> , 2012
34	Uganda	Uganda	Dinsdale <i>et al.</i> , 2010
35	Japan 1	Japan	Firdaus <i>et al.</i> , 2012
36	Japan 2	Japan	Firdaus <i>et al.</i> , 2012
37	Africa	Africa	Firdaus <i>et al.</i> , 2012

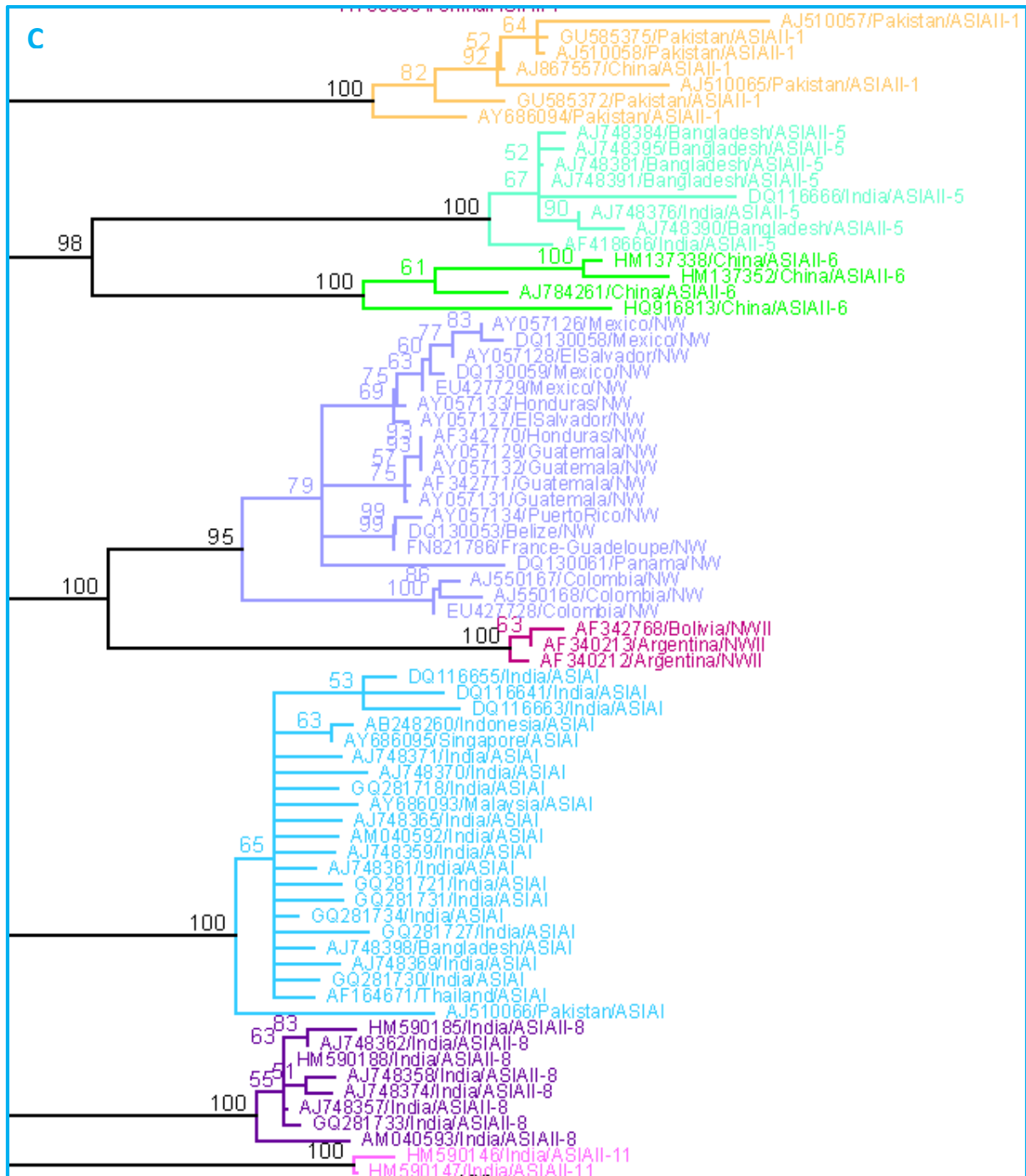


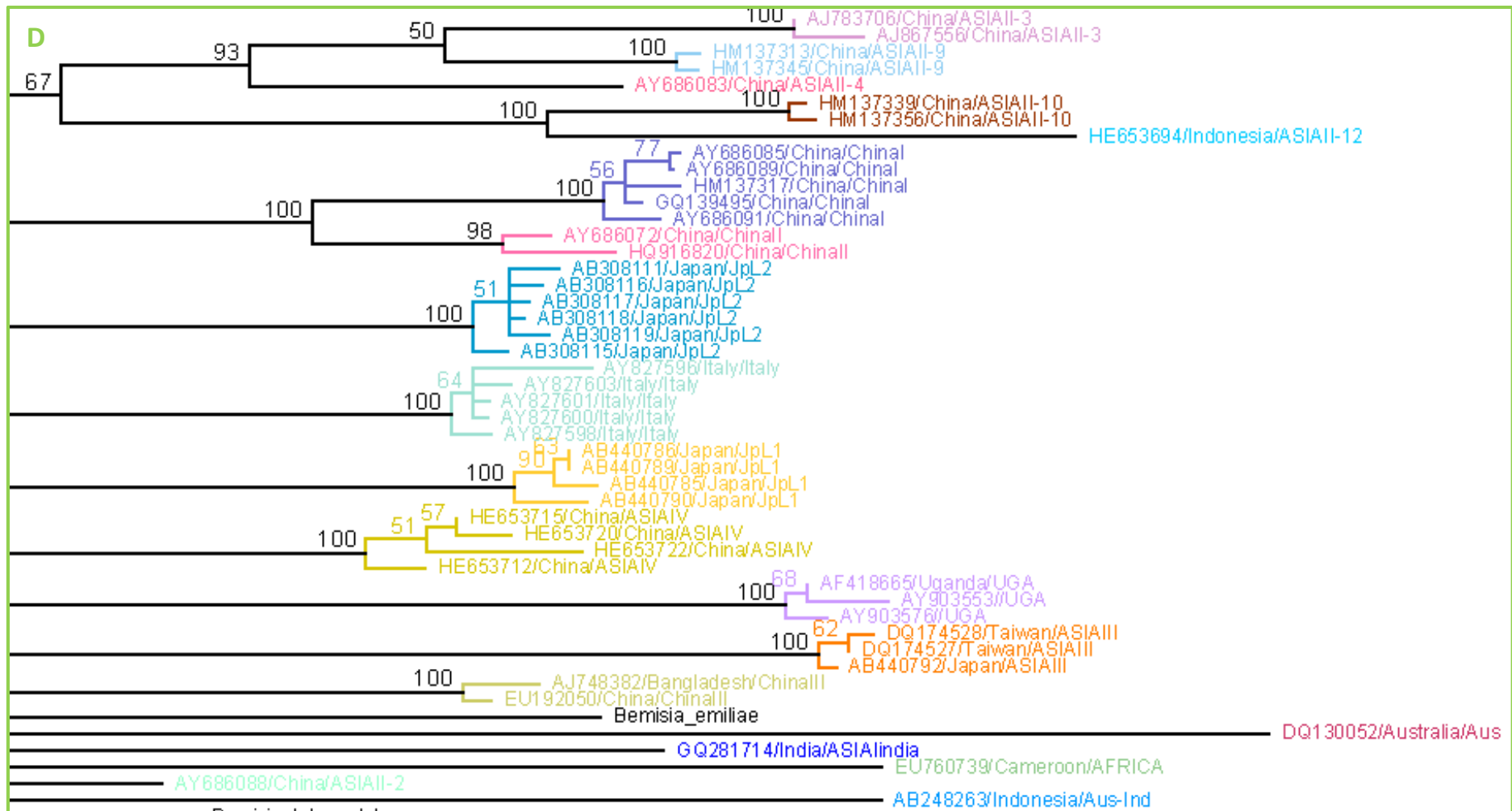
**Figura 1** – Árvore filogenética baseada em 299 sequências parciais do gene mtCOI de *Bemisia tabaci* (62 sequências deste estudo, mais 237 sequências de referência) e outros dezoito aleirodídeos, estimada utilizando o método *Neighbor-joining*, com o programa Geneious 8. As sequências dos exemplares brasileiros pertencem ao grupo genético “Middle East-Asia Minor 1” (MEAM 1) e foram comparadas com sequências disponíveis no banco de dados do GenBank. O número de acesso GenBank, o país de origem e a espécie críptica relacionada estão indicados para cada sequência. Os blocos coloridos com as letras A, B, C, D e E foram ampliados nas páginas a seguir.

**A**

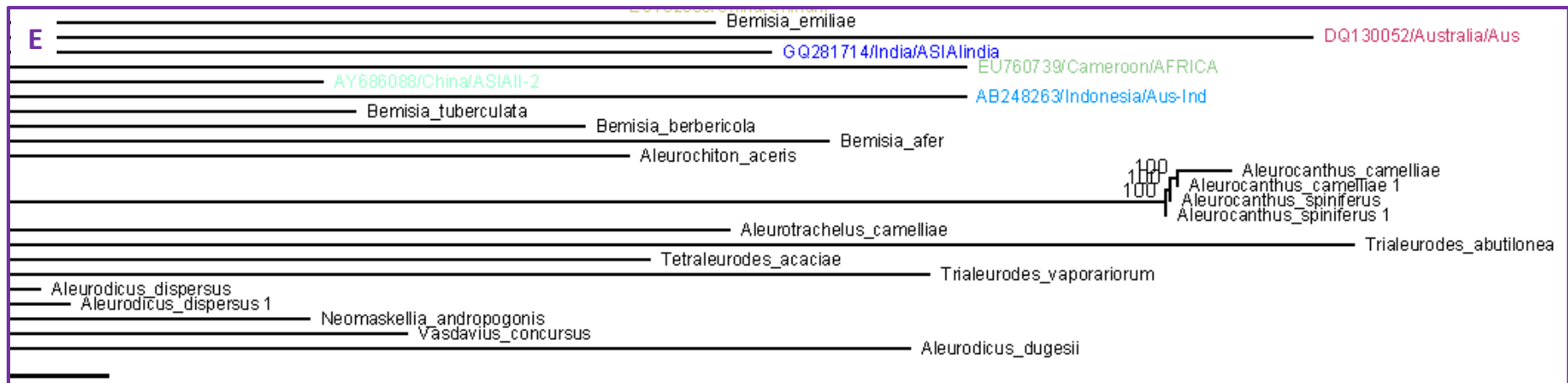












#### 4. LITERATURA CITADA

- ALEMANDRI, V.; DE BARRO, P.; BEJERMAN, N.; ARGÜELLO-CARO, E.B.; DUMÓN, A.D.; MATTIO, M.F.; RODRIGUEZ, S.M. & TRUOLI, G. 2012. Species within the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) complex in soybean and bean crops in Argentina. *Journal of Economic Entomology* 105:48–53.
- ALEMANDRI, V.; MEDINA, C.V.; DUMON, A.D.; CARO, E.A.; MATTIO, M.F.; MEDINA, S.G.; LAMBERTINI, P.M.L. & TRUOL, G. 2015. Three members of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) cryptic species complex occur sympatrically in Argentine Horticultural Crops. *Journal of Economic Entomology* 108:405–413.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W. & LIPMAN, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403–410.
- AMBROZEVICIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G. & ZERBINI, F.M. 2002. Genetic diversity of *Begomovirus* infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:372–377.
- BARBOSA, L.F.; MARUBAYASHI, J.M.; MARCHI, B.R.; YUKI, V.A.; PAVAN, M.A.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. & KRAUSE-SAKATE, R. 2014. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. *Pest Management Science* 70:1440–1445.
- BARBOSA, L.F.; YUKI, V.A.; MARUBAYASHI, J.M.; DE MARCHI, B.R.; PERINI, F.L.; PAVAN, M.A.; BARROS, D.R.; GHANIM, M.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. & KRAUSE-SAKATE, R. 2015. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. *Pest Management Science* 71:501–504.
- BLAWID, R.; MORGADO, F.G.A.; SOUZA, C.A.; RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; PEREIRA-CARVALHO, R.C. 2015. Fluorescence in situ hybridization analysis of

- endosymbiont genera reveals novel infection patterns in a tomato-infesting *Bemisia tabaci* population from Brazil. *Tropical Plant Pathology* 40:233–243.
- BOYKIN, L.M., & DE BARRO, P.J. 2014. A practical guide to identifying members of the *Bemisia tabaci* species complex and other morphologically identical species. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2:45.
- BOYKIN, L.M.; ARMSTRONG, K.F.; KUBATKO, L. & DE BARRO, P.J. 2012. Species delimitation and global biosecurity. *Evolutionary Bioinformatics Online* 8:1–37.
- BROWN, J.K. 2000. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector-*Begomovirus* complexes. *Virus Research* 71:233–260.
- BROWN, J.K.; ZERBINI, F.M.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; RAMOS-SOBRINHO, R.; SILVA, J.C.F.; FIALLO-OLIVE, E.; BRIDDON, R.W.; HERNANDEZ-ZEPEDA, C.; IDRIS, A.; MALATHI, V.G.; MARTIN, D.P.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; UEDA, S. & VARSANI, A. 2015. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593–1619.
- CHOWDA-REDDY, R.V.; KIRANKUMAR, M.; SEAL, S.E.; MUNIYAPPA, V.; VALAND, G.B.; GOVINDAPPA, M.R. & COLVIN, J. 2012. *Bemisia tabaci* phylogenetic groups in India and the relative transmission efficacy of *Tomato leaf curl Bangalore virus* by an indigenous and an exotic Population. *Journal of Integrative Agriculture* 11:235–248.
- DINSDALE, A.; COOK, L.; RIGINOS, C.; BUCKLEY, Y.M. & DE BARRO, P. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America* 103:196–208.

- DE BARRO, P.J. & HART, P.J., 2000. Mating interactions between two biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera:Aleyrodidae) in Australia. *Bulletin of Entomological Research* 90:103–112.
- DE BARRO, P.J.; LIU, S.S.; BOYKIN, L.M. & DINSDALE, A.B. 2011. *Bemisia tabaci*: a Statement of Species Status. *Annual Review of Entomology* 56:1–19.
- ELBAZ, M.; LAHAV, N. & MORIN, S. 2010. Evidence for pre-zygotic reproductive barrier between the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera:Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 100:581–590.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783–791.
- FERNANDES, N.A.N. 2010. Variabilidade genômica e geográfica de espécies de begomovírus em tomateiro e em dois gêneros de plantas daninhas no Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil.
- FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; ÁVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251–258.
- FIRDAUS, S.; VOSMAN, B.; HIDAYATI, N.; JAYA SUPENA, E.D.; VISSER, R.G. & VAN HEUSDEN, A.W. 2012. The *Bemisia tabaci* species complex: additions from different parts of the world. *Insect Science* 20:723–33.
- GRILLE, G.; GAUTHIER, N.; BUENAHORA, J.; BASSO, C. & BONATO, O. 2011. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Argentina and Uruguay. *Phytoparasitica* 39:235-238.
- GHANIM, M.; SOBOL, I.; GHANIM, M. & CZOSNEK, H. 2007. Horizontal transmission of begomoviruses between *Bemisia tabaci* biotypes. *Arthropod-Plant Interactions* 1:195–204.

- HASEGAWA, M.; KISHINO, H. & YANO, T. 1985. Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 22:160–174.
- HU, J.; DE BARRO, P.; ZHAO, H.; WANG, J.; NARDIA, F. & LIU, S.S. 2011. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China. *PLoS One* 6:e16061.
- JONES, D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109:195–219.
- KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MENTJIES, P. & DRUMMOND, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647-1649.
- LOURENÇÃO, A.L. & NAGAI, H. 1994. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. *Bragantia* 53:53–59.
- LOURENÇÃO, A.L.; SOUSA-DIAS, J.A.C. & FUGI, C.G.Q. 2003. Mosca-branca: superpraga da agricultura mundial ameaça a bataticultura brasileira. *Batata Show* 6:7-8.
- MARUBAYASHI, J.M.; YUKI, V.A.; ROCHA, K.C.G.; MITUTI, T.; PELEGRINOTTI, F.M.; FERREIRA, F.Z.; MOURA, M.F.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; PAVAN, M.A. & KRAUSE-SAKATE, R. 2013. At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 137:113–121.
- NAVAS-CASTILLO, J., FIALLO-OLIVE, E. & SANCHEZ-CAMPOS, S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219–248.
- RIBEIRO, S.G.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; FERNANDES, J.J.; FARIA, J.C.; LIMA, M.F.; GILBERTSON, R.L.; ZAMBOLIM, E.M. & ZERBINI, F.M. 1998. Widespread

- occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector. *Plant Disease* 82:830.
- ROCHA, K.C.G.; MARUBAYASHI, J.M.; NAVAS-CASTILLO, J.; YUKI, V.A.; WILCKEN, C.F.; PAVAN, M.A. & KRAUSE-SAKATE, R. 2011. Only the B biotype of *Bemisia tabaci* is present on vegetables in São Paulo State, Brazil. *Scientia Agricola* 68:120–123.
- ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSEL, D.R. & MAXWELL, D. 1993. Use of degenerated primers in the Polymerase Chain Reaction to detect whitefly-transmitted Geminiviruses. *Plant Disease* 77:340–347.
- ROMAY, G.; GERAUD-POUEY, F.; CHIRINOS, D.T.; SANTANA, M.A.; GALINDO-CASTRO, I. & MÁRQUEZ, L.M. 2011. Microsatellites reveal widespread predominance of an invasive over an indigenous *Bemisia tabaci* in Venezuela. *Phytoparasitica* 39:419–428.
- ROSELL, R.C.; BEDFORD, I.D.; FROHLICH, D.R.; GILL, R.J. & BROWN, J.K. 1997. Analysis of morphological variation in distinct populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America* 90:575–589.
- SAITOU, N. & NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406–425.
- 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.
- TAY, W.T.; EVANS, G.A.; BOYKIN, L.M. & DE BARRO, P.J. 2012. Will the real *Bemisia tabaci* please stand up? *PLoS One* 7:e50550.

- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution* 30:2725–2729.
- THOMPSON, J.D., HIGGINS, D.G. & GIBSON, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673–4680.
- VALLE, G.E.; LOURENÇÃO, A.L.; ZUCCHI, M.I.; PINHEIRO, J.B. & ABREU, A.G. 2011. MtDNA variability in whitefly (*Bemisia tabaci*) populations in Brazil. *Genetics and Molecular Research* 10:2155-2164.
- VILLAS BÔAS, G.L. & CASTELO BRANCO, M. 2009. Manejo Integrado da Mosca-Branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) em Sistema de Produção Integrada de Tomate Indústria (PITI). Circular Técnica 70. Brasília: Embrapa Hortaliças.
- VILLAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H. & MACEDO, N. 2002. Potencial biótico da mosca-branca *Bemisia argentifolii* a diferentes plantas hospedeiras. *Horticultura Brasileira* 20:71–79.
- VILLAS BÔAS, G.L.; FRANÇA, F.H.; DE ÁVILA, A.C. & BEZERRA, I.C. 1997. Manejo integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolli*. Circular Técnica 9. Brasília: Embrapa Hortaliças.
- WANG, P.; SUN, D-B.; QIU, B.L. & LIU, S.S. 2011. The presence of six cryptic species of the whitefly *Bemisia tabaci* complex in China as revealed by crossing experiments. *Insect Science* 18:67–77.
- XU, J.; DE BARRO, P.J. & LIU, S.S. 2010. Reproductive incompatibility among genetic groups of *Bemisia tabaci* supports the proposition that the whitefly is a cryptic species complex. *Bulletin of Entomological Research* 100:359–366.

## CONCLUSÕES GERAIS

O presente trabalho apresentou um estudo sobre a diversidade de espécies de *Begomovirus* entre os anos de 2001 e 2015, nas diferentes regiões de cultivo do tomateiro após a invasão de populações exóticas da mosca-branca *Bemisia tabaci* “Middle East-Asia Minor 1” (MEAM 1). Foi também conduzido um levantamento e análise da diversidade do vetor *B. tabaci* associado com essa cultura.

As análises indicaram a presença exclusiva de isolados de begomovírus de genoma bipartido, não havendo ainda nenhum registro de espécies de genoma monopartido infectando o tomateiro no Brasil. Mais da metade dos isolados analisados apontaram as espécies ToSRV e ToMoLCV como as duas principais espécies de begomovírus que infectam tomateiro no Brasil. Outras três espécies (TGVV, ToCMoV e ToCmMV) também se destacaram, embora com uma menor frequência de ocorrência e com distribuição geográfica mais limitada. Os resultados demonstraram ainda que existe uma clara regionalização ecológica/geográfica das espécies de begomovírus, sendo ToMoLCV de ocorrência mais frequente em condições de clima mais quente e ToSRV predominante em condições de clima tropical de altitude e subtropical. Restrita distribuição geográfica foi observada para as espécies ToYVSV, ToRMV e ToCMoV (Brasil Central); ToCmMV e ToICV (faixa litorânea nos Estados do ES, RJ, sul da Bahia) e TGVV (em MG, SP, GO). As análises dos resultados também indicaram que existem algumas estirpes que estão divergindo dos isolados das espécies originais ao ponto de representarem potenciais novas espécies. No presente trabalho, quatro novas espécies de begomovírus que infectam tomateiro foram caracterizadas infectando o tomateiro na região Norte do Brasil.

Plantas invasoras têm sido relatadas como hospedeiras alternativas naturais de begomovírus do tomateiro em várias regiões do país. No presente trabalho, seis isolados de tomateiro apresentaram maiores valores de identidade com espécies descritas infectando malváceas, mas que ainda não haviam sido reportadas infectando o tomateiro, como o caso de



quatro isolados que apresentaram valores de identidade indicando que os mesmos são variantes de SiYNV e os outros dois isolados que se apresentaram como novas estirpes de SiMAIV e SiYBV.

A caracterização da diversidade molecular de populações de *B. tabaci* e das espécies de begomovírus associadas com a mosca-branca nas diferentes regiões onde o tomateiro tem sido cultivado no Brasil indicou valores de identidade entre 99 e 100% com a sequência consenso para populações da espécie MEAM 1. Já os dados de sequenciamento do DNA-A dos isolados virais presentes nas plantas infestadas pela mosca-branca indicaram a associação das diferentes populações do inseto vetor com um complexo de seis espécies de *Begomovirus* previamente descritas (ToMoLCV, ToICV, ToSRV, ToCmMV, ToCMoV e TGVV) e também uma possível nova espécie viral.

Além de representar uma importante ferramenta para estudos adicionais de variabilidade intraespecífica e dos mecanismos evolucionários de espécies de *Begomovirus*, esta coleção de isolados virais (que tem sido mantida pela Embrapa Hortaliças) pode ser uma ferramenta de enorme utilidade prática em programas de melhoramento genético do tomateiro visando desenvolver cultivares com amplo espectro de resistência.

**ANEXO 1** – Lista dos 1.055 isolados analisados no Capítulo 2. Local, data de coleta (mês/ano), código do isolado, espécie viral com maior nível de identidade, BLASTn (% de identidade) e número de acesso no GenBank correspondente a espécie viral. Os isolados de tomateiro foram analisados via sequenciamento de um segmento de aproximadamente 1200 pares da base do DNA-A.

REGIÃO NORTE						
Local	Mês	Ano	Isolado	Espécie Viral	Blastn	Acesso
<b>AMAZONAS</b>						
Silves – AM	11	2007	AM-010	<i>Chino del tomate virus</i>	87.1%	DQ885456
Silves – AM	11	2007	AM-011	<i>Tomato yellow leaf distortion virus</i>	79.0%	FJ174698
Silves – AM	11	2007	AM-012	<i>Sida yellow net virus</i>	96.8%	JX871376
Silves – AM	11	2007	AM-013	<i>Sida yellow mosaic Yucatan virus</i>	85.8%	DQ875872
<b>TOCANTINS</b>						
Colméia – TO	12	2005	TO-026	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.4%	JF803249
Gurupi – TO	8	2008	TO-045	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	82.5%	JF803250
Gurupi – TO	8	2008	TO-046	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	83.0%	KC706616
Araguaina – TO	7	2008	TO-083	<i>Tomato yellow spot virus</i>	81.8%	KJ742419
Araguaina – TO	7	2008	TO-088	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Aragominas – TO	7	2008	TO-090	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.9%	JF803251
Aragominas – TO	7	2008	TO-092	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.9%	JF803251
Aragominas – TO	7	2008	TO-093	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.1%	JF803247
Aragominas – TO	7	2008	TO-094	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.3%	JF803251
Aragominas – TO	7	2008	TO-095	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.7%	JF803251
Araguaina – TO	8	2008	TO-167	<i>Tobacco leaf rugose virus</i>	82.5%	AJ488768

REGIÃO NORDESTE						
Local	Mês	Ano	Isolado	Espécie Viral	Blastn	Acesso
<b>BAHIA</b>						
Irecê – BA	12	2007	BA-012	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.9%	JF803250
Irecê – BA	12	2007	BA-020	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.2%	KC706616
América Dourada – BA	12	2007	BA-027	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
América Dourada – BA	12	2007	BA-028	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.9%	KC706616
América Dourada – BA	12	2007	BA-029	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	KC706616
América Dourada – BA	12	2007	BA-030	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.8%	JF803250
América Dourada – BA	12	2007	BA-031	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.6%	JF803246
América Dourada – BA	12	2007	BA-032	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.5%	JF803246
América Dourada – BA	12	2007	BA-033	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	KC706616
América Dourada – BA	12	2007	BA-034	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.6%	KC706616
América Dourada – BA	12	2007	BA-035	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.7%	KC706616

América Dourada – BA	12	2007	BA-036	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.7%	JF803250
América Dourada – BA	12	2007	BA-037	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.2%	JF803250
Irecê – BA	12	2007	BA-039	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.7%	JF803250
Irecê – BA	12	2007	BA-040	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.8%	KC706616
Irecê – BA	12	2007	BA-042	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.8%	KC706616
Irecê – BA	12	2007	BA-043	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.0%	JF803250
Irecê – BA	12	2007	BA-044	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.8%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-045	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.6%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-046	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93.4%	JF803250
Ibicoara – BA	5	2009	BA-047	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-048	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.3%	KC706615
Ibicoara – BA	5	2009	BA-049	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-050	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.7%	JF803250
Ibicoara – BA	5	2009	BA-051	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.7%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-052	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.0%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-053	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-054	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Ibicoara – BA	5	2009	BA-056	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.9%	JF803247
Ibicoara – BA	5	2009	BA-057	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.0%	JF803246
Ibicoara – BA	5	2009	BA-058	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	JF803250
Jaguaquara – BA	6	2010	BA-072	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.6%	KC706616
Jaguaquara – BA	6	2010	BA-073	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.3%	KC706616
Jaguaquara – BA	6	2010	BA-074	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.5%	KC706616
Jaguaquara – BA	6	2010	BA-075	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-092	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-093	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.6%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-094	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706615
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-095	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.4%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-096	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.4%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-097	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.3%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-099	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.9%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-100	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	88.4%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-101	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.3%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-102	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.2%	KC706615
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-108	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.4%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-118	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.8%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-119	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.9%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-120	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-121	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-122	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.7%	KC706616
Jaguaquara – BA	3	2011	BA-123	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Utinga – BA	4	2011	BA-124	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.7%	JF803250
Wagner – BA	4	2011	BA-125	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.1%	KC706616
Wagner – BA	4	2011	BA-127	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.1%	JF803250
Wagner – BA	4	2011	BA-128	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.6%	JF803251

Wagner – BA	4	2011	BA-129	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.9%	JF803251
Wagner – BA	4	2011	BA-130	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.4%	JF803250
Wagner – BA	4	2011	BA-131	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.2%	KC706616
Wagner – BA	4	2011	BA-132	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.9%	JF803251
Wagner – BA	4	2011	BA-133	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.4%	KC706615
Wagner – BA	4	2011	BA-134	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.9%	JF803251
Irecê – BA	4	2011	BA-135	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.7%	HQ606467
Irecê – BA	4	2011	BA-137	<i>Sida yellow blotch virus</i>	91.8%	JX871380
Irecê – BA	4	2011	BA-139	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.7%	JF803250
Irecê – BA	4	2011	BA-141	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Irecê – BA	4	2011	BA-142	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.0%	JF803251
Irecê – BA	4	2011	BA-143	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.6%	JF803251
Irecê – BA	4	2011	BA-144	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.5%	JF803250
Irecê – BA	4	2011	BA-145	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.3%	JF803251
Irecê – BA	4	2011	BA-146	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.0%	KC706616
Irecê – BA	4	2011	BA-149	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.3%	JF803251
Irecê – BA	7	2011	BA-151	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	95.0%	JF803253
Irecê – BA	7	2011	BA-155	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803251
Irecê – BA	7	2011	BA-156	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.7%	JF803250
Irecê – BA	7	2011	BA-157	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.1%	JF803250
Irecê – BA	7	2011	BA-158	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.3%	JF803250
Irecê – BA	7	2011	BA-159	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.0%	JF803251
Irecê – BA	7	2011	BA-160	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.4%	JF803251
Irecê – BA	7	2011	BA-161	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.4%	JF803248
Irecê – BA	7	2011	BA-162	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.2%	KC706616
Irecê – BA	7	2011	BA-164	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803251
Juazeiro – BA	9	2012	BA-166	<i>Macrotidium yellow net virus</i>	85.0%	JN418998
Juazeiro – BA	9	2012	BA-167	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	85.3%	JF803253
Juazeiro – BA	9	2012	BA-168	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	97.6%	JF803253
Poçoões – BA	9	2014	BA-173	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Poçoões – BA	9	2014	BA-174	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Poçoões – BA	9	2014	BA-175	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.0%	KC706616
Poçoões – BA	9	2014	BA-177	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.8%	KC706616
Poçoões – BA	9	2014	BA-178	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.0%	KC706616
<b>CEARÁ</b>						
Croatá – CE	5	2002	CE-023	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	82.0%	AY049214
Croatá – CE	5	2002	CE-024	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.9%	JF803250
Croatá – CE	5	2002	CE-025	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.3%	JF803250
Ibiapina – CE	5	2002	CE-026	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JF803262
Guaraciaba do Norte – CE	8	2005	CE-001	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.4%	JF803250
Guaraciaba do Norte – CE	8	2005	CE-002	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.5%	JF803251
Guaraciaba do Norte – CE	8	2005	CE-003	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.4%	JF803251
Guaraciaba do Norte – CE	8	2005	CE-004	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.9%	KC706616
Guaraciaba do Norte – CE	8	2005	CE-005	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.0%	JF803250
Guaraciaba do Norte – CE	8	2005	CE-007	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.7%	KC706616

Guaraciaba do Norte – CE	8	2005	CE-008	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.4%	KC706616
Carnaubal – CE	8	2005	CE-010	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.4%	JF803251
Carnaubal – CE	8	2005	CE-011	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.8%	JF803250
Carnaubal – CE	8	2005	CE-012	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.2%	JF803251
Carnaubal – CE	8	2005	CE-013	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.4%	JF803251
Carnaubal – CE	8	2005	CE-014	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.9%	JF803250
Carnaubal – CE	8	2005	CE-015	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.3%	KC706616
Carnaubal – CE	8	2005	CE-016	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.6%	KC706616
Carnaubal – CE	8	2005	CE-017	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.4%	JF803251
Carnaubal – CE	8	2005	CE-018	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.3%	KC706616
Carnaubal – CE	8	2005	CE-019	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.5%	JF803251
Ibiapina – CE	2	2010	CE-029	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706615
Ibiapina – CE	2	2010	CE-031	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.3%	KC706616
Ibiapina – CE	2	2010	CE-032	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.8%	KC706615
Ibiapina – CE	2	2010	CE-041	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.4%	JF803251
Ibiapina – CE	2	2010	CE-042	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.0%	KC706616
Ibiapina – CE	2	2010	CE-043	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.9%	KC706616
Ibiapina – CE	2	2010	CE-044	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.2%	KC706616
Guaraciaba do Norte – CE	3	2010	CE-046	<i>Rhynchosia rugose golden mosaic virus</i>	82.9%	HM236370
Croatá – CE	3	2010	CE-047	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.7%	JF803250
Ubajara – CE	8	2011	CE-052	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93.2%	JF803249
Ubajara – CE	8	2011	CE-053	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803249
Ubajara – CE	8	2011	CE-054	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706615
Ubajara – CE	8	2011	CE-055	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.7%	JF803249
São Benedito da Ibiapaba– CE	12	2011	CE-057	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.4%	JF803248
São Benedito da Ibiapaba– CE	12	2011	CE-058	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.5%	JF803251
São Benedito da Ibiapaba– CE	12	2011	CE-059	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706615
Ibiapina – CE	9	2012	CE-067	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.0%	KC706616
<b>PARAÍBA</b>						
S. Sebast. do Umbuzeiro – PB	11	2010	PB-002	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.6%	KC706616
S. Sebast. do Umbuzeiro – PB	11	2010	PB-003	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.8%	JF803250
S. Sebast. do Umbuzeiro – PB	11	2010	PB-004	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.5%	KC706616
S. Sebast. do Umbuzeiro – PB	11	2010	PB-008	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.6%	JF803250
S. Sebast. do Umbuzeiro – PB	11	2010	PB-019	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.9%	JF803250
S. Sebast. do Umbuzeiro – PB	11	2010	PB-022	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.1%	KC706616
<b>PERNAMBUCO</b>						
Petrolina – PE	5	2005	PE-026	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.5%	JF803246
Petrolina – PE	5	2005	PE-027	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.8%	JF803246
Petrolina – PE	5	2005	PE-028	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	JF803246
Petrolina – PE	5	2005	PE-029	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.6%	JF803246
Petrolina – PE	5	2005	PE-030	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.4%	JF803246
Petrolina – PE	5	2005	PE-031	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.9%	JF803251
Petrolina – PE	5	2005	PE-032	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.4%	JF803246
Petrolina – PE	5	2005	PE-034	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.5%	JF803250
Petrolina – PE	5	2005	PE-035	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.3%	JF803250

Petrolina – PE	5	2005	PE-036	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.9%	JF803246
Petrolina – PE	5	2005	PE-038	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.3%	JF803249
Pesqueira – PE	1	2009	PE-011	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.8%	JF803250
Pesqueira – PE	1	2009	PE-012	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.4%	JF803250
Pesqueira – PE	1	2009	PE-013	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.2%	JF803250
Chã Grande – PE	6	2009	PE-042	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415196
Chã Grande – PE	6	2009	PE-043	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.5%	FJ824808
Pesqueira – PE	1	2010	PE-019	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.6%	JF803251
Pesqueira – PE	1	2010	PE-022	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.6%	JF803251
Pesqueira – PE	1	2010	PE-023	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.6%	KC706616
Pesqueira – PE	10	2010	PE-046	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.5%	JF803250
Pesqueira – PE	10	2010	PE-047	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.3%	JF803251
Pesqueira – PE	10	2010	PE-048	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.3%	JF803250
Pesqueira – PE	10	2010	PE-049	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.6%	JF803250
Pesqueira – PE	8	2012	PE-089	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.0%	KC706616
Pesqueira – PE	8	2012	PE-090	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.0%	KC706616
Pesqueira – PE	8	2012	PE-091	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.0%	KC706615
Pesqueira – PE	8	2012	PE-092	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706616
Pesqueira – PE	9	2012	PE-096	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.1%	KC706616
Pedra – PE	9	2012	PE-097	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.0%	KC706616
Pedra – PE	9	2012	PE-098	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.0%	KC706616
Venturosa – PE	10	2012	PE-099	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706616
Venturosa – PE	10	2012	PE-100	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.7%	KC706616
Venturosa – PE	10	2012	PE-101	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706616
Venturosa – PE	10	2012	PE-102	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.0%	KC706616
Poção – PE	11	2012	PE-104	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.7%	KC706616
Poção – PE	11	2012	PE-105	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.7%	KC706616
Poção – PE	11	2012	PE-106	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.3%	JF803250
Poção – PE	11	2012	PE-107	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.5%	KC706616
Venturosa – PE	11	2012	PE-108	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.3%	KC706616
Venturosa – PE	11	2012	PE-109	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.5%	KC706616
Venturosa – PE	11	2012	PE-111	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.3%	KC706616
Venturosa – PE	11	2012	PE-112	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.7%	KC706616
Venturosa – PE	11	2012	PE-114	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.7%	KC706616
Floresta – PE	7	2014	PE-121	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.0%	KC706616
Floresta – PE	7	2014	PE-122	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.6%	KC706616

REGIÃO CENTRO-OESTE						
Local	Mês	Ano	Isolado	Espécie Viral	Blastn	Acesso
<b>DISTRITO FEDERAL</b>						
Brazlândia – DF	12	2001	DF-313	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	94.0%	EF459696
Brazlândia – DF	12	2001	DF-314	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	94.0%	EF459696
Brazlândia – DF	12	2001	DF-315	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	94.0%	EF459696

Brazlândia – DF	12	2001	DF-316	Tomato yellow vein streak virus	94.0%	EF459696
Brazlândia – DF	12	2001	DF-317	Tomato yellow vein streak virus	94.0%	EF459696
Brazlândia – DF	12	2001	DF-318	Tomato yellow vein streak virus	94.0%	EF459696
Brazlândia – DF	12	2001	DF-319	Tomato yellow vein streak virus	94.0%	EF459696
Gama – DF	11	2001	DF-320	Tomato chlorotic mottle virus	94.0%	KC706561
Gama – DF	11	2001	DF-321	Tomato chlorotic mottle virus	98.0%	KC706561
Gama – DF	11	2001	DF-322	Tomato mottle leaf curl virus	99.0%	AY049225
Gama – DF	11	2001	DF-323	Tomato severe rugose virus	94.0%	FJ824808
Gama – DF	11	2001	DF-324	Tomato mottle leaf curl virus	99.0%	AY049225
Gama – DF	11	2001	DF-325	Tomato chlorotic mottle virus	98.0%	KC706561
Café Sem Troco – DF	5	2002	DF-326	Tomato rugose mosaic virus	98.0%	AF291705
Café Sem Troco – DF	5	2002	DF-327	Tomato mottle leaf curl virus	99.0%	AY049225
Café Sem Troco – DF	5	2002	DF-329	Tomato yellow vein streak virus	93.0%	EF459701
Gama – DF	3	2003	DF-018	Tomato chlorotic mottle virus	93.2%	KC706561
Gama – DF	3	2003	DF-023	Tomato rugose mosaic virus	88.5%	AF291705
Gama – DF	3	2003	DF-024	Tomato rugose mosaic virus	88.5%	AF291705
Gama – DF	3	2003	DF-026	Tomato rugose mosaic virus	91.7%	AF291705
Gama – DF	3	2003	DF-027	Tomato yellow vein streak virus	89.3%	EF459696
Gama – DF	3	2003	DF-028	Tomato yellow vein streak virus	88.1%	KC706645
Lago Azul – DF	5	2003	DF-034	Tomato severe rugose virus	97.2%	FJ824808
Lago Azul – DF	5	2003	DF-043	Tomato chlorotic mottle virus	91.0%	AY090577
Lago Azul – DF	5	2003	DF-044	Tomato rugose mosaic virus	87.7%	AF291705
Lago Azul – DF	5	2003	DF-045	Tomato chlorotic mottle virus	90.9%	KC706551
Lago Azul – DF	5	2003	DF-046	Tomato rugose mosaic virus	86.7%	AF291705
Lago Azul – DF	5	2003	DF-047	Tomato rugose mosaic virus	97.5%	AF291705
Gama – DF	5	2003	DF-048	Tomato rugose mosaic virus	89.7%	AF291705
Gama – DF	5	2003	DF-049	Tomato rugose mosaic virus	92.4%	AF291705
Gama – DF	5	2003	DF-050	Tomato rugose mosaic virus	87.3%	AF291705
Gama – DF	5	2003	DF-051	Tomato rugose mosaic virus	91.6%	AF291705
Gama – DF	5	2003	DF-052	Tomato yellow vein streak virus	93.6%	KC706646
Ponte Alta – DF	5	2003	DF-054	Tomato rugose mosaic virus	95.5%	AF291705
Ponte Alta – DF	5	2003	DF-057	Tomato mottle leaf curl virus	93.5%	JF803264
Ponte Alta – DF	5	2003	DF-058	Tomato chlorotic mottle virus	97.1%	KC706561
Ponte Alta – DF	5	2003	DF-059	Tomato rugose mosaic virus	97.1%	AF291705
Gama – DF	6	2003	DF-062	Tomato yellow vein streak virus	91.6%	KC706646
Vargem Bonita – DF	2	2005	DF-154	Tomato mottle leaf curl virus	99.0%	JF803246
Vargem Bonita – DF	2	2005	DF-155	Tomato mottle leaf curl virus	99.0%	JF803246
Vargem Bonita – DF	2	2005	DF-156	Tomato severe rugose virus	96.0%	JX415196
Núcleo Rural São José – DF	5	2005	DF-165	Tomato yellow vein streak virus	99.0%	KC706646
Núcleo Rural São José – DF	5	2005	DF-166	Tomato yellow vein streak virus	91.0%	KC706653
Núcleo Rural São José – DF	5	2005	DF-167	Tomato yellow vein streak virus	87.0%	KC706642
Núcleo Rural São José – DF	5	2005	DF-168	Tomato severe rugose virus	98.0%	JF803261
Núcleo Rural São José – DF	5	2005	DF-169	Tomato severe rugose virus	89.0%	JX865645
Núcleo Rural São José – DF	5	2005	DF-170	Tomato rugose mosaic virus	93.0%	AF291705
Núcleo Rural São José – DF	5	2005	DF-171	Tomato yellow vein streak virus	95.0%	KC706646

Taquara – DF	4	2005	DF-208	<i>Tomato golden vein virus</i>	93.0%	JF803256
Taquara – DF	4	2005	DF-209	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.0%	JF803256
Taquara – DF	4	2005	DF-210	<i>Tomato golden vein virus</i>	96.0%	JF803256
Taquara – DF	4	2005	DF-211	<i>Tomato golden vein virus</i>	96.0%	JF803256
Taquara – DF	4	2005	DF-212	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JX415198
Taquara – DF	4	2005	DF-213	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.0%	JX415196
Taquara – DF	4	2005	DF-214	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.0%	AF291705
Taquara – DF	4	2005	DF-215	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.0%	AF291705
Taquara – DF	4	2005	DF-216	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	89.0%	KC706653
Taquara – DF	4	2005	DF-218	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.0%	AF291705
Taquara – DF	4	2005	DF-219	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415198
Taquara – DF	4	2005	DF-220	<i>Tomato golden vein virus</i>	93.0%	JF803258
Taquara – DF	4	2005	DF-221	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	91.0%	KR024026
Planaltina – DF	6	2007	DF-227	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	85.0%	KC706653
Planaltina – DF	6	2007	DF-228	<i>Tomato severe rugose virus</i>	92.0%	JX415198
Planaltina – DF	6	2007	DF-231	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	94.0%	KC706646
Planaltina – DF	6	2007	DF-227	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	92.7%	AF291705
Planaltina – DF	6	2007	DF-235	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.7%	KC706616
Planaltina – DF	6	2007	DF-236	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.2%	KC706616
Planaltina – DF	6	2007	DF-237	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.6%	KC706616
Planaltina – DF	6	2007	DF-238	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.4%	KC706616
Gama – DF	7	2008	DF-250	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	95.0%	KC706645
Gama – DF	7	2008	DF-251	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	99.0%	EF459696
Gama – DF	7	2008	DF-252	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	91.0%	KC706645
Gama – DF	7	2009	DF-288	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.6%	FJ824808
Gama – DF	1	2010	DF-330	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.9%	KC706616
Pipiripau – DF	2	2010	DF-338	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	JX415196
Pipiripau – DF	2	2010	DF-339	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.8%	KC706616
Pipiripau – DF	2	2010	DF-340	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706616
Pipiripau – DF	2	2010	DF-341	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.4%	JX415196
Pipiripau – DF	2	2010	DF-342	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.5%	JF803261
Pipiripau – DF	2	2010	DF-343	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.6%	JX415199
Pipiripau – DF	2	2010	DF-344	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.5%	KC706616
Gama – DF	2	2010	DF-356	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.2%	KC706616
Planaltina – DF	2	2011	DF-380	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.0%	FJ824808
Planaltina – DF	2	2011	DF-386	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.3%	KC706620
Planaltina – DF	2	2011	DF-388	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	FJ824808
Taquara – DF	11	2011	DF-427	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JX415196
Taquara – DF	11	2011	DF-428	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.9%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-429	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.7%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-430	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.7%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-431	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JX415196
Taquara – DF	11	2011	DF-432	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.9%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-433	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.4%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-434	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JF803261



Taquara – DF	11	2011	DF-435	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JF803261
Taquara – DF	11	2011	DF-436	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415196
Taquara – DF	11	2011	DF-437	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.0%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-438	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.3%	JX415196
Taquara – DF	11	2011	DF-439	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.5%	JX415196
Taquara – DF	11	2011	DF-440	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.2%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-441	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.5%	FJ824808
Taquara – DF	11	2011	DF-442	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.3%	KC706616
Taquara – DF	11	2011	DF-443	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	FJ824808
Gama – DF	12	2011	DF-447	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.6%	KC706616
Gama – DF	12	2011	DF-449	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.2%	KC706616
Gama – DF	12	2011	DF-450	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.3%	KC706616
Gama – DF	12	2011	DF-452	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.8%	JF803247
Gama – DF	12	2011	DF-453	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.9%	KC706616
Gama – DF	2	2012	DF-463	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Rajadinha – DF	9	2012	DF-480	<i>Sida mosaic Alagoas virus</i>	91.0%	JF694472
Rajadinha – DF	10	2012	DF-487	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.9%	KC706616
Rajadinha – DF	10	2012	DF-490	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Rajadinha – DF	10	2012	DF-491	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.6%	JX415196
Rajadinha – DF	10	2012	DF-493	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.2%	JF803261
Rajadinha – DF	3	2013	DF-502	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.9%	JX415196
Rajadinha – DF	3	2013	DF-503	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.1%	JX415196
Rajadinha – DF	3	2013	DF-504	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Rajadinha – DF	3	2013	DF-505	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.9%	JX415196
Sobradinho – DF	4	2013	DF-528	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.9%	KC706616
Sobradinho – DF	4	2013	DF-529	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.2%	FJ824808
Sobradinho – DF	4	2013	DF-530	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.2%	KC706615
Café Sem Troco – DF	4	2013	DF-541	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93.6%	KC706616
Café Sem Troco – DF	4	2013	DF-544	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.3%	FJ824808
Pipiripau – DF	5	2013	DF-546	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93.6%	KC706616
Pipiripau – DF	5	2013	DF-547	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.8%	KC706616
Pipiripau – DF	5	2013	DF-550	<i>Tomato severe rugose virus</i>	86.2%	FJ824808
Pipiripau – DF	5	2013	DF-553	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706616
Tabatinga – DF	5	2013	DF-556	<i>Tomato severe rugose virus</i>	86.8%	JF803261
Tabatinga – DF	5	2013	DF-557	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.8%	KC706616
Rajadinha – DF	4	2014	DF-565	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.9%	JX415196
Rajadinha – DF	4	2014	DF-566	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.9%	KC706616
Rajadinha – DF	4	2014	DF-575	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Rajadinha – DF	4	2014	DF-576	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706616
Rajadinha – DF	4	2014	DF-577	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.7%	KC706616
Rajadinha – DF	4	2014	DF-578	<i>Tomato severe rugose virus</i>	91.3%	JX415196
Rajadinha – DF	4	2014	DF-579	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.7%	KC706616
Rajadinha – DF	4	2014	DF-580	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.3%	KC706616
Rajadinha – DF	4	2014	DF-588	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.9%	KC706615
Gama – DF	12	2014	DF-591	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JF803261

Gama – DF	12	2014	DF-592	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.5%	JF803261
Gama – DF	12	2014	DF-594	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JF803261
Rajadinha – DF	5	2015	DF-602	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.3%	KC706615
Rajadinha – DF	5	2015	DF-604	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Gama – DF	6	2015	DF-606	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JF803263
<b>GOIÁS</b>						
Goianápolis – GO	12	2001	GO-449	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	94.0%	EF459696
Goianápolis – GO	12	2001	GO-450	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	94.0%	EF459697
Goianápolis – GO	12	2001	GO-451	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	FJ824808
Inhumas – GO	8	2002	GO-004	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	80.5%	KC706635
Inhumas – GO	8	2002	GO-005	<i>Tomato severe rugose virus</i>	91.5%	JX415196
Avelinópolis – GO	3	2003	GO-017	<i>Tomato golden vein virus</i>	97.6%	JF803254
Luziânia – GO	3	2003	GO-023	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.5%	JF803256
Luziânia – GO	3	2003	GO-029	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	JX415199
Luziânia – GO	3	2003	GO-031	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	JX415199
Luziânia – GO	3	2003	GO-032	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	JX415199
Luziânia – GO	3	2003	GO-033	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JX415199
Luziânia – GO	3	2003	GO-034	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	JX415199
Luziânia – GO	3	2003	GO-035	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	JX415199
Goianápolis – GO	4	2003	GO-045	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	99.2%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-046	<i>Tomato severe rugose virus</i>	92.1%	FJ824808
Goianápolis – GO	4	2003	GO-061	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JF803261
Goianápolis – GO	4	2003	GO-086	<i>Tomato golden vein virus</i>	98.0%	JF803254
Goianápolis – GO	4	2003	GO-091	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.5%	FJ824808
Goianápolis – GO	4	2003	GO-096	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	98.9%	KC706646
Goianápolis – GO	4	2003	GO-098	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415198
Goianápolis – GO	4	2003	GO-099	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	96.4%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-100	<i>Tomato golden vein virus</i>	99.2%	JF803254
Goianápolis – GO	4	2003	GO-101	<i>Tomato golden vein virus</i>	97.9%	JF803254
Goianápolis – GO	4	2003	GO-102	<i>Tomato golden vein virus</i>	99.1%	JF803254
Goianápolis – GO	4	2003	GO-103	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	FJ824808
Goianápolis – GO	4	2003	GO-104	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JF803261
Goianápolis – GO	4	2003	GO-105	<i>Tomato golden vein virus</i>	99.2%	JF803254
Goianápolis – GO	4	2003	GO-106	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	96.6%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-107	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	99.4%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-108	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JF803261
Goianápolis – GO	4	2003	GO-109	<i>Tomato golden vein virus</i>	85.1%	JF803254
Goianápolis – GO	4	2003	GO-111	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	99.0%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-112	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JF803261
Goianápolis – GO	4	2003	GO-113	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415198
Goianápolis – GO	4	2003	GO-114	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.8%	FJ824808
Goianápolis – GO	4	2003	GO-115	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415199
Goianápolis – GO	4	2003	GO-116	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.5%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-117	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.8%	JF803261
Goianápolis – GO	4	2003	GO-118	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	92.2%	AF291705

Goianápolis – GO	4	2003	GO-119	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.5%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-120	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	91.0%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-121	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.6%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-122	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.0%	JX415198
Goianápolis – GO	4	2003	GO-123	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.8%	AF291705
Goianápolis – GO	4	2003	GO-124	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.8%	JF803254
Goianápolis – GO	4	2003	GO-125	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	JF803261
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-126	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.7%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-127	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.2%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-128	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	95.8%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-129	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.0%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-130	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.3%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-131	<i>Tomato golden vein virus</i>	95.0%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-132	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.6%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-134	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.1%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-135	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.1%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-136	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.8%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-137	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.6%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-138	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.3%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-139	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	94.3%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-141	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.3%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-142	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.3%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-143	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.0%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-144	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.9%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-145	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.1%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-146	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	FJ824808
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-147	<i>Tomato golden vein virus</i>	96.1%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-148	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	88.5%	KC706646
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-149	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	88.6%	KC706653
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-150	<i>Tomato golden vein virus</i>	95.4%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-151	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.8%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-152	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	98.6%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-153	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	FJ824808
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-154	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.7%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-155	<i>Tomato golden vein virus</i>	92.6%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-156	<i>Tomato golden vein virus</i>	97.4%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-157	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.0%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-158	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	96.5%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-159	<i>Tomato golden vein virus</i>	93.0%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-160	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.6%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-161	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	90.8%	KC706548
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-162	<i>Tomato golden vein virus</i>	95.2%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-163	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	93.0%	KC706653
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-164	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.0%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-165	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	94.2%	AF291705

Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-168	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	86.3%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-169	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	82.9%	KC706653
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-170	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.3%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-171	<i>Tomato golden vein virus</i>	92.2%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-172	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	95.0%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	5	2003	GO-173	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.5%	AF291705
Luziânia – GO	5	2003	GO-182	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	JX415199
Luziânia – GO	5	2003	GO-183	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415199
Luziânia – GO	5	2003	GO-184	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	JX415199
Luziânia – GO	5	2003	GO-185	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JX415199
Goianápolis – GO	5	2003	GO-188	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	87.7%	AF291705
Goianápolis – GO	5	2003	GO-189	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.5%	KC004077
Goianápolis – GO	5	2003	GO-190	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.6%	JF803254
Goianápolis – GO	5	2003	GO-191	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	87.0%	AF291705
Goianápolis – GO	5	2003	GO-192	<i>Tomato golden vein virus</i>	92.4%	JF803254
Luziânia – GO	6	2003	GO-196	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	FJ824808
Luziânia – GO	6	2003	GO-197	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JX415199
Luziânia – GO	6	2003	GO-198	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.1%	JX415199
Goianápolis – GO	4	2003	GO-199	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.0%	JF803254
Orizona – GO	7	2003	GO-204	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415199
Orizona – GO	7	2003	GO-208	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	JX415196
Orizona – GO	7	2003	GO-209	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JX415199
Orizona – GO	7	2003	GO-210	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	JX415199
Vianópolis – GO	7	2003	GO-211	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	JX415199
Vianópolis – GO	7	2003	GO-212	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	JX415199
Vianópolis – GO	7	2003	GO-213	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	JX415199
Vianópolis – GO	9	2003	GO-214	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415198
Morrinhos – GO	8	2003	GO-218	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	89.4%	KC706653
Morrinhos – GO	8	2003	GO-219	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	JF803263
Morrinhos – GO	8	2003	GO-220	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	JF803263
Morrinhos – GO	8	2003	GO-221	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.9%	JF803254
Morrinhos – GO	8	2003	GO-227	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	JF803261
Morrinhos – GO	8	2003	GO-228	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415196
Morrinhos – GO	8	2003	GO-229	<i>Tomato golden vein virus</i>	99.0%	JF803254
Morrinhos – GO	8	2003	GO-230	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.3%	AF291705
Morrinhos – GO	8	2003	GO-231	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	99.3%	KC706646
Itaberaí – GO	8	2003	GO-232	<i>Tomato golden vein virus</i>	87.0%	JF803254
Goianápolis – GO	9	2003	GO-244	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.9%	JF803254
Goianápolis – GO	9	2003	GO-245	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.6%	AF291705
Goianápolis – GO	9	2003	GO-246	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	93.4%	AF291705
Goianápolis – GO	9	2003	GO-247	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.2%	JF803254
Goianápolis – GO	9	2003	GO-248	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.7%	JF803254
Goianápolis – GO	9	2003	GO-249	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.0%	JF803254
Goianápolis – GO	9	2003	GO-250	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.9%	AF291705
Goianápolis – GO	9	2003	GO-251	<i>Tomato golden vein virus</i>	87.7%	JF803254

Goianápolis – GO	9	2003	GO-259	<i>Tomato golden vein virus</i>	99.2%	JF803254
Goiânia – GO	9	2003	GO-289	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	98.9%	AF291705
Goiânia – GO	9	2004	GO-287	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	95.8%	AF291705
Goiânia – GO	9	2004	GO-288	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415199
Goiânia – GO	9	2004	GO-290	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415199
Silvania – GO	7	2004	GO-296	<i>Tomato golden vein virus</i>	95.1%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-297	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	91.2%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-298	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	90.7%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-299	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	90.7%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-300	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	91.9%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-301	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	89.4%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-302	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	92.0%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-303	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	96.5%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-304	<i>Tomato golden vein virus</i>	95.0%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-305	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.7%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-306	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	93.1%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-307	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	90.5%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-308	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.7%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-309	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	94.0%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-310	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	88.4%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-311	<i>Tomato golden vein virus</i>	93.5%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-320	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.0%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-321	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.0%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-322	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.4%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-323	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	92.7%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-324	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	90.2%	KC706646
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-325	<i>Tomato golden vein virus</i>	88.7%	JF803254
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-326	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.6%	JF803262
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-330	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	90.6%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-331	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	92.9%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-332	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.2%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-333	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	98.3%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-334	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.5%	AF291705
Leopoldo Bulhões – GO	11	2004	GO-336	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.6%	JF803254
Itaberaí – GO	4	2006	GO-341	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JF803261
Itaberaí – GO	4	2006	GO-342	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	JF803249
Itaberaí – GO	4	2006	GO-343	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	JX415196
Goianápolis – GO	9	2006	GO-355	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.7%	JF803254
Goiânia – GO	7	2006	GO-356	<i>Tomato severe rugose virus</i>	87.5%	KC004077
Goiânia – GO	4	2006	GO-357	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.3%	JX415196
Goiânia – GO	4	2006	GO-358	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.6%	JF803254
Goiânia – GO	4	2006	GO-360	<i>Tomato golden vein virus</i>	97.5%	JF803254
Goiânia – GO	4	2006	GO-361	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.2%	JF803254
Goiânia – GO	4	2006	GO-365	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	JX415196
Itaberaí – GO	7	2006	GO-383	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.0%	JF803261

Itaberaí – GO	7	2006	GO-384	Tomato mottle leaf curl virus	89.0%	JF803248
Itaberaí – GO	7	2006	GO-386	Tomato severe rugose virus	99.0%	JX415196
Itaberaí – GO	7	2006	GO-388	Tomato golden vein virus	94.0%	JF803254
Itaberaí – GO	7	2006	GO-390	Tomato severe rugose virus	81.0%	JX415193
Itaberaí – GO	7	2006	GO-392	Tomato golden vein virus	97.1%	JF803254
Itaberaí – GO	6	2006	GO-393	Tomato severe rugose virus	87.9%	KC706620
Goianápolis – GO	7	2007	GO-369	Tomato golden vein virus	97.9%	JF803254
Goianápolis – GO	7	2007	GO-370	Tomato yellow vein streak virus	98.4%	KC706646
Goianápolis – GO	7	2007	GO-371	Tomato golden vein virus	91.8%	JF803254
Goianápolis – GO	7	2007	GO-372	Tomato yellow vein streak virus	99.0%	KC706646
Goianápolis – GO	7	2007	GO-373	Tomato golden vein virus	95.4%	JF803254
Goianápolis – GO	7	2007	GO-374	Tomato rugose mosaic virus	98.8%	AF291705
Goianápolis – GO	7	2007	GO-375	Tomato severe rugose virus	95.2%	KC706620
Goianápolis – GO	7	2007	GO-376	Tomato severe rugose virus	98.9%	JF803261
Goianápolis – GO	5	2010	GO-467	Tomato severe rugose virus	94.7%	JX415196
Goianápolis – GO	5	2010	GO-468	Tomato severe rugose virus	97.0%	JX415196
Goianápolis – GO	5	2010	GO-469	Tomato severe rugose virus	98.1%	JX415196
Goianápolis – GO	5	2010	GO-470	Tomato severe rugose virus	96.0%	JX415196
Goianápolis – GO	5	2010	GO-471	Tomato severe rugose virus	97.7%	JX415196
Goianápolis – GO	6	2010	GO-477	Tomato severe rugose virus	97.5%	FJ824808
Goianápolis – GO	6	2010	GO-478	Tomato severe rugose virus	98.4%	JX415196
Goianápolis – GO	6	2010	GO-479	Tomato severe rugose virus	91.4%	JX415196
Goianápolis – GO	6	2010	GO-480	Tomato severe rugose virus	99.3%	JX415196
Goianápolis – GO	6	2010	GO-481	Tomato rugose mosaic virus	95.0%	AF291705
Goianápolis – GO	6	2010	GO-482	Tomato severe rugose virus	90.1%	JX415196
Goianápolis – GO	6	2010	GO-485	Tomato severe rugose virus	92.2%	JX415196
Goianápolis – GO	6	2010	GO-486	Tomato golden vein virus	93.0%	JF803254
Goianápolis – GO	6	2010	GO-487	Tomato golden vein virus	88.6%	JF803254
Goianápolis – GO	6	2010	GO-488	Tomato golden vein virus	88.7%	JF803254
Goianápolis – GO	6	2010	GO-489	Tomato golden vein virus	91.2%	JF803254
Goianápolis – GO	6	2010	GO-490	Tomato golden vein virus	88.8%	JF803254
Goianápolis – GO	6	2010	GO-491	Tomato golden vein virus	92.3%	JF803254
Goianápolis – GO	6	2010	GO-492	Tomato golden vein virus	93.8%	JF803254
Goiânia – GO	5	2011	GO-493	Tomato severe rugose virus	90.1%	FJ824808
Planaltina de Goiás – GO	11	2011	GO-495	Tomato mottle leaf curl virus	96.7%	KC706615
Planaltina de Goiás – GO	11	2011	GO-496	Tomato severe rugose virus	98.6%	JX415196
Planaltina de Goiás – GO	11	2011	GO-497	Tomato severe rugose virus	99.0%	JX415196
Planaltina de Goiás – GO	11	2011	GO-498	Tomato severe rugose virus	98.5%	JX415196
Planaltina de Goiás – GO	11	2011	GO-499	Tomato severe rugose virus	98.5%	FJ824808
Planaltina de Goiás – GO	11	2011	GO-500	Tomato mottle leaf curl virus	98.3%	KC706616
Planaltina de Goiás – GO	11	2011	GO-501	Tomato severe rugose virus	98.7%	JX415196
Goiânia – GO	11	2011	GO-502	Tomato severe rugose virus	97.1%	FJ824808
Goiânia – GO	11	2011	GO-503	Tomato severe rugose virus	98.6%	JF803261
Goiânia – GO	11	2011	GO-504	Tomato severe rugose virus	98.4%	JX415196
Aparecida de Goiânia – GO	5	2012	GO-505	Tomato severe rugose virus	87.3%	FJ824808

Piracanjuba – GO	5	2012	GO-508	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	FJ824808
Goiânia – GO	9	2012	GO-511	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.0%	KC706616
Goiânia – GO	8	2012	GO-513	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.8%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-525	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.3%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-526	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.4%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-527	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-528	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.6%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-531	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.6%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-532	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.2%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-533	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.5%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-534	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-535	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.9%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-536	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	KC706616
Corumbá de Goiás – GO	10	2012	GO-537	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.5%	KC706616
Hidrolândia – GO	5	2013	GO-550	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.3%	FJ824808
Hidrolândia – GO	5	2013	GO-553	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.9%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-554	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.6%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-555	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.4%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-556	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.5%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-557	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.9%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-559	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.5%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-560	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.1%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-561	<i>Tomato severe rugose virus</i>	92.4%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-562	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.8%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-563	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.7%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-564	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.7%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-566	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.6%	FJ824808
Corumbá de Goiás – GO	7	2013	GO-567	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-569	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.5%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-570	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.1%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-571	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.9%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-572	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.3%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-573	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.1%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-574	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.7%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-577	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.5%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-578	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.0%	FJ824808
Goianápolis – GO	9	2013	GO-579	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.4%	FJ824808
Goianápolis – GO	11	2013	GO-580	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.6%	JX415196
Goianápolis – GO	11	2013	GO-581	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	JX415196
Goianápolis – GO	11	2013	GO-582	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.9%	JX415196
Goianápolis – GO	11	2013	GO-583	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.0%	JF803254
Alexânia – GO	8	2014	GO-588	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	JX415196
Alexânia – GO	8	2014	GO-589	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JF803261
Alexânia – GO	8	2014	GO-590	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	JF803261
Luziânia – GO	10	2014	GO-591	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	JX415196

Nova Fátima – GO	7	2015	GO-593	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Nova Fátima – GO	7	2015	GO-594	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	85.0%	KC706615
Bonfinópolis – GO	8	2015	GO-597	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Bonfinópolis – GO	8	2015	GO-599	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Bonfinópolis – GO	8	2015	GO-600	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JX415196
Bonfinópolis – GO	8	2015	GO-603	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JF803263
Bonfinópolis – GO	8	2015	GO-604	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.0%	KC706615
Bonfinópolis – GO	8	2015	GO-605	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	FJ824808
Cristalina – GO	9	2015	GO-609	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Formosa – GO	9	2015	GO-610	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JX415196

REGIÃO SUDESTE						
Local	Mês	Ano	Isolado	Espécie Viral	Blastn	Acesso
<b>ESPÍRITO SANTO</b>						
Venda Nova do Imigrante – ES	11	2009	ES-007	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.3%	KC706584
Venda Nova do Imigrante – ES	11	2009	ES-008	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.0%	EU710750
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2012	ES-034	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.4%	KC706585
Santa Tereza – ES	9	2012	ES-051	<i>Tomato common mosaic virus</i>	83.2%	KC706589
Santa Tereza – ES	9	2012	ES-052	<i>Tomato common mosaic virus</i>	94.6%	KC706589
Santa Tereza – ES	9	2012	ES-053	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.2%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-064	<i>Tomato common mosaic virus</i>	92.3%	KC706589
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-065	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.8%	KC706585
São Roque do Cannã – ES	9	2012	ES-067	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	94.1%	JF803253
São Roque do Cannã – ES	9	2012	ES-068	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	95.0%	JF803253
São Roque do Cannã – ES	9	2012	ES-069	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	94.4%	JF803253
São Roque do Cannã – ES	9	2012	ES-070	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.4%	KC706585
São Roque do Cannã – ES	9	2012	ES-071	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	93.9%	JF803253
Colatina – ES	9	2012	ES-078	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.9%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-079	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.7%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-080	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.7%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-081	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.8%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-082	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.9%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-083	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.9%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-084	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.0%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-085	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.9%	KC706585
Colatina – ES	9	2012	ES-086	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.4%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-087	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.1%	KC706616
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-088	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415196
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-089	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.0%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-091	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.3%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-092	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.3%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-094	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.7%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-095	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.8%	KC706585



Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-097	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.9%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	9	2012	ES-098	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.0%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	1	2013	ES-103	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.1%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	4	2013	ES-106	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.0%	KC706585
Santa Maria de Jetibá – ES	4	2013	ES-107	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.2%	KC706589
Santa Maria de Jetibá – ES	4	2013	ES-108	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.9%	KC706589
Santa Maria de Jetibá – ES	4	2013	ES-109	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.0%	KC706589
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2013	ES-111	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.3%	KC706589
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2013	ES-112	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.0%	KC706585
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2015	ES-113	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.4%	KC706589
Venda Nova do Imigrante – ES	3	2015	ES-115	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	JF803263
Venda Nova do Imigrante – ES	3	2015	ES-117	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.8%	JF803261
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2015	ES-118	<i>Tomato common mosaic virus</i>	96.7%	KC706585
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2015	ES-119	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.0%	JF803261
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2015	ES-120	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JF803261
Venda Nova do Imigrante – ES	4	2015	ES-121	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JX415196
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-124	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.8%	KC706585
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-125	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.0%	KC706585
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-126	<i>Tomato common mosaic virus</i>	96.9%	KC706585
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-127	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.0%	KC706585
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-128	<i>Tomato common mosaic virus</i>	96.9%	KC706575
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-129	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.0%	KC706575
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-130	<i>Tomato common mosaic virus</i>	97.0%	KC706575
Venda Nova do Imigrante – ES	5	2015	ES-131	<i>Tomato common mosaic virus</i>	94.0%	KC706575
Venda Nova do Imigrante – ES	6	2015	ES-132	<i>Tomato common mosaic virus</i>	90.0%	KC706589
Marechal Floriano – ES	7	2015	ES-133	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.0%	KC706585
<b>MINAS GERAIS</b>						
Araguari – MG	9	2001	MG-042	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	91.0%	KC706646
Araguari – MG	9	2001	MG-043	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	98.5%	KC706629
Araguari – MG	9	2001	MG-044	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	93.2%	KC706629
Araguari – MG	9	2001	MG-046	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	90.0%	AF291705
Araguari – MG	9	2001	MG-047	<i>Tomato golden vein virus</i>	98.0%	JF803259
Araguari – MG	9	2001	MG-048	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.0%	JF803254
Araguari – MG	9	2001	MG-049	<i>Tomato golden vein virus</i>	97.0%	JF803259
Araguari – MG	9	2001	MG-050	<i>Tomato golden vein virus</i>	99.0%	JF803259
Serra Negra – MG	10	2002	MG-011	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	94.9%	AF291705
Serra Negra – MG	10	2002	MG-012	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	91.6%	AF291705
Serra Negra – MG	10	2002	MG-013	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.0%	JF803261
Serra Negra – MG	10	2002	MG-014	<i>Tomato golden vein virus</i>	96.6%	JF803254
Serra Negra – MG	10	2002	MG-015	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	90.2%	KC706653
Serra Negra – MG	10	2002	MG-016	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	91.0%	KC706561
Serra Negra – MG	10	2002	MG-017	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	97.0%	AF291705
Serra Negra – MG	10	2002	MG-018	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	92.0%	KC706646
Serra Negra – MG	10	2002	MG-019	<i>Tomato golden vein virus</i>	99.0%	JF803259
Cascalho Rico – MG	10	2002	MG-028	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	FJ824808

Cascalho Rico – MG	10	2002	MG-029	<i>Tomato golden vein virus</i>	89.6%	JF803259
Cascalho Rico – MG	10	2002	MG-030	<i>Tomato golden vein virus</i>	92.0%	JF803259
Cascalho Rico – MG	10	2002	MG-031	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.6%	JF803262
Cascalho Rico – MG	10	2002	MG-035	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	FJ824808
Monte Carmelo – MG	2	2008	MG-052	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.4%	KC706616
Monte Carmelo – MG	2	2008	MG-055	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.8%	JX415196
Mateus Leme – MG	3	2010	MG-072	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.6%	KC706562
Mateus Leme – MG	3	2010	MG-073	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	99.7%	KC706547
Mateus Leme – MG	3	2010	MG-074	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.0%	KC706562
Mateus Leme – MG	3	2010	MG-075	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.6%	KC706562
Mateus Leme – MG	3	2010	MG-077	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.4%	JF803261
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-084	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.3%	KC706562
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-085	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.3%	KC706562
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-086	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.9%	KC706551
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-087	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.0%	KC706560
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-088	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.5%	KC706560
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-089	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	92.4%	KC706560
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-090	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.3%	KC706551
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-091	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-092	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	91.4%	KC706551
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-093	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.1%	KC706551
Mateus Leme – MG	4	2010	MG-094	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.6%	KC706560
Serra Azul – MG	6	2010	MG-098	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.5%	KC706551
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-106	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.7%	JF803259
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-107	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	92.0%	KC706645
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-108	<i>Tomato golden vein virus</i>	90.5%	JF803254
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-109	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-110	<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	91.1%	KC706645
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-111	<i>Tomato severe rugose virus</i>	91.6%	JX865618
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-112	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.7%	JX865649
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-113	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.8%	JX865636
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-114	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.3%	JF803254
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-115	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JX865649
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-116	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.7%	JX865649
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-117	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.1%	JX865649
Pouso Alegre – MG	7	2010	MG-118	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JX865649
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-119	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.7%	JX415196
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-120	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.8%	KC706552
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-121	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.2%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-122	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	92.4%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-123	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.8%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-124	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-125	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-126	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.0%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-128	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.8%	KC706551

Mateus Leme – MG	7	2010	MG-129	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.0%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-130	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.9%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-131	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.4%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-132	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.0%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-133	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	92.6%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-134	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.6%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-135	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.0%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-136	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.8%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-137	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.0%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-138	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.1%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-139	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.1%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-140	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.8%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-141	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.3%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-142	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.2%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-144	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.2%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-145	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.9%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-149	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	92.1%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-150	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	91.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-151	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.0%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-152	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.3%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-153	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.5%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-154	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.4%	JX415196
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-155	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-156	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.0%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-157	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-158	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.8%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-159	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.1%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-160	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-161	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.1%	JX415196
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-162	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.2%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-163	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-164	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-165	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.3%	JX415196
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-168	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	99.1%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-169	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.7%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-170	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-171	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.1%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-172	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-173	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-174	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.1%	JX415196
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-177	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.6%	JX415196
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-178	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.7%	KC706551
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-179	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-180	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.2%	KC706560

Mateus Leme – MG	7	2010	MG-182	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	KC706619
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-184	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	99.1%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-185	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	95.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-187	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-188	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	92.9%	KC706560
Mateus Leme – MG	7	2010	MG-189	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.5%	KC706551
Mateus Leme – MG	9	2010	MG-195	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415202
Mateus Leme – MG	9	2010	MG-202	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	KC004074
Mateus Leme – MG	9	2010	MG-221	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415196
Mateus Leme – MG	9	2010	MG-222	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	92.3%	KC706551
Mateus Leme – MG	9	2010	MG-225	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	91.4%	KC706551
Mateus Leme – MG	9	2010	MG-227	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	93.5%	KC706551
Mateus Leme – MG	9	2010	MG-228	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.0%	KC706560
Jardim – MG	9	2010	MG-250	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	97.8%	KC706551
Jardim – MG	9	2010	MG-266	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.0%	KC706551
Jardim – MG	9	2010	MG-268	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	96.0%	KC706560
Jardim – MG	9	2010	MG-269	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	94.0%	KC706560
Serra Azul – MG	10	2010	MG-277	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.0%	KC706551
Serra Azul – MG	10	2010	MG-278	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	98.0%	KC706560
Serra Azul – MG	10	2010	MG-279	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	KC706619
Serra Azul – MG	10	2010	MG-282	<i>Tomato severe rugose virus</i>	92.0%	JX865650
Serra Azul – MG	10	2010	MG-283	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	89.0%	KC706560
Serra Azul – MG	10	2010	MG-284	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	88.0%	KC706560
Serra Azul – MG	10	2010	MG-285	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.0%	KC004085
Serra Azul – MG	10	2010	MG-286	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.0%	KC004085
Serra Azul – MG	10	2010	MG-287	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	91.0%	AY090557
Serra Azul – MG	10	2010	MG-288	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	92.0%	KC706560
Ituiutaba – MG	4	2011	MG-291	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	EU086591
Ituiutaba – MG	4	2011	MG-292	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	EU086591
Ituiutaba – MG	4	2011	MG-293	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	EU086591
Ituiutaba – MG	4	2011	MG-294	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	EU086591
Ituiutaba – MG	4	2011	MG-295	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	EU086591
Ituiutaba – MG	4	2011	MG-296	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	EU086591
Araguari – MG	7	2011	MG-298	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Araguari – MG	7	2011	MG-299	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.3%	JX415196
Araguari – MG	7	2011	MG-300	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-301	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-305	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-307	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.5%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-308	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-310	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-311	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-312	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.2%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-313	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.3%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-314	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.1%	JX415196

Araguari – MG	8	2012	MG-315	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93.3%	KC706616
Araguari – MG	8	2012	MG-316	<i>Tomato severe rugose virus</i>	92.0%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-319	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.6%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-320	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.7%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-321	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-322	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-323	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-324	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-325	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.9%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-326	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.7%	JF803248
Araguari – MG	8	2012	MG-329	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-330	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-333	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	97.3%	KC706616
Araguari – MG	8	2012	MG-339	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-340	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-343	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-346	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	JF803263
Araguari – MG	8	2012	MG-347	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.8%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-348	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-349	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JX415196
Araguari – MG	8	2012	MG-368	<i>Tomato yellow spot virus</i>	93.8%	JX513952
Coimbra – MG	11	2014	MG-371	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	KC706619
Itacarambi – MG	6	2015	MG-378	<i>Sida mosaic Alagoas virus</i>	85.0%	JF694472
Itacarambi – MG	6	2015	MG-380	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.0%	KC706616
Itacarambi – MG	6	2015	MG-381	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	KC706616
Pimenta – MG	9	2015	MG-382	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Pimenta – MG	9	2015	MG-383	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.0%	KC706616
Pimenta – MG	9	2015	MG-384	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.0%	JX415196
Pimenta – MG	9	2015	MG-385	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Pimenta – MG	9	2015	MG-386	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.0%	KC706616
Pimenta – MG	9	2015	MG-387	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	85.0%	KC706616
<b>RIO DE JANEIRO</b>						
Paty do Alferes – RJ	7	2006	RJ-001	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.8%	KC706585
Paty do Alferes – RJ	7	2006	RJ-003	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	90.3%	JF803252
Paty do Alferes – RJ	7	2006	RJ-006	<i>Tomato common mosaic virus</i>	98.4%	KC706589
Paty do Alferes – RJ	7	2006	RJ-007	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.9%	KC706585
Paty do Alferes – RJ	7	2006	RJ-008	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.6%	KC706589
Paty do Alferes – RJ	7	2006	RJ-009	<i>Tomato common mosaic virus</i>	99.5%	KC706589
São José do Ubá – RJ	7	2006	RJ-015	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	92.4%	JF803253
São José do Ubá – RJ	7	2006	RJ-016	<i>Sida yellow net virus</i>	96.4%	JX871376
São José do Ubá – RJ	7	2006	RJ-017	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	92.8%	JF803253
São José do Ubá – RJ	7	2006	RJ-018	<i>Sida yellow net virus</i>	98.1%	JX871376
São José do Ubá – RJ	7	2006	RJ-019	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	92.3%	JF803253
São José do Ubá – RJ	7	2006	RJ-020	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	92.5%	JF803253
São José do Ubá – RJ	6	2006	RJ-021	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	91.0%	JF803253

São José do Ubá – RJ	6	2006	RJ-022	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	92.0%	JF803253
São José do Ubá – RJ	6	2006	RJ-023	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	92.0%	JF803253
Cambuci – RJ	7	2010	RJ-025	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	KC004069
Cambuci – RJ	7	2010	RJ-026	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.6%	KC706619
Cambuci – RJ	7	2010	RJ-027	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	KC706619
Cambuci – RJ	7	2010	RJ-028	<i>Sida yellow net virus</i>	96.8%	JX871376
Cambuci – RJ	7	2010	RJ-029	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	92.1%	JF803253
Cambuci – RJ	7	2010	RJ-031	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.9%	JF803251
Cambuci – RJ	7	2010	RJ-032	<i>Tomato interveinal chlorosis virus</i>	93.5%	JF803253
Aperibé – RJ	7	2015	RJ-035	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Aperibé – RJ	7	2015	RJ-036	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Aperibé – RJ	7	2015	RJ-037	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	JX415196
Aperibé – RJ	7	2015	RJ-038	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.0%	JX415196
Aperibé – RJ	7	2015	RJ-040	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-041	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-042	<i>Tomato common mosaic virus</i>	92.0%	KC706585
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-044	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.0%	JX415196
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-047	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-048	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-051	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-052	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Paty do Alferes – RJ	10	2015	RJ-053	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
<b>SÃO PAULO</b>						
Sumaré – SP	11	2001	SP-066	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	88.1%	JF803249
Monte Mor – SP	3	2006	SP-002	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.5%	KC004080
Monte Mor – SP	3	2006	SP-003	<i>Tomato severe rugose virus</i>	90.9%	JF803261
Monte Mor – SP	3	2006	SP-004	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.4%	JF803254
Monte Mor – SP	3	2006	SP-005	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.9%	JF803254
Jaguariúna – SP	8	2006	SP-006	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.2%	EU086591
Jaguariúna – SP	8	2006	SP-008	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	HQ606467
Mogi Guaçu – SP	7	2007	SP-016	<i>Tomato golden vein virus</i>	91.9%	JF803259
Mogi Guaçu – SP	7	2007	SP-017	<i>Tomato golden vein virus</i>	94.7%	JF803259
Mogi Guaçu – SP	7	2007	SP-018	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.1%	KC706619
Tietê – SP	2	2008	SP-023	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.0%	HQ606467
Piracicaba – SP	2	2008	SP-024	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	92.6%	JF803250
Piracicaba – SP	2	2008	SP-025	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	91.6%	JF803249
Piracicaba – SP	2	2008	SP-026	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93.6%	JF803250
Piracicaba – SP	2	2008	SP-027	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	93.5%	JF803249
Piracicaba – SP	2	2008	SP-028	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.8%	JF803246
Piracicaba – SP	2	2008	SP-031	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	86.8%	JF803250
Piracicaba – SP	2	2008	SP-033	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	87.7%	JF803249
Piracicaba – SP	2	2008	SP-037	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.3%	JF803249
Piracicaba – SP	2	2008	SP-039	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	JF803250
Piracicaba – SP	2	2008	SP-041	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.5%	JF803246
Piracicaba – SP	2	2008	SP-042	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	96.4%	JF803246

Piracicaba – SP	2	2008	SP-054	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.5%	JF803249
Piracicaba – SP	2	2008	SP-056	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.1%	JF803249
Piracicaba – SP	2	2008	SP-057	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	94.8%	JF803246
Piracicaba – SP	2	2008	SP-058	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	89.9%	JF803249
Piracicaba – SP	2	2008	SP-059	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	99.0%	JF803250
Piracicaba – SP	2	2008	SP-060	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.2%	JF803247
Estiva Gerbi – SP	10	2010	SP-071	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.2%	KC706619
Estiva Gerbi – SP	10	2010	SP-072	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	KC706619
Estiva Gerbi – SP	10	2010	SP-073	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.1%	KC706619
Estiva Gerbi – SP	10	2010	SP-074	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	KC706619
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-081	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	EU086591
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-082	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.0%	KC706619
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-084	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	FJ824808
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-087	<i>Tomato severe rugose virus</i>	89.9%	HQ606467
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-088	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	HQ606467
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-089	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	EU086591
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-096	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	EU086591
Ribeirão Grande – SP	5	2011	SP-098	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	EU086591
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-103	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.7%	FJ824808
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-104	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	FJ824808
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-105	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.2%	HQ606467
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-106	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.5%	HQ606467
Capão Bonito – SP	5	2011	SP-111	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	98.0%	KC706616
Paranapuã – SP	7	2011	SP-114	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	FJ824808
Sumaré – SP	11	2011	SP-115	<i>Tomato severe rugose virus</i>	93.1%	JF803261
Sumaré – SP	11	2011	SP-116	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	JF803261
Sumaré – SP	11	2011	SP-117	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	JF803261
Sumaré – SP	11	2011	SP-118	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	JF803261
Sumaré – SP	11	2011	SP-121	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	HQ606467
Sumaré – SP	11	2011	SP-123	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	HQ606467
Sumaré – SP	11	2011	SP-124	<i>Tomato severe rugose virus</i>	88.0%	HQ606467
Sumaré – SP	11	2011	SP-125	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.9%	HQ606467
Monte Mor – SP	4	2013	SP-136	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.5%	KC004080
Monte Mor – SP	4	2013	SP-137	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	EU086591
Monte Mor – SP	4	2013	SP-138	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.0%	EU086591
Monte Mor – SP	4	2013	SP-139	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	EU086591
Sumaré – SP	4	2013	SP-140	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	EU086591
Sumaré – SP	4	2013	SP-141	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	EU086591
Sumaré – SP	4	2013	SP-142	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	EU086591
Sumaré – SP	4	2013	SP-143	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.6%	EU086591
Itapeva – SP	4	2014	SP-153	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JF803261
Itapeva – SP	4	2014	SP-154	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	HQ606467
Itapeva – SP	4	2014	SP-155	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	JX415196
Itapeva – SP	4	2014	SP-156	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	JF803261
Itapeva – SP	4	2014	SP-157	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	JF803261

Itapira – SP	6	2015	SP-160	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.0%	EU600238
Itapira – SP	6	2015	SP-161	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	EU600238
Itapira – SP	6	2015	SP-162	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.0%	EU600238
Capão Bonito – SP	9	2015	SP-165	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JF803261
Santo Antonio da Posse – SP	11	2015	SP-166	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	90.0%	KC706616

REGIÃO SUL						
Local	Mês	Ano	Isolado	Espécie Viral	Blastn	Acesso
<b>PARANÁ</b>						
Cambé – PR	8	2005	PR-097	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.6%	KC706645
Marilândia – PR	5	2006	PR-098	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Faxinal – PR	9	2006	PR-099	<i>Tomato severe rugose virus</i>	95.9%	KC706619
Faxinal – PR	9	2006	PR-100	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	KC706619
Faxinal – PR	9	2006	PR-101	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Faxinal – PR	9	2006	PR-102	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	EU086591
Faxinal – PR	9	2006	PR-103	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	HQ606467
Faxinal – PR	9	2006	PR-104	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Faxinal – PR	9	2006	PR-105	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Faxinal – PR	9	2006	PR-106	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Cruzmaltina – PR	9	2006	PR-107	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	KC706619
Cruzmaltina – PR	9	2006	PR-108	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Cruzmaltina – PR	9	2006	PR-109	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Faxinal – PR	7	2006	PR-112	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.8%	KC706619
S. Gerônimo da Serra – PR	4	2007	PR-016	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.7%	HQ606467
Marilândia – PR	4	2007	PR-023	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	KC706619
Barro Branco – PR	4	2007	PR-038	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.1%	HQ606467
Barro Branco – PR	4	2007	PR-040	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	EU086591
Barro Branco – PR	4	2007	PR-041	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.2%	HQ606467
Marilândia – PR	4	2007	PR-053	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	KC706619
Marilândia – PR	4	2007	PR-055	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	KC706619
Marilândia – PR	4	2007	PR-057	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Marilândia – PR	4	2007	PR-059	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.3%	HQ606467
S. Gerônimo da Serra – PR	3	2008	PR-072	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
S. Gerônimo da Serra – PR	3	2008	PR-073	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.3%	KC706619
Reserva – PR	3	2008	PR-078	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	KC706619
Reserva – PR	3	2008	PR-079	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	HQ606467
Reserva – PR	3	2008	PR-080	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	KC706619
Reserva – PR	3	2008	PR-081	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	HQ606467
Reserva – PR	3	2008	PR-082	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.4%	HQ606467
Santa Mariana – PR	11	2014	PR-139	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	JX415196
Santa Mariana – PR	11	2014	PR-140	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.0%	JX415196
Mauá da Serra – PR	5	2015	PR-143	<i>Tomato severe rugose virus</i>	94.0%	JX415196
Mauá da Serra – PR	5	2015	PR-144	<i>Centrosema yellow spot virus</i>	91.0%	JN419002



RIO GRANDE DO SUL						
Feliz – RS	11	2005	RS-031	<i>Tomato mottle leaf curl virus</i>	95.9%	JF803251
Feliz – RS	11	2005	RS-032	<i>Tomato yellow spot virus</i>	97.2%	JX513952
Feliz – RS	11	2005	RS-033	<i>Tomato yellow spot virus</i>	98.1%	JX513952
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-011	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	KC706619
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-012	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-013	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-014	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-015	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-016	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-017	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-019	<i>Tomato severe rugose virus</i>	92.2%	HQ606467
Torres – RS	4	2009	RS-020	<i>Tomato severe rugose virus</i>	96.1%	AY029750
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-021	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	KC706619
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-022	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	KC706619
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-023	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-024	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	KC706619
D. Pedro de Alcântara – RS	4	2009	RS-025	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-026	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-027	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-028	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.3%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-029	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	KC706619
Torres – RS	4	2009	RS-030	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	KC706619
Caxias – RS	3	2011	RS-040	<i>Tomato yellow spot virus</i>	95.0%	JX513952
Caxias – RS	3	2011	RS-043	<i>Tomato yellow spot virus</i>	96.8%	FJ538207
Morro Redondo – RS	4	2013	RS-071	<i>Tomato rugose yellow leaf curl virus</i>	94.0%	JN381815
Feliz – RS	8	2013	RS-085	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.6%	EU086591
Feliz – RS	8	2013	RS-086	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.8%	FJ824808
Feliz – RS	8	2013	RS-087	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	EU086591
Feliz – RS	8	2013	RS-088	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	FJ824808
Feliz – RS	8	2013	RS-089	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.5%	FJ824808
SANTA CATARINA						
Florianópolis – SC	3	2006	SC-001	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	HQ606467
Florianópolis – SC	3	2006	SC-002	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Florianópolis – SC	3	2006	SC-003	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.5%	KC706619
Florianópolis – SC	3	2006	SC-004	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Florianópolis – SC	3	2006	SC-005	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.2%	KC004076
Florianópolis – SC	3	2006	SC-006	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Florianópolis – SC	3	2006	SC-007	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Florianópolis – SC	3	2006	SC-008	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.8%	KC706619
Florianópolis – SC	3	2006	SC-009	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.4%	KC706619
Florianópolis – SC	3	2006	SC-010	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Sto. Amaro Imperatriz – SC	3	2006	SC-012	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Sto. Amaro Imperatriz – SC	3	2006	SC-013	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Sto. Amaro Imperatriz – SC	3	2006	SC-014	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619

Sto. Amaro Imperatriz – SC	3	2006	SC-015	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Tijucas – SC	1	2007	SC-028	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Tijucas – SC	10	2008	SC-029	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.7%	KC706619
Tijucas – SC	10	2008	SC-030	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.1%	EU086591
Tijucas – SC	10	2008	SC-031	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.8%	KC706619
Tijucas – SC	10	2008	SC-032	<i>Tomato severe rugose virus</i>	99.6%	KC706619
Caçador – SC	3	2010	SC-034	<i>Tomato yellow spot virus</i>	89.8%	JX513952
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-044	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.9%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-045	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	HQ606467
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-050	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.2%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-051	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.5%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-052	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.3%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-053	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.9%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-054	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.0%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-055	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.5%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-056	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-057	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.9%	EU086591
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-058	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.4%	FJ824808
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-059	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.7%	KC706619
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-060	<i>Tomato severe rugose virus</i>	97.0%	KC706619
Sto. Amaro Imperatriz – SC	4	2011	SC-061	<i>Tomato severe rugose virus</i>	98.1%	FJ824808

