



**Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Fitopatologia**

Trabalho de Conclusão de Curso

**Caracterização molecular de begomovírus ocorrendo em tomateiro no
Distrito Federal**

Jordânia Davi Oliveira

**Brasília – DF
2021**

**Caracterização molecular de begomovírus ocorrendo em tomateiro no
Distrito Federal**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado na Universidade de Brasília
como uma parcial requisito para obter
o título em Graduação em
Agronomia.

Orientadora

Dra. Rita de Cássia Pereira Carvalho

**Brasília – DF
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, J. D.

Caracterização molecular de begomovírus ocorrendo em tomateiro no Distrito Federal

Jordânia Davi Oliveira

Brasília, 2021

41 Páginas

Trabalho de Conclusão - Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília DF.

Aos meus pais, dedico.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus pela sabedoria e benção da vida.

Aos meus pais por me ensinarem a buscar meus sonhos, minha avó América Moura (*in memoriam*) meu exemplo de mulher forte e determinada.

Agradeço a banca pela atenção e disponibilidade. A minha orientadora Rita de Cássia Pereira Carvalho a quem tanto admiro, pela compreensão, paciência em lecionar e por me ouvir quando precisei.

Agradecimentos especiais a Yonara Karine e Letícia Belmira sem vocês nada disso teria sido concretizado. Aos meus colegas de laboratório que deixaram o processo de aprendizado mais leve, Luciane Reis, Felipe Fochat e Flávia Milene por ter me ensinado tanto sobre a biologia molecular.

Aos meus amigos pela força, Lara Abreu, Felipe Augusto, Rodrigo Amorim, Ana Paula, Emily Dias, Gabriella Barbosa, Bárbara Alves, Emanuel Dias e Eduardo Alejandro. Ao meu companheiro Régis Rodrigues pelo cuidado, carinho e por acreditar em mim quando eu não mais acreditava.

Caracterização molecular de begomovírus ocorrendo em tomateiro no Distrito Federal

Jordânia Davi Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora:

em 05/11/21 Composta por:

Dra. Flávia Milene Barros Nery
Doutorado em Biologia Microbiana - UnB
(Membro Interno)

Dr. Márcio de Carvalho Pires
Departamento de Fitopatologia - UnB
(Membro Externo)

Dra. Rita de Cássia Pereira Carvalho
Departamento de Fitopatologia - UnB
(Orientadora Presidente)

Dr. Cleber Furlanetto
Departamento de Fitopatologia - UnB
(Membro Suplente)

**Brasília – DF
2021**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Código dos isolados de begomovírus com informações do ano e local de coleta	31
Tabela 2 Sequências de <i>primers</i> (DNA-A e DNA-B) utilizados para detecção de begomovírus.....	31
Tabela 3 Informações de cobertura, porcentagem de identidade e <i>E-value</i> obtidos após <i>BLASTn</i> no <i>GenBank</i> usando as sequências dos seis begomovírus provenientes de amostras do Distrito Federal.....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação da organização genômica de espécies de *Begomovirus* relatadas nesse trabalho: A) Nova espécie (DF-480); B) Tomato severe rugose virus – ToSRV (DF-556 e DF-167); C) tomato chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF-050, DF-046 e DF-024). As ORFs (*Open Reading Frames*) AV1, AC1, AC2, AC3, AC4 correspondentes ao DNA-A foram identificadas (representadas por cores) de acordo com as proteínas para que codificam: CP: proteína capsidial; Rep: proteína associada à replicação; TrAp: proteína ativadora de transcrição; REn: intensificador de replicação; AC4: determinante de sintoma e IR: região intergênica.....

Figura 2 Análise filogenética composta por sequências completas do DNA-A de espécies de *Begomovirus* obtidas nesse trabalho e destacadas em vermelho: tomato severe rugose virus –ToSRV (DF-556 e DF-167); nova espécie (DF-480); tomato chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF-050, DF-046 e DF-024) e outras retiradas de banco de dados (*Genbank*). As espécies retiradas de banco de dados empregadas nesta análise foram identificadas por seu acrônimo, seu número de acesso e sigla dos países onde foram originalmente descritas: BR= Brasil; US=Estados Unidos; AR= Argentina e ES=Espanha. As espécies virais e os números de acesso do *Genbank* são os seguintes: ToSRV (MT733815; MT733811; JF803261;KX458238; KX828624; MT627095; MT215001); ToCMoV (MT733804; MT215003; MT214086; KC706546; KC706561; KC706554; KC706550); sida mosaic Alagoas virus – SiYMaV (JF694472); sida yellow blotch virus – SiYBV (JX871380); sida angular mosaic virus – SiAMV (KX691404); oxalis yellow vein virus – OxYVV (KM887907); tomato yellow spot virus – ToYSV (FJ538207); tomato leaf distortion virus – ToLDV (KC706605) e sida mottle Alagoas virus – SiMoAV (KX896421). Sequência de tomato yellow leaf curl virus – TYLCV (AJ489258) foi utilizada como *outgroup*.....

Figura 3. *Sequence Demarcation Tool* (SDT) representativa da porcentagem de nucleotídeos entre as sequências completas do DNA-A de isolados de espécies de *Begomovirus* obtidas nesse trabalho e que estão destacadas em vermelho: tomato severe rugose virus –ToSRV (DF 556 e DF 167); nova espécie (DF-480) e tomato chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF 050, DF 046 e DF 024) e outras retiradas de banco de dados (*Genbank*). As espécies retiradas de banco de dados empregadas nesta análise foram identificadas por seu acrônimo, seu número de acesso e sigla dos países onde foram originalmente descritas: BR= Brasil; US=Estados Unidos; AR= Argentina e ES=Espanha. As espécies virais e os números de acesso do *Genbank* são os seguintes: oxalis yellow vein virus – OxYVV (KM887907); sida angular mosaic virus – SiAMV (KX691404); sida mosaic Alagoas virus – SiYMaV (JF694472); sida mottle Alagoas virus – SiMoAV (KX896421); sida yellow blotch virus – SiYBV (JX871380); tomato leaf distortion virus – ToLDV (KC706605); tomato yellow spot virus – ToYSV (FJ538207); ToSRV (MT733815; MT733811; JF803261;KX458238; KX828624; MT627095; MT215001); ToCMoV (MT733804; MT215003; MT214086; KC706546; KC706561; KC706554; KC706550) e tomato yellow leaf curl virus – TYLCV (AJ489258).....

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	9
GENERAL ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	13
JUSTIFICATIVA	15
OBJETIVO GERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
Capítulo 1: Revisão Bibliográfica	16
1.1 Taxonomia, origem e cultivo do tomate	16
1.2 Importância do cultivo de tomate no cenário mundial e no Brasil	17
1.3 Patógenos que acometem a tomaticultura	18
1.4 Família <i>Geminiviridae</i>	19
1.5 Gênero <i>Begomovirus</i>	19
1.6 Variabilidade em begomovírus	20
1.7 Controle das begomoviroses	21
1.8 Vetor mosca-branca	21
1.9 Genes de resistência à begomovírus	22
Referências Bibliográficas	23
Capítulo 2: Caracterização molecular de begomovírus ocorrendo em tomateiro no Distrito Federal	29
2.1 Introdução	29
2.2 Material e métodos	30
2.2.1 Obtenção dos isolados	30
2.2.2 Extração de DNA e RCA	30
2.2.3 Recuperação do genoma viral e montagem dos genomas	31
2.2.4 Análise filogenética	32
3. Resultados e Discussão	33
3.1 Recuperação do genoma completo dos isolados virais	33
3.2 Análise filogenética de begomovírus bipartidos	34
3.3 <i>Sequence Demarcation tool</i> (SDT)	35
4. Conclusão	38
Referências Bibliográficas	38

RESUMO GERAL

Oliveira, Jordânia Davi. Caracterização molecular de begomovírus ocorrendo em tomateiro no Distrito Federal, novembro de 2021. Trabalho de Conclusão de Curso - (TCC em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

O tomate (*Solanum lycopersicum* L., família Solanaceae), é uma das hortaliças mais consumidas no mundo todo e o seu cultivo apresenta grande importância socioeconômica em diferentes estados brasileiros, incluindo o Distrito Federal (DF). No DF o cultivo encontra-se distribuído em muitos Núcleos Rurais, apresentando uma ampla diversidade de sistemas de cultivo (campo aberto e protegido), sendo uma das hortaliças mais relevantes em termos de valor de produção (R\$ 58.725 milhões) e área plantada (772 ha). Além disso, a planta é usada como modelo para estudos genéticos para determinar a tolerância ao estresse, a qualidade do fruto e outras características. O processo de domesticação do tomate favoreceu uma maior suscetibilidade durante o cultivo ou armazenamento pós-colheita, a uma ampla gama de doenças que influenciam negativamente sua produtividade, e mais de 200 agentes fitopatogênicos foram relatados para a cultura. Desta forma, o cultivo quase o ano todo propicia condições favoráveis ao desenvolvimento de pragas e patógenos. Dentre os patógenos destacam-se espécies classificadas no gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*). Os begomovírus correspondem a vírus com genoma de DNA fita simples circular, pequeno, de aproximadamente 2.600 nucleotídeos (nts) que podem apresentar uma molécula de DNA-A em uma única partícula (denominados begomovírus monopartidos) ou duas moléculas de DNA (DNA-A e DNA-B). Na natureza a transmissão é feita de maneira eficiente pelo vetor aleirodídeo, extremamente polífago, mosca-branca [*Bemisia tabaci* *Middle East Asian Minor* - MEAM-1 (= biótipo B)], que foi introduzido no Brasil no início da década de 1990. Os primeiros relatos de epidemias de begomovírus em tomateiro foram feitos no DF em 1993 e a partir de então, vários outros estudos de levantamento, caracterização e registros de ocorrência de isolados de begomovírus ocorrendo em quase todas as outras regiões brasileiras foram realizadas, demonstrando um elevado número de espécies virais. Até o momento 21 espécies já foram caracterizadas a partir de tomateiro no país, sendo que destas onze ocorrem no Brasil, e recentemente duas novas espécies foram descritas no Distrito Federal, ilustrando a grande diversidade de begomovírus no país. A maioria dos begomovírus que ocorrem no país apresentam genoma bipartido. Esse complexo de begomovírus de tomateiro no Brasil apresenta múltiplas espécies de genoma bipartido com variados níveis de eficiência de transmissão pelo inseto vetor. Essas peculiaridades do vírus (genoma pequeno e bipartido sujeito aos eventos de mutação, recombinação e pseudo-recombinação) têm funcionado como elementos cruciais no processo de evolução deste grupo de vírus, contribuindo para uma constante alteração da estrutura genética das populações virais nas nossas condições. Diferentes estratégias têm sido empregadas para analisar diversidade viral e processos evolutivos que estão moldando a estrutura genético-molecular nestas populações virais. A principal delas tem sido a obtenção do genoma viral completo (componentes DNA-A e DNA-B) para posterior análise da diversidade, e proposição de novas espécies. A estratégia de controle mais eficiente é o uso de fontes de resistência e variedades de tomate contendo fatores de resistência de amplo espectro são uma característica essencial neste cenário de enorme diversidade de isolados virais no Brasil. Várias fontes de resistência às espécies de *Begomovirus* foram identificadas em espécies selvagens, incluindo *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4*, *Ty-5*, *Ty-6*, *tcm-1* e *tgr-1*. O mais utilizado dentre eles, é o *Ty-1*. Neste cenário de extrema diversidade, é possível que novas espécies, ainda não caracterizadas, possam estar ocorrendo no Distrito Federal. Recentemente, foi relatado que o isolado DF-640 é capaz de superar a resistência conferida pelo *Ty-1*. Neste cenário, conhecer a diversidade de populações de begomovírus, bem como novas espécies que estão surgindo é importante para dar suporte à programas de melhoramento. Neste contexto, o objetivo do

presente projeto foi caracterizar begomovírus ocorrendo em seis amostras do DF. Estas amostras haviam sido previamente caracterizadas usando informações parciais de genoma para o componente DNA-A e correspondiam a potenciais espécies novas de begomovírus. Para caracterização de begomovírus, presentes nestas amostras, após a extração de DNA, RCA e PCR, o genoma completo foi recuperado mediante sequenciamento *Sanger*, usando *primers walking* para o genoma completo do DNA-A e parcial para o DNA B. Os genomas foram montados no *Geneious* e após *Blastn* e análises de acordo com o recomendado para o grupo begomovírus, foi possível confirmar que uma destas amostras, denominada DF-480, corresponde a uma nova espécie para o gênero *Begomovirus*, coletada em Rajadinha. Os demais isolados, correspondendo a isolados de tomate severe rugose virus - ToSRV (DF-167 e DF-556, coletadas no Núcleo Rural São José e Núcleo Rural Tabatinga respectivamente) e tomate chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF-024, DF-046 e DF-050; todas coletadas no Gama-DF) tiveram suas sequências completas recuperadas, entretanto ToSRV e ToCMoV já haviam sido relatados infectando tomate no Distrito Federal.

GENERAL ABSTRACT

Oliveira, Jordânia Davi. Caracterização molecular de begomovírus ocorrendo em tomateiro no Distrito Federal, novembro de 2021. Trabalho de Conclusão de Curso - (TCC em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L., family Solanaceae) is one of the most consumed vegetables worldwide and its cultivation has great socioeconomic importance in different Brazilian states, the Federal District and surroundings. In the Federal District and surrounding areas, cultivation is distributed in many rural centers, with a wide diversity of cultivation systems (open and protected fields), being one of the most relevant vegetables in terms of production value (R\$ 58,725 million) and area planted (772 ha). In addition, the tomato plant is used as a model for genetic studies to determine stress tolerance, fruit quality and other characteristics. The tomato domestication process favors a greater susceptibility during cultivation or post-harvest storage to a wide range of diseases that negatively influence its productivity, and more than 200 phytopathogenic agents have been reported for the crop. Thus, cultivation almost all year round provides favorable conditions for the development of pests and pathogens. Among the pathogens, species classified in the genus *Begomovirus* (family *Geminiviridae*) are considered one of the most important. Begomoviruses correspond to viruses with a small circular single-stranded DNA genome with approximately 2,600 nucleotides (nts) that can present shows a DNA-A molecule in a single particle (called monopartite begomovirus) or two DNA molecules (DNA-A and DNA-B). In nature, transmission is efficiently carried out by the extremely polyphagous whitefly aleyrodid vector [*Bemisia tabaci* Middle East Asian Minor - MEAM-1 (= biotype B)], which was introduced in Brazil in the early 1990s. First reports of epidemics of begomovirus in tomato were carried out in the DF in 1993 and since then, several other studies to survey, characterize and record the occurrence of begomovirus isolates occurring in almost all other Brazilian regions have been carried out, demonstrating a high number of viral species. So far 21 species have been characterized from tomato in the country, eleven of which occur in Brazil, and recently two new species were described in the Federal District illustrating the great diversity of begomoviruses in the country. Most of the begomoviruses that occur in the country have a bipartite genome. This complex of tomato begomoviruses in Brazil has multiple species of bipartite genome with varying levels of transmission efficiency by the insect vector. These peculiarities of the virus (small and bipartite genome subject to mutation, recombination and pseudo-recombination events) have functioned as crucial elements in the evolution process of this group of viruses, contributing to a constant change in the genetic structure of viral populations in our conditions. Different strategies have been employed to analyze viral diversity and evolutionary processes that are shaping the molecular-genetic structure in these viral populations. The main one has been to obtain the complete viral genome (DNA-A and DNA-B components) for further analysis of diversity, and the proposal of new species. The most efficient control strategy is the use of resistance sources and tomato varieties containing broad-spectrum resistance factors. These are an essential feature in this scenario of enormous diversity of viral isolates in Brazil. Several sources of resistance to begomovirus species have been identified in wild species, including *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4*, *Ty-5*, *Ty-6*, *tcm-1* and *tgr-1*. The most used among them is *Ty-1*. In this scenario of extreme diversity, it is possible that new species, not yet characterized, may be occurring in the Federal District and DF-480. Recently, it was reported that the DF-640 isolate is able to overcome the resistance conferred by *Ty-1*. In this scenario, knowing the diversity of begomovirus populations, as well as new species that are emerging, is important to support breeding programs. In this context, the aim of this project was to characterize begomoviruses occurring in six samples from the Distrito Federal, DF-024, DF-046, DF-050, DF-167, DF-480 and DF-556. These samples had previously been

characterized using partial genome information for the DNA-A component and corresponded to potential new species of begomoviruses. To characterize the begomovirus present in these samples, after DNA extraction, RCA and PCR, the complete genome was retrieved by Sanger sequencing using walking primers for the complete DNA-A genome and partial for DNA B. The genomes were mounted in Geneious and after Blastn and analysis according to what was recommended for the begomovirus group, it was possible to confirm that one of these samples, called DF-480, corresponds to a new species for the genus *Begomovirus* found in Rajadinha-DF. The other isolates, corresponding to isolates of tomato severe rugose virus - ToSRV (DF-167 and DF-556, collected in Núcleo Rural São José and Núcleo Rural Tabatinga respectively) and tomato chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF-024, DF-046, DF-050, all collected in the region of Gama-DF) had their complete sequences recovered, however ToSRV and ToCMoV had already been reported infecting tomatoes in the Federal District.

INTRODUÇÃO

O cultivo de *Solanum lycopersicum* L. (família *Solanaceae*) é uma importante atividade econômica e social em todo país. O maior produtor mundial de tomate é a China com uma produtividade de 56 milhões de toneladas (t). O Brasil ocupa neste ranking a 10^a posição, com produção em área correspondente a 58.168 hectares (ha) (FAO 2020). Os maiores valores de produção e área plantada são crescentes na região Centro-Oeste do país. Este crescimento encontra-se associado ao uso de novas tecnologias, melhoramento genético e estabilidade climática (CONAB 2021). O Distrito Federal (DF) também se destaca nos quesitos produção e consumo de hortaliças, incluindo o tomateiro, que em sua maioria na região é cultivo protegido (CONAB 2021).

A planta de tomate tem como centro de origem a região Andina da América do Sul desde o Equador, Peru ao norte do Chile e Ilhas Galápagos (Peralta 2005; Darwin et al. 2003). A planta é uma dicotiledônea, que possui dois hábitos de crescimento, o tipo determinado e indeterminado, em que o primeiro é voltado para a agroindústria e o segundo apresenta colheitas prolongadas, em que a planta continua se desenvolvendo após a florescência e sua finalidade de consumo é *in natura* (Nascimento et al. 2012).

O cultivo do tomateiro quase que o ano todo, favorece a ocorrência de microrganismos fitopatogênicos como vírus, bactérias, nematoides e fungos (Lopes et al. 2011). As perdas de rendimento na tomaticultura devido a doenças podem variar de 70% a 95% da produção final (Rashid 2016).

Os exemplos de patógenos que causam perdas no tomateiro incluem o oomiceto *Phytophthora infestans* (Mont.) (Kariuki et al. 2020). Para doenças fúngicas podem ser citadas: tombamento de mudas, causada por isolados de *Pythium* spp, *Rhizoctonia solani* (Lopes 2005); murcha de fusário, causada por *Fusarium oxysporum* (Cabral et al. 2020; Gonçalves et al. 2020), *Alternaria linariae* e *A. grandis* causadoras da pinta preta (Peixoto et al. 2021), entre outras. As doenças bacterianas, podem ser citadas *Pectobacterium* spp., *Dickeya* spp, e *Ralstonia solanacearum* (Vancheva et al. 2021). Dentre os nematoides principais relatos de perdas são associados para isolados de *Meloidogyne* spp. (conhecido como nematoides das galhas) e *Pratylenchus* spp. (conhecido como nematoide das lesões radiculares) (Pinheiro et al. 2014; Inoue-Nagata et al. 2016).

Dentre os patógenos que afetam a cultura, os vírus merecem destaque pois são parasitas obrigatórios, não crescem em meios de cultura artificiais e dependem totalmente da hospedeira para concluir etapas do seu ciclo infeccioso (Eiras et al. 2018). Dentre as famílias virais, destaca-se a família *Geminiviridae*, gênero *Begomovirus*, cujas espécies causam grandes perdas na produção de tomate. A família *Geminiviridae* tem uma ampla gama de hospedeiros de importância econômica além do *Solanum lycopersicum* (Inoue-Nagata 2016).

Os begomovírus infectam uma ampla gama de plantas dicotiledôneas (Brown et al. 2015) e são transmitidos pelo vetor aleirodídeo *B. tabaci Middle East Asian Minor 1* – MEAM 1 (= biótipo B) (Barro et al. 2011; Krause-Sakate et al. 2020). *B. tabaci*, popularmente conhecida como mosca-branca, atua também como praga e vem causando grandes perdas na produção agrícola (Rojas et al. 2018). Acredita-se que um dos principais motivos da incidência de begomovírus aumentar cada vez mais no Brasil seja a eficiência da transmissão por MEAM 1 (Gilbertson et al. 2015).

Outro fator que é responsável pelo aumento das espécies em begomovírus refere-se à variabilidade considerável à que estes organismos estão sujeitos por meio de mecanismos de recombinações, mutações e pseudorecombinações (Roossinck 2005). Esse aumento na variabilidade de begomovírus favorece o surgimento de novas espécies, o que pode ser intensificado pela ocorrência frequente de infecções mistas (Reis et al. 2020). Uma das melhores opções para o controle de begomovirose consiste no uso de variedades contendo genes de resistência (Boiteux et al. 2012). Alguns genes de resistência já relatados são o *Ty-1* (Zamir et al. 1994), *Ty-2* (Hanson et al. 2000), *Ty-3* (Ji et al. 2007), *Ty-4* (Yan et al. 2018), *Ty-5* (Anbinder et al. 2009), *Ty-6* (Gill et al. 2019), *tcm-1* (Giordano et al. 2005), *tgr-1* (Bian et al. 2007).

Nesse contexto de diversidade genética de begomovírus, este trabalho teve como objetivo caracterizar espécies de begomovírus encontradas em tomateiro no Distrito Federal (previamente classificadas como potenciais espécies novas pela equipe do Laboratório de Virologia Vegetal – LVV- Fito e Melhoramento da Embrapa Hortaliças) para conhecer o panorama das espécies que estão ocorrendo no DF e dar suporte a estudos na área de melhoramento genético de tomateiro buscando resistência contra begomovirose.

JUSTIFICATIVA

Diante de um cenário de variabilidade e diversidade de begomovírus em tomateiro no país, associado a eficiência do vetor *B. tabaci* MEAM 1 na transmissão das espécies e ocorrência de infecções mistas, acredita-se que espécies novas de begomovírus podem estar presentes nas populações de tomateiro. A detecção e caracterização molecular (posteriormente biológica) dessas espécies é fundamental para auxiliar programas de melhoramento genético de tomateiro.

OBJETIVO GERAL

Caracterizar molecularmente seis isolados de begomovírus do Distrito Federal

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter a sequência completa do genoma DNA-A de seis isolados de begomovírus que infectam tomateiro no Distrito Federal.
- Realizar análises filogenéticas destes isolados.

Capítulo 1: Revisão Bibliográfica

1.1 Taxonomia, origem e cultivo do tomate

O tomate (*Solanum lycopersicum* Linnaeus. = *Lycopersicum esculatum* Mill.) é classificado na classe Magnoliopsida, gênero *Solanum* e família *Solanaceae* (Naturdata 2021). O *Solanum lycopersicum* é o maior e mais complexo gênero da família *Solanaceae*, com cerca de 1 500 espécies e 5.000 epítetos publicados. A planta de tomate possui como centro de origem a América do Sul (Agra 1999). Todas as espécies de tomate são nativas do Oeste-Sul da América com distribuição pelo centro do Equador, Peru até o Norte do Chile e Ilhas Galápagos (Darwin et al 2003; Peralta et al. 2005).

Em razão da sua grande disseminação, popularidade e adaptação mundial, o tomate pode ser cultivado em regiões de clima tropical e temperado. Quando as temperaturas não são favoráveis, o tomateiro também pode ser cultivado em condições de cultivo protegido (Adhikari et al. 2017).

Os aspectos do local para uma boa colheita dos frutos, são fundamentais. Um desses aspectos é a temperatura que para a grande variedade de tipologia do fruto, pode variar em entre 21°C a 24°C, embora se adaptem bem a um amplo leque de variações climáticas, temperaturas abaixo de 10°C e acima de 38°C podem danificar seus tecidos (Naika et al. 2006).

O tomateiro é uma cultura anual, a primeira colheita pode ser feita em torno dos 50 dias após florescência (Naika et al. 2006). Essa dicotiledônea possui dois hábitos de crescimento, o tipo determinado e indeterminado. O primeiro do tipo arbusto, tem seu crescimento determinado, que é voltado para a agroindústria. O crescimento indeterminado que são colheitas prolongadas, em que a planta continua se desenvolvendo após a florescência e sua finalidade de consumo é *in natura* (Nascimento et al. 2012).

Algumas das características do tomate como forma, tamanho e cor podem variar de acordo com o tipo de fruto escolhido (Naika et al. 2006). Têm-se as cultivares de tomates que tem destino de mesa as quais podem ser divididas em quatro grandes grupos: Cereja, Santa Cruz, Italiano e Salada (CONAB 2019).

1.2 Importância do cultivo de tomate no cenário mundial e no Brasil

O maior produtor mundial de tomate é a China com uma área de mais de um milhão de hectares plantados e 56 milhões de toneladas produzidas (FAO 2020). O Brasil ocupa neste contexto a 10^a posição correspondendo a 58.168 hectares (ha) (FAO, 2020). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, na safra de 2021, o Brasil teve 52.996 ha de área total colhida de tomate. Dentre as cinco regiões brasileiras, a região Sudeste, na safra de 2021, teve área colhida de 24.426 ha, seguida da região Centro-Oeste com 10.971 ha (IBGE 2021).

De acordo com dados do Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (IBGE 2021), o estado que mais contribuiu para a alta produção de tomate no Brasil, no ano de 2020, foi Goiás (GO), com 1.059.871 toneladas (t). Em contrapartida, Rondônia (RO) foi o estado em que houve a menor produção de tomate no ano passado (IBGE 2021).

Do total da produção anual no Brasil, estima-se que a maior parte é destinada para o consumo *in natura*, o tomate de mesa, comumente usados em saladas (Ribeiro et al. 2009). O outro segmento da tomaticultura é voltado para o uso industrial, como para uso na fabricação de ketchups, molhos e sopas. Este segmento tem também grande destaque e vêm recebendo bastante investimento em incrementos com intuito de melhorar produtividade (Vilela et al. 2012).

A hortaliça tem ganhado cada vez mais importância. A área destinada para a produção agrícola do tomate de mesa no Estado de Goiás vem apresentando redução desde os anos 2010, porém a quantidade em toneladas produzida por hectares vem crescendo. Isso mostra que os avanços tecnológicos, melhoramento genético de cultivares têm trazido resultados no aumento de produção (Furquim et al. 2020).

Dito isso, a tomaticultura tem grande destaque, devido ao alto investimento em produtividade, variedades produzidas e também geração de emprego e renda em todos os setores. Seu cultivo embora mecanizado em várias fases necessita de mão de obra e demanda um número expressivo de trabalhadores (Vilela et al. 2012).

Existe uma grande demanda pelo fruto, principalmente pelo fornecimento de nutrientes, promoção e manutenção da saúde. Diante dos benefícios proporcionados à saúde humana pelo consumo, o tomate passou a ser considerado um alimento funcional. Portanto, investimentos para maior produção e rendimento vêm sendo feitos ao longo dos anos a fim de atender à demanda cada vez maior de mercado (Adhikari et al. 2017).

Em áreas em que as hortaliças são cultivadas no sistema intensivo sem os devidos cuidados fitossanitários, doenças causadas por fitopatógenos podem reduzir em até 100% da produção. A correta identificação do agente causal e análise sobre o histórico de doenças é fundamental para planejar estratégias de controle e não ter perdas econômicas (Pereira et al. 2013).

1.3 Patógenos que acometem a tomaticultura

O cultivo do tomate o ano todo favorece a ocorrência de patógenos como vírus, bactérias, fungos, oomicetos e nematóides que causam perdas consideráveis de rendimento (Jones et al. 2014). Os exemplos de patógenos que causam perdas no tomateiro incluem isolados do oomiceto *P. infestans* (Mont.) causando a requeima ou mela (Kariuki et al. 2020). Outras doenças fúngicas principais incluem: tombamento de mudas, causada por isolados de espécies classificadas como *Pythium* spp, *R. solani* (Lopes 2005); *Cladosporium fulvum* causador da mancha de *Cladosporium* (Inoue-Nagata et al. 2016); murcha de fusário, causada pelo fungo ascomiceto *F. oxysporum* (Cabral et al. 2020; Gonçalves et al. 2020) e *A. linariae* e *A. grandis* que são responsáveis por causarem a pinta preta no tomate (Peixoto et al. 2021).

Dentre as doenças bacterianas, causadas por isolados de espécies de bactérias, podem ser citados isolados de *Pectobacterium* spp e *Dickeya* spp, que causam podridão mole e talo oco respectivamente. Além disso, *R. solanacearum* causadora da murcha-bacteriana e espécies de *Xanthomonas* causando mancha-bacteriana como a *Xanthomonas euvesicatoria* (Vancheva et al. 2021) e *Xanthomonas vesicatoria* (Inoue-nagata et al. 2016) também são frequentes na cultura.

Os nematoides relatados como de ocorrência frequente e causadores de perdas em tomateiro estão classificados no gênero *Meloidogyne* spp. (conhecidos como nematóides das galhas) e *Pratylenchus* spp. (conhecidos como nematoide das lesões radiculares) (Pinheiro et al. 2014, Inoue-Nagata et al. 2016).

Os vírus destacam-se entre os fitopatógenos e serão descritos a seguir. Selecionou-se os begomovírus (família *Geminiviridae*) pelas perdas induzidas pelo grupo, por serem os mais numerosos vírus de plantas que se tem conhecimento e por serem o escopo deste trabalho.

1.4 Família *Geminiviridae*

Dentre os vírus que infectam plantas destacam-se os vírus pertencentes à família *Geminiviridae* que possui cerca de 520 espécies (ICTV 2021). Segundo o ICTV (2021) a família *Geminiviridae* possui 14 gêneros. Os critérios para classificação de gênero incluem a gama de hospedeiros, o tipo de inseto vetor e organização genômica (Brown et al. 2015). Na natureza os geminivírus são transmitidos por insetos vetores como cigarrinha e mosca-branca (Inoue-Nagata et al. 2016).

Os vírus da família *Geminiviridae* são de tamanho pequeno, ausência de envelope com genoma de DNA circular (ssDNA) de fita simples e podem ter genomas bipartidos (DNA-A e DNA-B) ou monopartido (Zerbini et al. 2017). O tamanho do genoma é de aproximadamente 2500 a 5200 bases (Zerbini et al. 2017).

Em genomas bipartidos, contendo duas partículas, são necessários DNA- A e DNA-B para estabelecer a infecção (Harris et al. 2001). Em geminivírus que possuem DNA bipartidos, as funções para a disseminação do vírus são codificadas pelo DNA-B (Harris et al. 2001). Isolados desses vírus utilizam transcrição bidirecional e genes sobrepostos para codificação eficiente de proteínas (Rojas et al. 2005). Em vírus monopartidos, a molécula genômica semelhante ao DNA-A codifica informações necessárias para replicação, expressão gênica, montagem de partículas e propagação do vírus (Harris et al. 2001).

Vírus pertencentes a essa família infectam monocotiledôneas e dicotiledôneas (Zerbini et al. 2017). Maiores informações serão apresentadas para o gênero *Begomovirus*.

1.5 Gênero *Begomovirus*

O gênero inclui 445 espécies e é considerado o mais numeroso gênero de vírus de plantas (ICTV 2021). As principais culturas afetadas por begomovírus na América do Sul são o feijão, o tomate e no geral as pimentas doces e picantes (Krause-Sakate et al. 2020).

Begomovírus podem apresentar genoma bipartido (dois componentes genômicos DNA-A e DNA-B) ou monopartido (apenas um componente genômico DNA-A) (Hanley-Bowdoin et al. 2000; Brown et al 2015). A transcrição genômica é bidirecional e os genes são sobrepostos a fim de melhorar no momento da codificação de proteínas (Rojas et al. 2018). No componente

DNA-A, seis ORFs (*Open Reading Frames*) são encontradas. Duas destas ORFs ocorrem no sentido viral e outras quatro no sentido complementar (Hanley-Bowdoin et al. 2013; Navas-Castillo et al. 2020). A fita de sentido complementar DNA-A codifica a proteína de replicação (Rep) um ativador transcricional, uma proteína ativadora transcricional (TrAp), a intensificadora da replicação (REn) e proteína capsidial CP e a AC4 (Fiallo-Olivé et al. 2020).

Begomovírus são transmitidos com eficiência pelo vetor *Bemisia tabaci* (De Barro et al. 2011; Krause-Sakate et al. 2020). Acredita-se que após a introdução de *B. tabaci* MEAM 1 no país houve um aumento na incidência e severidade das espécies de *Begomovirus*. No Brasil já foram relatadas 21 espécies de begomovírus. Na região do Centro-Oeste já foram relatadas: tomato golden vein virus, tomato severe rugose virus, tomato mottle leaf curl virus, tomato golden vein virus, tomato commom mosaic virus, tomato apical leaf curl virus, tomato chlorotic mottle virus, tomato rugose mosaic virus, tomato yellow vein streak virus, tomato rugose yellow leaf curl virus, tomato mosaic severe dwarf virus, cleome leaf crumple virus, sida micrantha mosaic virus, bean golden mosaic virus, tomato interveinal chlorosis virus-2, tomato mottle leaf distortion virus (Fernandes et al. 2008; Batista et al. 2019; Rego-Machado et al. 2019 Andrade 2020; Reis et al. 2020; Martins et al. 2021).

Os critérios utilizados para classificação como uma nova espécie de begomovírus são baseados na identidade das sequências alinhadas.

No geral, begomovírus induzem sintomas bastante similares nas hospedeiras, como mosaico, amarelecimento interveinal, entretanto, para a correta identificação do vírus é necessários métodos moleculares (Inoue-Nagata et al. 2016).

1.6 Variabilidade em begomovírus

Os mecanismos geradores de variabilidade em vírus podem ser citados como recombinações, mutações e pseudo recombinação (Roossinck 2005).

Os begomovírus têm alto índice de variabilidade que pode ser causada principalmente pelas mutações (Lima et al. 2017). Esse aumento na variabilidade favorece o surgimento de novas espécies, o que pode ser intensificado pela ocorrência frequente de infecções mistas. Os vírus em uma infecção mista compartilham informações genéticas, essa interação é benéfica para ambos e em alguns casos resulta na piora de uma doença (Kielian et al. 2020). No entanto,

não há muitas informações que quantifiquem as infecções mistas de tomateiros por membros da espécie de begomovírus em condições naturais (Reis et al. 2020).

1.7 Controle das begomoviroses

Estratégias de erradicação de plantas daninhas e cultivo protegido pelo menos nas fases iniciais de desenvolvimento são indicadas. Além disso, estratégias de manejo baseadas em uso de inseticidas para controle do inseto vetor são utilizadas para manter a mosca-branca abaixo do limite de danos econômicos (Krause-Sakate et al. 2020). Uma preocupação recorrente no uso de inseticidas para controle de mosca-branca é a resistência que pode ser adquirida e a ineficiência de produtos usados para atingir todas as fases do vetor (Ahmad 2021).

1.8 Vetor mosca-branca

B. tabaci MEAM 1 (família *Aleyrodidae*) popularmente conhecido como mosca-branca, é considerada uma praga importante para a agricultura devido a sucção de seiva que provoca o baixo vigor da planta, injeção de toxemias e por transmitir vírus (Navas-Castillo et al. 2011; Rojas et al. 2018).

Esse inseto vetor, ocorre em várias culturas pelo seu hábito polífago, incluindo plantas daninhas, as quais podem ser hospedeiras intermediárias mesmo que em baixas populações (Lourenção 1994). Na maioria das suas hospedeiras a mosca-branca, coloca os ovos na superfície abaxial das folhas. Esta etapa tem duração média de 4 a 7 dias. O ciclo total de desenvolvimento pode se completar com até 3 semanas (Byrne et al. 1991; De Barro 2005; Navas-Castillo et al. 2011).

Este vetor pode transmitir diferentes vírus classificados nos gêneros *Ipomovirus*, *Crinivirus*, *Carlavirus*, *Torradovirus*, *Cytorhabdovirus* e *Begomovirus* (Navas-Castillo et al. 2011; Lima et al. 2020; Ghost e Ghanim 2021). Porém, mais de 90% dos fito-vírus transmitidos por *B. tabaci* pertencem ao gênero *Begomovirus* (Bornancini et al. 2020). A relação estabelecida entre a mosca-branca e os begomovírus é do tipo circulativa propagativa (Harris et al. 2001).

1.9 Genes de resistência contra begomovírus

Diferentes estratégias podem ser aplicadas para controle de vírus. Uma das opções mais desejadas pela eficiência apresentada é o uso de variedades resistentes (Barbosa et al. 2011; Boiteux et al. 2012). Em tomateiro já foram relatados alguns genes de resistência como o *Ty-1* (Zamir et al. 1994), *Ty-2* (Hanson et al. 2000), *Ty-3* (Ji et al 2007), *Ty-4* (Yan et al. 2018) *Ty-5* (Anbinder et al. 2009), *Ty-6* (Gill et al. 2019), *tcm-1* (Giordano et al. 2005) e *tgr-1* (Bian et al. 2007).

O cenário da tomaticultura no Brasil tem sido recentemente modificado e melhorado com o uso mais intenso desses híbridos resistentes ao *Begomovirus*, (Boiteux et al. 2012). No entanto, é interessante destacar que o gene *Ty-1*, o mais utilizado nas nossas condições, não teve um impacto significativo na redução do número geral de infecções virais múltiplas, as quais vem acontecendo cada vez mais ao longo dos anos (Reis et al. 2020).

Referências Bibliográficas

- Adhikari P, Oh Y, Panther DR (2017) Current status of early blight resistance in tomato: an update. *International Journal of Molecular Sciences* 18:2019
- Agra MF (1999) A new species of solanum subgenus *Leptostemonum* (*Solanaceae*) from Chapada da Diamantina, Bahia, Brazil. *Novon* 9:292-295
- Ahmad S (2021) Population assessment of *Bemisia tabaci* (Gennadius.) and disease occurrence of *Begomovirus* in okra, *Abelmoschus esculentus* L. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*
- Anbinder I, Reuveni M, Azari R, Paran I, Nahon S, Shlomo H, Chen L, Lapidot M, Levin I (2009) Molecular dissection of tomato leaf curl virus resistance in tomato line TY172 derived from *Solanum peruvianum*. *Theoretical and Applied Genetics* 119:519-530
- Andrade IAD (2020) Levantamento de novas espécies de begomovírus no Distrito Federal e em Goiás e caracterização molecular de uma nova espécie associada à tomateiro contendo *Ty-1* Tese de Mestrado. Universidade de Brasília (UnB).
- Barbosa JC, Barreto SDS, Inoue-Nagata AK, Rezende JAM (2011) Characterization and experimental host range of a Brazilian tomato isolate of tomato severe rugose virus. *Journal of Phytopathology* 159:644-646
- Batista JG, Melo FFS, Nery FMB, Melo FL, Boiteux LS, de Noronha Fonseca ME, Lacorte C, Alves-Freitas DMT, Ribeiro SG, de Cassia Pereira-Carvalho R (2021) Characterization of genetically divergent tomato-associated *geminivirus* 1 isolates from table beet (*Beta vulgaris*) and tomato (*Solanum lycopersicum*). *Tropical Plant Pathology* 46:62-68
- Batista JG, Melo FL, Pereira-Carvalho RC, Alves-Freitas DMT, Ribeiro SG (2019) First report of *tomato apical leaf curl virus* infecting tomato in Brazil. *Plant Disease* 103:1443
- Bian XY, Thomas MR, Rasheed MS, Saeed M, Hanson P, De Barro PJ, Rezaian MA (2007) A recessive allele (*tgr-1*) conditioning tomato resistance to geminivirus infection is associated with impaired viral movement. *Phytopathology* 97:930-937
- Boiteux LS, Fonseca ME, Vieira JV, Pereira-Carvalho RC (2012) Breeding for resistance to viral diseases. In: *Plant breeding for biotic stress resistance*. Springer, Berlin, Heidelberg pp. 57-79
- Bornancini VA, Irazoqui JM, Flores CR, Medina CGV, Amadio AF, Lambertini PML (2020) Reconstruction and characterization of full-length begomovirus and alphasatellite genomes infecting pepper through metagenomics. *Viruses* 12:202
- Briddon RW, Bull SE, Amin I, Idris AM, Mansoor S, Bedford ID, Dhawan P, Rishi N, Siwatch SS, Abdel-Salam AM, Brown JK, (2003) Diversity of DNA β , a satellite molecule associated with some monopartite *begomoviruses*. *Virology* 312:106-121
- Briddon RW, Bull SE, Amin I, Mansoor S, Bedford ID, Rishi N, Markham PG (2004) Diversity of DNA 1: a satellite-like molecule associated with monopartite begomovirus–DNA β complexes. *Virology* 324:462-474

- Brown JK, Zerbini FM, Navas-Castillo J, Moriones E, Ramos-Sobrinho R, Silva JC, Fiallo-Olivé E, Briddon RW, Hernández-Zepeda C, Idris A, Malathi VG (2015) Revision of *begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593-1619
- Byrne DN, Bellows JRTS (1991) Whitefly biology. *Annual Review of Entomology* 36:431-457
- Cabral CS, Gonçalves AM, Fonseca MEN, Urban AF, Costa H, Lourenco V, Reis A (2020) First detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* across major tomato-producing regions in Brazil. *Phytoparasitica* 48:545-553
- Colariccio A (2004) O impacto das viroses na cultura do tomateiro. Laboratório de Fitopatologia, São Paulo
- Conab (2019) Tomate: Análise dos indicadores da produção e comercialização no mercado mundial, brasileiro e catarinense. *Boletim Técnico* 3
- Conab (2021) Batata, cebola e tomate: Caracterização da produção e da comercialização na região integrada de desenvolvimento econômico do Distrito Federal e Entorno – Ride-DF Conab 28
- Darwin SC, Knapp S, Peralta IE (2003) Taxonomy of tomatoes in the Galápagos Islands: native and introduced species of *Solanum* section *lycopersicon* (*Solanaceae*). *Systematics and Biodiversity* 1:29-53
- De Barro PJ (2005) Genetic structure of the whitefly *Bemisia tabaci* in the Asia-Pacific region revealed using microsatellite markers. *Molecular Ecology* 14:3695-3718
- De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB (2011) *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology* 56:1-19
- Eiras M, Dianese EC, Pereira-Carvalho RC (2018) Resistência genética de plantas a vírus In: Dallagnol LJ, Araújo Filho JV (Eds) Resistência genética de plantas a patógenos. Ed. UFPel, Pelotas. pp. 297
- FAO (2020) Food and agriculture organization of the United Nations (FAO). Disponível em: <<http://faostat3.fao.org>>. Acesso em 6 fev 2020
- Fernandes FR, Albuquerque LC, Giordano LB, Boiteux LS, Ávila AC, Inoue-Nagata AK (2008) Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251-258
- Fernandes JJ, Carvalho MG, Andrade EC, Brommenschenkel SH, Fontes EPB, Zerbini FM (2006) Biological and molecular properties of Tomato rugose mosaic virus (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. *Plant Pathology* 55:513-522
- Ferro CG, Zerbini F M, Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E (2021) Revealing the complexity of sweepvirus-deltasatellite-plant host interactions: expanded natural and experimental helper virus range and effect dependence on virus-host combination. *Microorganisms* 9:1018

- Fiallo-Olivé E, Navas-Castillo J (2020) Molecular and biological characterization of a New World mono-/bipartite begomovirus/deltasatellite complex infecting *Corchorus siliquosus*. *Frontiers in Microbiology* 11:1755
- Furquim MGD, Nascimento AR, Souza CB (2020) Panorama geral da tomaticultura no estado de Goiás: uma análise descritiva a partir de levantamento bibliográfico. *Research, Society and Development* 9:e955974310
- Ghosh S, & Ghanim M (2021) Factors determining transmission of persistent viruses by *Bemisia tabaci* and emergence of new virus–vector relationships. *Viruses* 13:1808.
- Gilbertson RL, Batuman O, Webster CG, 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
- Gill U, Scott JW, Shekasteband R, Ogundiwin E, Schuit C, Francis DM, Sim SC, Smith H, Hutton SF (2019) *Ty-6*, a major begomovirus resistance gene on chromosome 10, is effective against *Tomato yellow leaf curl virus* and *Tomato mottle virus*. *Theoretical and Applied Genetics* 132:1543-1554
- Giordano LB, Silva-Lobo VL, Santana FM, Fonseca MEN, Boiteux LS (2005) Inheritance of resistance to the bipartite *Tomato chlorotic mottle* begomovirus derived from *Lycopersicon esculentum* cv. 'Tyking'. *Euphytica* 143:27-33
- Gonçalves AM, Cabral CS, Reis A, Fonseca MEN, Costa H, Ribeiro FHS, Boiteux LS (2021) A three-decade survey of Brazilian *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races assessed by pathogenicity tests on differential tomato accessions and by molecular markers. *Journal of Applied Microbiology* 131:873-884
- Gutierrez C, Ramirez-Parra E, Castellano MM, Sanz-Burgos AP, Luque A, Missich R (2004) Geminivirus DNA replication and cell cycle interactions. *Veterinary Microbiology* 98:111-119
- Hančinský R, Mihálik D, Mrkvová M, Candresse T, Glasa M (2020) Plant viruses infecting *Solanaceae* family members in the cultivated and wild environments: A review. *Plants* 5:667
- Hanley-Bowdoin L, Settlege SB, Orozco BM, Nagar S, Robertson D (2000) Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35:105-140
- Hanson PM, Bernacchi D, Green S, Tanksley SD, Muniyappa V, Padmaja AS, Chen HM, Kuo G, Fang D, Chen JT (2000) Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125:15-20
- Harris K F, Smith OP, Duffus JE (Eds.) (2001). *Virus-insect-plant interactions*. Elsevier
- IBGE (2021) Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acesso em: 20 ago. 2021

- ICTV (2021) Taxonomy of Family Geminiviridae. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy>>. Acesso em: 13 de jul. 2021
- Inoue-Nagata AK, Lima M, Gilbertson RL (2016) A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. *Horticultura Brasileira* 34:8-18
- Ji Y, Schuster DJ, Scott JW (2007) *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus *Ty-1* on chromosome 6 of tomato. *Molecular Breeding* 20:271-284
- Jones JB, Zitter TA, Momol TM, Miller SA (2014) Compendium of tomato diseases and pests
- Kanakala S, Ghanim M, (2015) Advances in the genomics of the whitefly *Bemisia tabaci*: An insect Pest and a virus vector. In: short views on insect genomics and proteomics. Springer Cham:19-40
- Kariuki W G, Mungai N W, Otake D O, Thuita M, Muema E, Korir H, Masso C (2020) Antagonistic effects of biocontrol agents against *Phytophthora infestans* and growth stimulation in tomatoes. *African Crop Science Journal* 28:55-70
- Kielian M, Mettenleiter T, Roossinck MJ (Eds.) (2020) Virus Assembly and Exit Pathways. Academic Press
- Krause-Sakate R, Watanabe LFM, Gorayeb ES, da Silva FB, Alvarez DDL, Bello VH, Nogueira AM, de Marchi BR, Vicentin E, Ribeiro-Junior MR, Marubayashi JM (2020) Population dynamics of whiteflies and associated viruses in South America: Research progress and perspectives. *Insects* 11:847
- Lima A, Silva JC, Silva FN, Castillo-Urquiza GP, Silva FF, Seah YM, Mizubuti ES, Duff S, Zerbini FM (2017) The diversification of begomovirus populations is predominantly driven by mutational dynamics. *Virus Evolution* 3
- Lopes CA, De Ávila AC (2005) Doenças do tomateiro. Embrapa Hortaliças-Livro técnico (INFOTECA-E)
- Lopes CA, Reis A (2011) Doenças do tomateiro cultivado em ambiente protegido. In. Concórdia. Embrapa Hortaliças. Circular Técnica
- Lourenção AL, Nagai H (1994) Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. *Bragantia* 53:53-59
- Lozano G, Trenado HP, Fiallo-Olivé E, Chirinos D, Geraud-Pouey F, Bridson RW, Navas-Castillo J (2016) Characterization of non-coding DNA satellites associated with sweepviruses (genus *Begomovirus*, *Geminiviridae*) definition of a distinct class of begomovirus-associated satellites. *Frontiers in Microbiology* 7:162
- Martins TP, Souza TA, Silva PS, Nakasu EYT, Melo FL, Inoue-Nagata AK, Nagata T (2021) Nanopore sequencing of tomato mottle leaf distortion virus, a new bipartite begomovirus infecting tomato in Brazil

- Naika S, Jeude JV, Goffau M, Hilmi M, Dam BV (2006) A cultura do tomate produção, processamento e comercialização. Agrodok
- Nascimento WM, Melo PCT, Freitas RA (2012) Produção de sementes. In: Clemente FMVT, Boiteux LS (Eds) Produção de tomate para processamento industrial. Brasília DF. Embrapa pp. 53-73
- Naturdata (2020) Taxonomia do *Solanum lycopersicum*. Disponível em: <<https://naturdata.com/especie/solanum-lycopersicum/6358/0/>> Acesso em: 5 fev. 2020
- Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E (2020) Geminiviruses (*Geminiviridae*). Elsevier 1:1-9
- Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E, Sánchez-Campos S (2011) Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. Annual Review of Phytopathology 49:219-248
- Peixoto CC, Cabral CS, Fonseca MEN, Boiteux L S, Reis A (2021) Species diversity, novel interactions and absence of well-supported host-guided phylogenetic groupings of neotropical *Alternaria* isolates causing foliar lesions in *Solanaceae*. Journal of Applied Microbiology
- Peralta IE, Spooner DM (2005) Morphological characterization and relationships of wild tomatoes (*Solanum* L. Sect. *Lycopersicon*). Monographs in Systematic Botany 104:227
- Pereira RB, Pinheiro JB, Carvalho ADF (2013) Diagnóstico e controle alternativo de doenças em tomate, pimentão, cucurbitáceas e cenoura. Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E)
- Pinheiro-Lima B, Pereira-Carvalho RC, Alves-Freitas DM, Kitajima EW, Vidal AH, Lacorte, C, & Melo FL (2020) Transmission of the Bean-associated cytorhabdovirus by the whitefly *Bemisia tabaci* MEAM1. Viruses 12:1028
- Pinheiro JB, Boiteux LS, Pereira RB, Almeida MRA, Carneiro RMG (2014) Identificação de espécies de meloidogyne em tomateiro no Brasil. Embrapa Hortaliças-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)
- Rashid T, Sijam K, Awla H, Saud H, Kadir J. (2016) Pathogenicity assay and molecular identification of fungi and bacteria associated with diseases of tomato in Malaysia. American Journal of Plant Sciences 7:949-957
- Reis LNA, Fonseca MEDN, Ribeiro SG, Naito F Y, Boiteux L S, Pereira-Carvalho RC (2020) Metagenomics of neotropical single-stranded DNA viruses in tomato cultivars with and without the *Ty-1* gene. Viruses 12:819
- Ribeiro IAV, Tereso MJA, Abrahão RF (2009) Análise ergonômica do trabalho em unidades de beneficiamento de tomates de mesa: movimentação manual de cargas. Ciência Rural 39:1073-1079
- Rojas MR, Hagen C, Lucas WJ, Gilbertson RL (2005) Exploiting chinks in the plant's armor: Evolution and emergence of geminiviruses. Annual Review of Phytopathology 43:361-394

- Rojas MR, Macedo MA, Maliano MR, Soto-Aguilar M, Souza JO, Briddon RW, Kenyon L, Rivera Bustamante RF, Zerbini FM, Adkins S, Legg JP (2018) World management of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 56:637-677
- Roossinck MJ (2005) Symbiosis versus competition in plant virus evolution. *Nature Reviews Microbiology* 3:917-924
- Vancheva T, Bogatzevska N, Moncheva P, Mitrev S, Vernière C, Koebnik R (2021) Molecular epidemiology of *Xanthomonas euvesicatoria* strains from the Balkan Peninsula revealed by a new Multiple-Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis scheme. *Microorganisms* 9:536
- Vilela NJ, Melo PCT, Boiteux LS, Clemente FMVT (2012) Produção de sementes. In: Clemente FMVT, Boiteux LS (Eds) *Produção de tomate para processamento industrial*. Brasília,DF. Embrapa pp. 17-26
- Yan Z, Pérez-de-Castro A, Díez MJ, Hutton SF, Visser RG, Wolters AMA, Bai Y, Li J (2018) Resistance to *tomato yellow leaf curl virus* in tomato germplasm. *Frontiers in Plant Science* 9:1198
- Zamir D, Ekstein-Michelson I, Zakay Y, Navot N, Zeidan M, Sarfatti M, Eshed Y, Harel E, Pleban T, Van-Oss H, Kedar N (1994). Mapping and introgression of a *tomato yellow leaf curl virus* tolerance gene, *Ty-1*. *Theoretical and Applied Genetics* 88:141-146
- Zerbini FM, Rob WB, Ali I, Darren PM, Enrique M, Jesús NC, Rafael RB, Philippe R, Arvind V, ICTV Report Consortium (2017) ICTV virus taxonomy profile: *Geminiviridae*. *The Journal of General Virology* 98:131
- Zhou X (2013) Advances in understanding begomovirus satellites. *Annual Review of Phytopathology* 51:357-381

Capítulo 2

Caracterização molecular de begomovírus em tomateiro no Distrito Federal

Jordânia Davi Oliveira¹ Luciane De Nazaré Almeida dos Reis¹ Leonardo Silva Boiteux² Maria Esther de Noronha Fonseca² Letícia Aparecida Belmira da Silva¹ Rita de Cássia Pereira Carvalho¹

¹Universidade de Brasília (UnB), Dept. Fitopatologia, Área de Virologia Vegetal, Brasília-DF, Brasil

²National Center for Vegetable Crops Research (CNPH), Embrapa Hortaliças, Brasília – DF, Brazil.

2.1 Introdução

O cultivo do tomateiro tem grande importância no Distrito Federal e Entorno, sendo considerada uma das atividades mais geradoras de renda (CONAB 2021). Entretanto, o cultivo do tomateiro o ano todo pode favorecer a ocorrência de microrganismos fitopatogênicos como vírus, bactérias, nematoides e fungos que afetam negativamente a produção (Lopes et al. 2011). Dentre estes, destacam-se os vírus, principalmente espécies do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*). Begomovírus possui ácido nucleico do tipo DNA circular, fita simples, encapsidado em uma ou duas moléculas sendo denominados begomovírus monopartidos e bipartidos respectivamente.

Alguns exemplos de vírus relatados em tomateiro na região Centro-Oeste são: tomato golden vein virus, tomato severe rugose virus, tomato mottle leaf curl virus, tomato golden vein virus, tomato common mosaic virus, tomato apical leaf curl virus, tomato chlorotic mottle virus, tomato rugose mosaic virus, tomato yellow vein streak virus, tomato rugose yellow leaf curl virus, tomato mosaic severe dwarf virus, cleome leaf crumple virus, sida micrantha mosaic virus, bean golden mosaic virus, tomato interveinal chlorosis virus-2, tomato mottle leaf distortion virus (Fernandes et al. 2008; Batista et al. 2019; Rego-Machado et al. 2019; Andrade 2020; Reis et al. 2020; Martins et al. 2021).

Várias espécies novas vêm sendo descritas e os critérios utilizados para classificação como uma nova espécie de begomovírus são baseados na identidade das sequências alinhadas. Espécie com identidade menor que 91% quando em comparação com outras demais sequências de begomovírus já classificadas pode ser considerada como nova espécie. Caso a sequência tenha identidade nucleotídica menor que 94% pode ser considerada apenas como uma nova estirpe (Brown et al. 2015). As begomoviroses são transmitidas em uma relação caracterizada

como circulativa não propagativa pelo vetor aleirodídeo, popularmente conhecido como mosca-branca, a *B. tabaci*, e a maioria é restrita ao floema das plantas infectadas (Navas-Castillo et al. 2011; Krause-Sakate et al. 2020). A eficiência do vetor e a variabilidade e diversidade de populações de begomovírus favorecem o aumento do número de espécies novas e a ocorrência de infecções mistas (Kielian et al. 2020).

Uma das estratégias para controle de begomovirose é uso de cultivares com genes de resistência. Para o desenvolvimento destas cultivares é importante conhecer a diversidade e variabilidade do patógeno em questão, visto que um dos principais fatores responsáveis pela não durabilidade da resistência é o potencial evolutivo dos vírus (Boiteux et al. 2012). Em tomateiro pode-se relatar alguns genes de resistência como o *Ty-1* (Zamir et al. 1994), *Ty-2* (Hanson et al. 2000), *Ty-3* (Ji et al. 2007), *Ty-4* (Yan et al. 2018) *Ty-5* (Anbinder et al. 2009), *Ty-6* (Gill et al. 2019), *tcm-1* (Giordano et al. 2005) e *tgr-1* (Bian et al. 2007).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar molecularmente begomovírus de amostras de tomateiro provenientes do Distrito Federal. As espécies neste trabalho, foram previamente caracterizadas como prováveis espécies novas pela equipe do Laboratório de Virologia Vegetal – UnB e Embrapa CNPH (com base em uma sequência parcial de nucleotídeos).

2.2 Material e métodos

2.2.1 Obtenção dos isolados

As amostras usadas neste trabalho DF-024, DF-046, DF-050, DF-167, DF-480 e DF-556 foram coletadas em diferentes áreas e fazem parte da coleção de amostras do Laboratório de Melhoramento Vegetal da Embrapa Hortaliças - LMVEH (Brasília-DF) (**Tabela 1**). Todas as amostras apresentavam sintomas típicos de begomovírus no momento da coleta, incluindo mosaico, amarelecimento, mosqueado e deformação foliar. O código dos isolados juntamente com o ano e local de coleta podem ser observados na **Tabela 1**.

2.2.2 Extração de DNA e RCA

As amostras foram submetidas a extração de DNA total utilizando o protocolo CTAB 2X e solventes orgânicos (Boiteux et al. 1999). Logo depois foram submetidos à amplificação

por RCA (*Rolling Circle Amplification*) (Inoue-Nagata et al. 2004; Reis et al. 2020) e submetidas a PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Rojas et al. 1993).

Tabela 1: Código dos isolados de begomovírus com informações do ano e local de coleta

Código	Ano	Localidade
DF-024	2003	Gama-DF
DF-046	2003	Gama-DF
DF-050	2003	Gama-DF
DF-167	2005	Núcleo Rural São José-DF
DF-480	2012	Rajadinha-DF
DF-556	2013	Núcleo Rural Tabatinga-DF

2.2.3 Recuperação do genoma viral e montagem dos genomas

Para recuperação do genoma completo foram usados *primers* universais para detecção de DNA-A e DNA-B de begomovírus (Rojas et al. 1993; Duarte et al. 2020). Além disto, *primers* internos foram utilizados, e todas as reações foram realizadas de acordo com Duarte et al. (2020) e Reis et al. (2020). As sequências dos *primers* estão disponíveis na **Tabela 2**. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese a 1% e corado com brometo de etídeo para a visualização sob luz ultravioleta.

Tabela 2: Sequências de *primers* utilizados para detecção (DNA-A e DNA-B) de begomovírus.

Primers¹	Sequências
PAL1v1978 (DNA-A)	5'GCA-TCT-GCA-GGC-CCA-CAT-YTG-CTT-YCC-NGT 3'
PAR1c496 (DNA-A)	5' AAT-ACT-GCA-GGG-CTT-YCT-RTA-CAT-RGG 3'
PCRc1 (DNA-B)	5' CTA-GCT-GCA-GCA-TAT-TTA-CRA-RWA-TGC-CA 3'
PBL1v2040 (DNA-B)	5' GCC-TCT-GCA-GCA-RTG-RTC-KAT-CTT-CAT-ACA 3'

Fonte: ¹Rojas et al. (1993)

Em seguida realizou-se o aumento de volume de cada reação positiva da PCR para posterior purificação usando kit da Promega de acordo com as condições do fabricante. As amostras foram quantificadas em *nanodrop* e em gel de agarose 1% e depois submetidas ao sequenciamento *Sanger* no Laboratório de Análise Genômica da Embrapa Hortaliças com sequenciador ABI PRISM 3100 seguindo protocolo BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit version 3.1 (Applied Biosystems). Dessa forma, as sequências submetidas a PCR com os *primers* “universais” foram analisadas por meio da ferramenta *Blastn* (Altschul et al. 1997).

As sequências obtidas após o sequenciamento foram analisadas no programa Geneious 11.0.5 (Kearse et al. 2012). Primeiramente foi feita uma montagem *De Novo Assembly* e a seguir *Map to reference*. Com a montagem dos *contigs* e análise de qualidade, as sequências foram analisadas por meio da ferramenta *BLASTn* (Altschul et al. 1997) com o objetivo de comparar as sequências obtidas com as sequências depositadas no banco de dados público do *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), visando a identificação de espécies virais. As sequências montadas foram alinhadas com os genomas de referência de maior percentagem de identidade com aquelas obtidas no *BLASTn* e a partir destes foi realizada a anotação de genomas montados disponíveis na **Tabela 3**.

Alguns trabalhos já vêm sendo publicados com descrição de novas espécies pertencentes ao gênero *Begomovirus* e que têm indicado o aumento da variabilidade no gênero (Cotrim et al. 2007; Fernandes et al. 2008; Reis et al; 2020).

Tabela 3: Informações de cobertura, porcentagem de identidade e *E-value* obtidos após *BLASTn* no *GenBank* usando as sequências dos seis begomovírus provenientes de amostras do Distrito Federal.

Código	Tamanho (nts)*	Vírus - <i>BLASTn</i>	Cobertura (%)	Identidade (%)	<i>E-Value</i>
DF-024	2630	tomato chlorotic mottle virus	100	93,70	0.0
DF-046	2622	tomato chlorotic mottle virus	95	95,19	0.0
DF-050	2635	tomato chlorotic mottle virus	99	99,76	0.0
DF-167	2593	tomato severe rugose virus	100	92,90	0.0
DF-480	2638	sida yellow blotch virus	100	89,31	0.0
DF-556	2592	tomato severe rugose virus	100	99,61	0.0

*nts – nucleotídeos

2.2.4 Análise Filogenética

A análise filogenética foi feita com base nas seis sequências do DNA-A obtidas neste trabalho e outras 22 sequências disponíveis no *Genbank*. O alinhamento utilizado foi o *Muscle*

e método *Fastree* no programa *Geneious* 11.0 (Kearse et al. 2012). Utilizou-se o SDT (Muhire et al. 2014) e as figuras foram elaboradas com o auxílio do programa Adobe Illustrator CC.

3. Resultados e Discussão

3.1 Recuperação do genoma completo dos isolados virais

Foi possível recuperar o genoma completo DNA-A de begomovírus nas seis amostras DF-024, DF-046, DF-050, DF-167, DF-480, DF-556. Estas sequências associadas às sequências de 700 nucleotídeos (nts) que haviam sido realizadas previamente a este trabalho proporcionaram uma montagem robusta e confiável do genoma completo dos begomovírus das distintas amostras.

Neste trabalho as amostras DF-167 e DF-556 estavam infectadas com ToSRV (**Tabela 3**). O primeiro relato de ToSRV DF-167 (KX458238) e DF-556 (MT733811) no Brasil foi feito em 1999 na hospedeira de tomate em Minas Gerais. Posteriormente várias pesquisas foram feitas e ToSRV foi detectado em tomate em outras regiões do Brasil, incluindo o Distrito Federal (Ribeiro et al. 2003; Cotrim et al. 2007; Fernandes et al. 2008; Rocha et al. 2010, 2013; González-Aguilera et al. 2012; Mituti et al. 2019; Reis et al. 2020; Souza et al. 2020; Duarte et al. 2020).

A espécie de ToCMoV detectada nas amostras denominadas DF-024 (MT733804), DF-046, DF-050 (MT733804) neste trabalho (**Tabela 3**), já havia sido detectada anteriormente no Distrito Federal (Ribeiro et al. 2003; Ribeiro et al. 2007). Tanto ToSRV e ToCMoV correspondem a begomovírus bipartidos.

Todas as amostras foram positivas quando se utilizou os *primers* PAL-PAR (componente DNA-A) e pBL-CRC1 para componente DNA-B (resultados não mostrados para o componente B), confirmando que todas as espécies recuperadas são de begomovírus bipartido. Em genomas bipartidos são observados os componentes DNA-A e DNA-B (Hanley-Bowdoin et al. 2000). A fita de sentido complementar DNA-A codifica a proteína de replicação (Rep) um ativador transcricional (TrAp), a intensificadora da replicação (Ren) e no sentido viral, a proteína capsial CP (Fiallo-Olivé et al. 2020). Organização genômica típica ao esperado para os begomovírus bipartidos foi observada neste trabalho. Os genomas apresentaram as seis ORFs

no componente DNA-A que codificam proteínas envolvidas na replicação, sintomas e transmissão viral. Foram observadas as duas ORFs ocorrendo no sentido viral (AV1/V1 e AV2/V2) e outras quatro no sentido complementar (AC1/C1 a AC4/C4) (Hanley-Bowdoin et al. 2013; Navas-Castillo et al. 2020) (**Figura 1**).

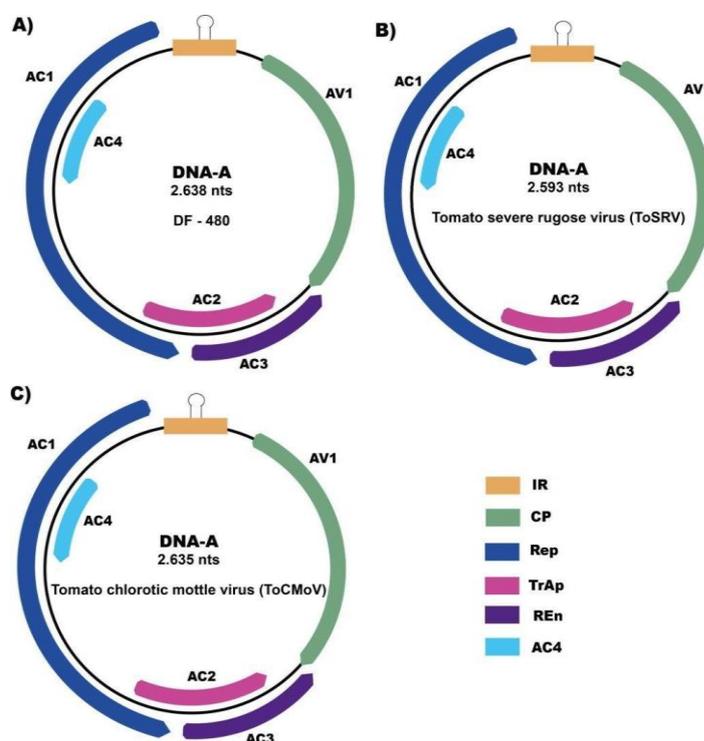


Figura 1. Representação da organização genômica de espécies de *Begomovirus* relatadas nesse trabalho: A) Nova espécie (DF-480); B) tomato severe rugose virus – ToSRV (DF-556 e DF-167); C) tomato chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF-050, DF-046 e DF-024). As ORFs (*Open Reading Frames*) AV1, AC1, AC2, AC3, AC4 e correspondentes ao DNA- A foram identificadas (representadas por cores) de acordo com as proteínas para que codificam: CP (AV1) proteína capsidial; Rep: proteína associada à replicação (AC1); TrAp (AC2): proteína ativadora de transcrição; Ren (AC3): intensificador de replicação; AC4: determinante de sintoma e IR: região intergênica

3.2 Análise filogenética de begomovírus bipartidos

Segue abaixo na **Figura 2**, a árvore filogenética mostrando a relação dos seis isolados, com espécies semelhantes. O DF-480, de acordo com os critérios estabelecidos por Brown et al. (2015) trata-se de uma nova espécie para o gênero *begomovirus* pois esse isolado apresentou

identidade menor que 91% com outras sequências e pode-se observar na árvore filogenética a divergência que essa espécie apresenta. Para os demais isolados, cujas sequências foram obtidas por sequenciamento *Sanger* foi possível observar um agrupamento de cada isolado/espécie com isolados da mesma espécie e ocorrendo no Distrito Federal.

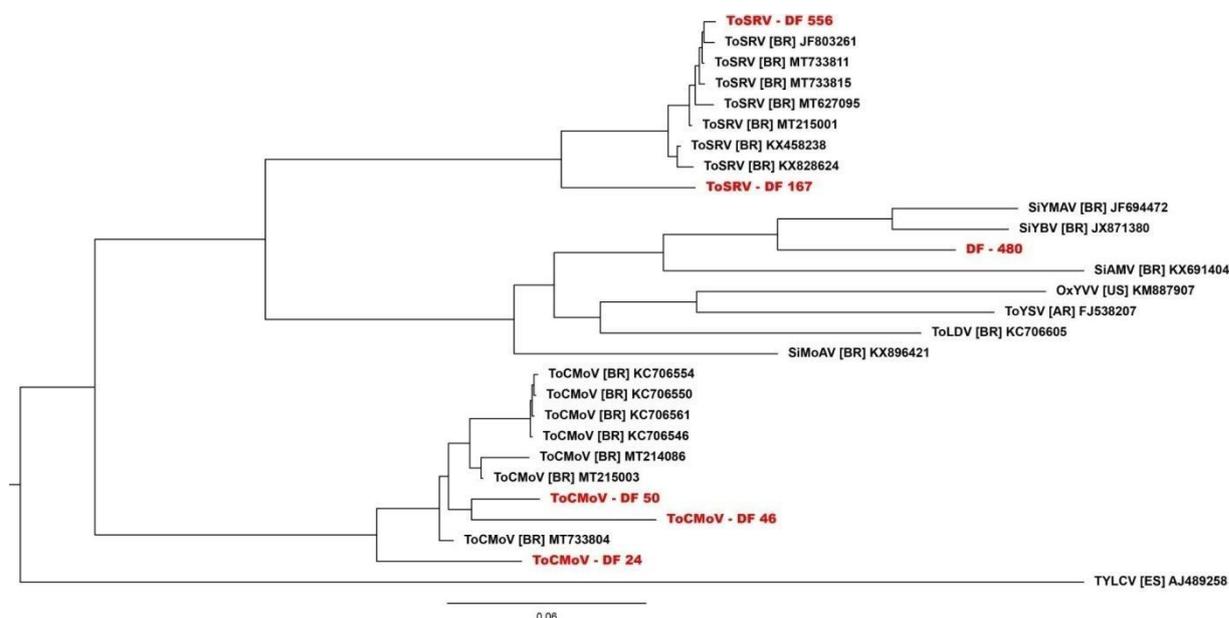


Figura 2. Análise filogenética composta por sequências completas do DNA-A de espécies de *Begomovirus* obtidas nesse trabalho e destacadas em vermelho: tomate severe rugose virus – ToSRV (DF-556 e DF-167); nova espécie (DF-480); tomate chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF-050, DF-046 e DF-024) e outras retiradas de banco de dados (*Genbank*). As espécies retiradas de banco de dados empregadas nesta análise foram identificadas por seu acrônimo, seu número de acesso e sigla dos países onde foram originalmente descritas: BR= Brasil; US=Estados Unidos; AR= Argentina e ES=Espanha. As espécies virais e os números de acesso do *Genbank* são os seguintes: ToSRV (MT733815; MT733811; JF803261; KX458238; KX828624; MT627095; MT215001); ToCMoV (MT733804; MT215003; MT214086; KC706546; KC706561; KC706554; KC706550); sida mosaic Alagoas virus – SiYMAV (JF694472); sida yellow blotch virus – SiYBV (JX871380); sida angular mosaic virus – SiAMV (KX691404); oxalis yellow vein virus – OxYVV (KM887907); tomate yellow spot virus – ToYSV (FJ538207); tomate leaf distortion virus – ToLDV (KC706605) e sida mottle Alagoas virus – SiMoAV (KX896421). Sequência de tomate yellow leaf curl virus – TYLCV (AJ489258) foi utilizada como *outgroup*.

3.3 Sequence Demarcation Tool (SDT)

Na **Figura 3** é possível observar o resultado obtido após SDT. Espécies novas de begomovírus devem apresentar valores de identidade de nucleotídeos abaixo de 91%. No presente trabalho foi possível identificar uma espécie nova (amostra DF-480) em tomateiro proveniente do DF. O cenário da grande variabilidade de begomovírus provavelmente está favorecendo o surgimento de novas espécies, que pode ser intensificado pelas infecções mistas.

O conhecimento destas espécies, aliado à obtenção futura de clones infecciosos poderão permitir pesquisas visando determinar a gama de hospedeiras destas novas espécies. O estudo acerca dessas novas espécies auxilia em estratégias de controle e melhoramento a fim de conferir resistência ao vírus, pois o uso de híbridos resistentes é a melhor alternativa para o controle das begomoviroses.

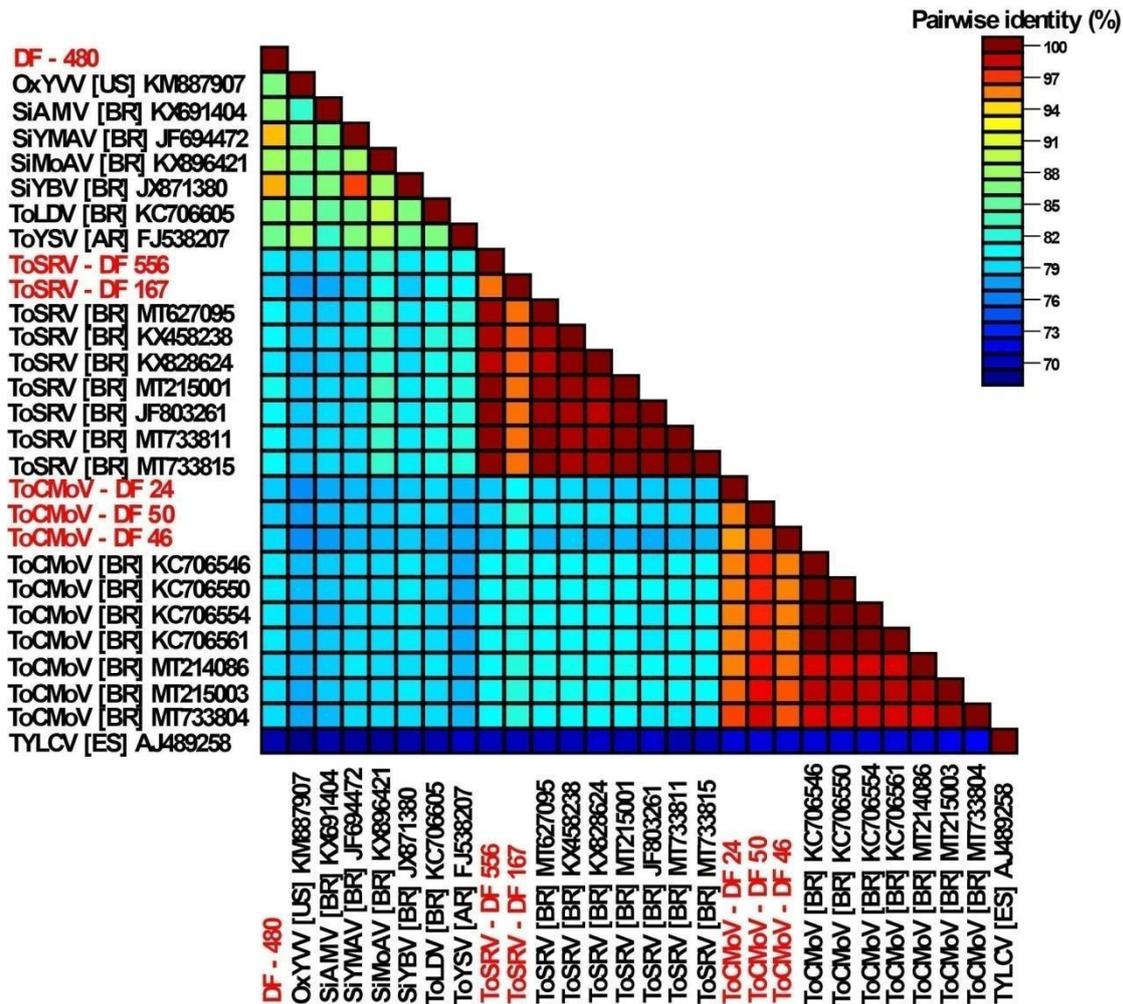


Figura 3. *Sequence Demarcation Tool* (SDT) representativa da porcentagem de nucleotídeos entre as sequências completas do DNA-A de isolados de espécies de *Begomovirus* obtidas nesse trabalho e que estão destacadas em vermelho: tomate severe rugose virus – ToSRV (DF 556 e DF 167); nova espécie (DF-480) e tomate chlorotic mottle virus – ToCMoV (DF 050, DF 046 e DF 024) e outras retiradas de banco de dados (*Genbank*). As espécies retiradas de banco de dados empregadas nesta análise foram identificadas por seu acrônimo, seu número de acesso e sigla dos países onde foram originalmente descritas: BR= Brasil; US=Estados Unidos; AR= Argentina e ES=Espanha. As espécies virais e os números de acesso do *Genbank* são os seguintes: oxalis yellow vein virus – OxYVV (KM887907); sida angular mosaic virus – SiAMV (KX691404); sida mosaic Alagoas virus – SiYMaV (JF694472); sida mottle Alagoas virus – SiMoAV (KX896421); sida yellow blotch virus – SiYBV (JX871380); tomate leaf distortion virus – ToLDV (KC706605); tomate yellow spot virus – ToYSV (FJ538207); ToSRV (MT733815; MT733811; JF803261; KX458238; KX828624; MT627095; MT215001); ToCMoV (MT733804; MT215003; MT214086; KC706546; KC706561; KC706554; KC706550) e tomate yellow leaf curl virus – TYLCV (AJ489258).

4. Conclusão

Foi possível detectar ToSRV (DF-556 e DF-167), a qual é predominante em todo país (Fernandes et al. 2008) e ToCMoV (DF-050, DF-046 e DF-024) nas amostras analisadas. Além disto, uma nova espécie de begomovírus foi descrita e caracterizada molecularmente (DF-480). Futuramente espera-se obter clone infeccioso desta espécie. Estes resultados, não só ampliam o conhecimento sobre o gênero *Begomovirus*, como também auxiliam na futura criação de variedades resistentes a essa nova espécie e as demais.

Agradecimentos – Os autores agradecem a Antônio Francisco Costa pelo suporte técnico para as reações de PCR e sequenciamento *Sanger*. Os autores agradecem também aos estudantes que durante realização de trabalhos no Laboratório de Virologia Vegetal realizaram reações de PCR de algumas amostras.

Contribuição de cada autor – Jordânia Davi Oliveira (JDO), Luciane de Nazaré Almeida dos Reis (LNAR), Maria Esther de Noronha Fonseca (MENF), Leonardo Silva Boiteux (LSB), e Rita de Cássia Pereira–Carvalho (RCPC) conceberam e desenharam o experimento; Francisco Costa (FC) extraiu o DNA, e sequenciamento *Sanger*; RCPC: condução de experimentos, RCA, realização das reações de PCR, purificações, análises de bioinformática e anotação de genomas; RCPC, LSB e JDO escreveram o artigo e todos revisaram.

Apoio financeiro – A pesquisa foi financiada pelo CNPq, Embrapa, FAP–DF, CAPES e UnB.

Conflito de interesse – Os autores declaram que não tem conflito de interesse

Referências Bibliográficas

- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402
- Andrade IAD (2020) Levantamento de novas espécies de begomovírus no Distrito Federal e em Goiás e caracterização molecular de uma nova espécie associada à tomateiro contendo *Ty-1*
- Anbinder I, Reuveni M, Azari R, Paran I, Nahon S, Shlomo H, Chen L, Lapidot M, Levin I, (2009) Molecular dissection of tomato leaf curl virus resistance in tomato line TY172 derived from *Solanum peruvianum*. *Theoretical and Applied Genetics* 119:519-530

- Batista JG, Melo FL, Pereira-Carvalho RC, Alves-Freitas DMT, Ribeiro SG (2019) First report of *Tomato apical leaf curl virus* infecting tomato in Brazil. *Plant Disease* 103: 1443
- Bian X, Thomas MR, Rasheed MS, Saeed M, Hanson P, Barro PJ, Rezaian MA (2007) A recessive allele (*tgr-1*) conditioning tomato resistance to geminivirus infection associated with impaired viral movement. *Phytopathology* 97:930-937
- Boiteux LS, Fonseca MEN, Simon PW (1999) Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA based genetic fingerprinting analyses in carrot. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124:32-38
- Boiteux LS, Fonseca MEN, Vieira JV, Pereira-Carvalho RC (2012) Melhoramento para resistências a doenças virais. In: Fritsche-Neto R, Borém A (Eds) *Melhoramento de Plantas para Condições de Estresses Bióticos* Editora Suprema, Visconde de Rio Branco. pp. 89-119
- Brown JK, Zerbini FM, Navas-Castillo J, Moriones E, Ramos Sobrinho R, Silva JCF, Fiallo-Olivé E, Briddon RW, Hernández-Zepeda C, Idris A, Malathi VG, Martin DP, Riverabustamante R, Ueda S, Varsani A (2015) Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparison. *Archives of Virology* 160:1593-1619
- Conab (2021) *Batata, cebola e tomate: Caracterização da produção e da comercialização na região integrada de desenvolvimento econômico do Distrito Federal e Entorno – Ride-DF*. Conab 28
- Cotrim MAA, Krause-Sakate R, Narita N, Zerbini FM, Pavan MA (2007) Diversidade genética de begomovírus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. *Summa Phytopathologica* 33:300-303
- Duarte MF, Fonseca MEN, Costa H, Fernandes NAN, Reis A, Boiteux LS, Pereira-Carvalho (2020) Diversity of tomato-infecting begomoviruses and spatiotemporal dynamics of an endemic viral species of the Brazilian Atlantic rain forest biome. *Virus Genes* 57:83-93
- Fernandes FR, de Albuquerque LC, de Britto Giordan L, Boiteux LS, de Ávila AC, Inoue-Nagata AK (2008) Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251-258
- Fiallo-Olivé E, Navas-Castillo J (2020) Molecular and biological characterization of a New World mono-/bipartite begomovirus/deltasatellite complex infecting *Corchorus siliquosus*. *Frontiers in microbiology* 11:1755
- Gill U, Scott JW, Shekasteband R, Ogundiwin E, Schuit C, Francis DM, Sim SC, Smith H, Hutton SF (2019) *Ty-6*, a major begomovirus resistance gene on chromosome 10, is effective against *Tomato yellow leaf curl virus* and *Tomato mottle virus*. *Theoretical and Applied Genetics* 132:1543-1554
- Giordano LB, Silva-Lobo V, Santana F, Fonseca MEN, Boiteux LS (2005) Inheritance of resistance to the bipartite Tomato chlorotic mottle begomovirus derived from *Lycopersicon esculentum* cv. 'Tyking'. *Euphytica* 13:27-33

- González-Aguilera J, Tavares SS, Sobrinho RR, Xavier CA, Dueñas-Hurtado F, Lara-Rodrigues RM, Zerbini FM (2012) Genetic structure of a Brazilian population of the begomovirus tomato severe rugose virus (ToSRV). *Tropical Plant Pathology* 37:346-353
- Hanley-Bowdoin L, Bejarano ER, Robertson D, Mansoor S (2013) Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews Microbiology* 11:777-788
- Hanley-Bowdoin L, Settlege SB, Orozco BM, Nagar S, Robertson D (2000) Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35: 105-140
- Hanson PM, Bernacchi D, Green S, Tanksley SD, Muniyappa V, Padmaja AS, Chen HM, Kuo G, Fang D, Chen JT (2000) Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125: 15-20
- Inoue-Nagata AK, Albuquerque LC, Rocha WB, Nagata T (2004) A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage ϕ 29 DNA polymerase. *Journal of Virological Methods* 116:209-211
- Ji Y, Schuster DJ, Scott JW (2007) *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus *Ty-1* on chromosome 6 of tomato. *Molecular Breeding* 20:271-284
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Drummond A (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647-1649
- Kielian M, Mettenleiter T, Roossinck MJ (Eds.) (2020) *Virus Assembly and Exit Pathways*. Academic Press
- Krause-Sakate R, Watanabe LFM, Gorayeb ES, da Silva FB, Alvarez DDL, Bello VH, Nogueira AM, de Marchi BR, Vicentin E, Ribeiro-Junior MR, Marubayashi JM, (2020) Population dynamics of whiteflies and associated viruses in South America: Research progress and perspectives. *Insects* 11:847
- Lopes CA, Reis A (2011) Doenças do tomateiro cultivado em ambiente protegido. In. Concórdia. Embrapa Hortaliças. Circular Técnica
- Martins TP, Souza TA, Silva PS, Nakasu EYT, Melo FL, Inoue-Nagata AK, Nagata T (2021) Nanopore sequencing of tomato mottle leaf distortion virus, a new bipartite begomovirus infecting tomato in Brazil
- Mituti T, Moura M F, Macedo MA, Silva T N, Pinto LR, Costa H, Rezende JA (2019) Survey of begomoviruses and the crinivirus, tomato chlorosis virus, in solanaceous in Southeast/Midwest of Brazil. *Tropical Plant Pathology* 44:468-472
- Muhire B M, Varsani A, Martin D P (2014) SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *Plos One* 9:e108277
- Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E (2020) *Geminiviruses (Geminiviridae)*. Elsevier

- Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E, Sánchez-Campos S (2011) Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219-248
- Rego-Machado CM, Nakasu EY, Blawid R, Nagata T, Inoue-Nagata AK (2019) Complete genome sequence of a new bipartite begomovirus infecting tomato in Brazil. *Archives of Virology* 164:2873-2875
- Reis LNA, Fonseca MEDN, Ribeiro SG, Naito F Y, Boiteux L S, Pereira-Carvalho RC (2020) Metagenomics of Neotropical single-stranded DNA viruses in tomato cultivars with and without the *Ty-1* gene. *Viruses* 12:819
- Reis LNA, Fonseca MEDN, Ribeiro SG, Naito F Y, Boiteux L S, Pereira-Carvalho RC (2020) Metagenomics of neotropical single-stranded DNA viruses in tomato cultivars with and without the *Ty-1* gene. *Viruses* 12:819
- Ribeiro SG, Ambrozevícius LP, Ávila AC, Bezerra IC, Calegario RF, Fernandes JJ, Lima M, Mello RN, Rocha H, Zerbini FM (2003) Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 148:281-95
- Ribeiro SG, Martin DP, Lacorte C, Simões IC, Orlandini DR, Inoue-Nagata AK (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 KCG, Marubayashi JM, Navas-Castillo J, Pavan MA, Krause-Sakate R (2010) Ocorrência e variabilidade genética do tomate severe rugose virus em tomateiro e pimentão no estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica* 36:222-227
- Rojas M, Gilbertson R, Russel D, Maxwell D (1993) Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease* 77:340-347
- Souza TA, Silva JMF, Nagata T, Martins TP, Nakasu EYT, Inoue-Nagata AK (2020) A temporal diversity analysis of Brazilian begomoviruses in tomato reveals a decrease in species richness between 2003 and 2016. *Frontiers in Plant Science* 11:1201
- Yan Z, Pérez-de-Castro A, Díez MJ, Hutton SF, Visser RG, Wolters AMA, Bai Y, Li J (2018) Resistance to *tomato yellow leaf curl virus* in tomato germplasm. *Frontiers in Plant Science* 9:1198
- Zamir D, Ekstein-Michelson I, Zakay Y, Navot N, Zeidan M, Sarfatti M, Eshed Y, Harel E, Pleban T, Van-Oss H, Kedar N (1994) Mapping and introgression of a *tomato yellow leaf curl virus* tolerance gene, *Ty-1*. *Theoretical and Applied Genetics* 88:141-146