

**LUCAS BATALHON**

**LEVANTAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE VIROSES COM GENOMA DE  
RNA EM TOMATE E PLANTAS DANINHAS ASSOCIADAS NO ESTADO DE  
SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Nascimento da Silva

**LAGES  
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com auxílio do programa de geração automática da Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Batalhon, Lucas

LEVANTAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE VIROSES COM GENOMA DE RNA EM TOMATE E PLANTAS DANINHAS ASSOCIADAS NO ESTADO DE SANTA CATARINA/ Lucas Batalhon - Lages, 2021.

65 p.

Orientador: Fábio Nascimento da Silva

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2021.

1. *Solanum lycopersicum* L. 2. Virus. 3. Reservatório viral. 4. Diagnose I. Batalhon, Lucas. II. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação de Mestrado em Produção Vegetal. III. Levantamento e caracterização de viroses com genoma de rna em tomate e plantas daninhas associadas no Estado de Santa Catarina.

**LUCAS BATALHON**

**LEVANTAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE VIROSES COM GENOMA DE  
RNA EM TOMATE E PLANTAS DANINHAS ASSOCIADAS NO ESTADO DE  
SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

**Banca examinadora:**

Orientador: Fábio Nascimento da Silva

Professor Dr. Fábio Nascimento da Silva  
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias (CAV-UDESC).

Membro: \_\_\_\_\_

Dra. Mayra Juline Gonçalves  
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias (CAV-UDESC).

Membro: \_\_\_\_\_

Professora Danielle Ribeiro de Barros  
Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

**Lages, 27 de Julho de 2021.**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, nosso pai todo poderoso, pelo dom da vida.

A meus pais Luiz e Denise e toda minha família, pelo amor, carinho, apoio, sempre incentivando meus estudos como forma de crescer pessoal e profissionalmente, além de toda a ajuda para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador professor Dr. Fábio Nascimento da Silva pela orientação, dedicação, amizade e companheirismo no decorrer deste trabalho, agradeço por ter confiado a mim esta pesquisa inédita em lavouras de tomates no estado de Santa Catarina.

Ao professor Dr. Ricardo Trezzi Casa, por ter me aceitado no programa de Pós-graduação em Produção Vegetal.

A todos os produtores de tomates que sem os quais seria impossível de ser realizado este trabalho, agradeço pela disponibilidade de entrada nas lavouras para coleta de plantas sintomáticas e plantas daninhas.

A toda equipe do Laboratório de Virologia, Fitopatologia pela amizade e ajuda durante a realização do mestrado.

Aos meus amigos que ajudaram no desenvolvimento das análises laboratoriais, agradeço a todos do grupo da Virologia pela dedicação empenho e ajuda neste trabalho.

A Universidade do Estado de Santa Catarina, aos professores e funcionários pela oportunidade da realização do Mestrado em Produção Vegetal.

Ao Programa de Bolsas Universitárias de Santa Catarina UNIEDU pela concessão da bolsa.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a elaboração deste trabalho e a minha formação.

Meu muito obrigado a todos!

*O que fizemos apenas por nós mesmos morre conosco; o que fizemos  
pelos outros e pelo mundo permanece e é imortal.*

(Albert Pike)

## RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais consumidas no mundo. O Brasil é o nono maior produtor com cerca de 60 mil hectares cultivados, tendo produção em torno de 4 milhões de toneladas. No estado de Santa Catarina, a estimativa de área de cultivo do tomateiro é de aproximadamente 2.733 hectares com uma produção de 194.778 toneladas, posicionando o estado em sexto lugar na produção nacional. A cultura do tomate é afetada por diversas doenças, dentre elas as viroses se destacam por não existir tratamento curativo. As principais doenças causadas por vírus com genoma de RNA no Brasil são causadas por espécies de vírus pertencentes aos gêneros *Orthospovirus*, *Crinivirus*, *Polerovirus*, *Potyvirus* e *Tobamovirus*. O objetivo deste trabalho foi realizar levantamento e a caracterização de espécies virais com genoma de RNA na cultura do tomate e em plantas daninhas associadas, dentro de áreas de produção no estado de Santa Catarina. Para isso, foram visitadas lavouras de tomate no estado de SC divididas por microrregiões produtoras, fazendo-se a coleta de plantas daninhas e plantas de tomate com sintomas. Após as coletas, estes materiais foram levados até o Laboratório de Virologia Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC) para classificação taxonômica das plantas daninhas e para os testes de detecção e caracterização viral, realizando a extração de ácidos ribonucleico (RNA), RT-PCR, sequenciamento e análise de sequências. Em todas as propriedades visitadas foram encontradas amostras sintomáticas de tomate e plantas daninhas, sendo que foi identificado apenas espécie viral do gênero *Orthospovirus*, não sendo observado reações positivas para os demais gêneros testados. A análise da sequência parcial do gene que codifica a capa proteica viral sugere que tomato chlorotic spot virus (TCSV) é o vírus prevalente nas áreas de produção do Estado de SC, sendo detectado em 12 das 24 amostras de tomate analisadas. TCSV também foi detectado em 3 das 12 amostras de plantas daninhas, reforçando a importância dessas plantas como reservatório viral. Em SC existem poucos estudos relacionados a infecções virais em tomates, necessitando de um aprofundamento maior para que informações técnicas adequadas sejam recomendadas para o manejo.

**Palavras-chave:** *Solanum lycopersicum* L. Vírus. Reservatório viral. Diagnose.

## ABSTRACT

*Solanum lycopersicum* L. is one of the most consumed vegetables in the world. Brazil is the ninth largest producer with 60 thousand hectares cultivated, producing 4 million tons. In the Santa Catarina (SC) state, the estimated area for cultivating tomato is 2,733 hectares and a production of 194,778 tons, placing the state in sixth place in national production. The tomato plants are affected by several diseases, including viruses that stand out because there is no curative management. The main diseases caused by viruses with RNA genome in Brazil are caused by virus species belonging to the genus *Orthospovirus*, *Crinivirus*, *Polerovirus*, *Potyvirus* and *Tobamovirus*. This study aimed to carry out a survey and characterization of viral species with RNA genome in tomato and associated weeds, in production areas in the SC state. For this, tomato production areas in the SC state were visited, divided by producing micro-regions, sampling weeds and tomato plants with symptoms. After sampling, plants were taken to the Laboratório de Virologia Vegetal of the Centro de Ciências Agroveterinárias of the Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC) for weeds taxonomic classification and for viral detection and characterization tests. Extraction of ribonucleic acids (RNA), Reverse Transcription (RT), Polymerase Chain Reaction (PCR), sequencing and sequence analysis were performed. In all tomato production areas, symptomatic tomato plants and weeds were observed, and only viral species of the genus *Orthospovirus* was detected, with no positive reactions for the other virus tested. Analysis of the partial sequence of the gene that encodes the viral coat protein suggests that tomato chlorotic spot virus (TCSV) is the prevalent in tomato production areas in the SC state, detected in 12 of the 24 tomato samples analyzed. TCSV was also detected in 3 of the 12 weed samples, reinforcing the importance of these plants as a viral reservoir. In SC, there are few studies related to viral infections in tomatoes, which require further investigation so that adequate technical information is indicated in the management recommendations.

**Keywords:** *Solanum lycopersicum* L. Virus. Viral reservoir. Diagnosis.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Área de produção de tomate com plantas apresentando sintomas de infecção viral como subdesenvolvimento e amarelecimento. Plantas daninhas são observadas em meio a cultura do tomate. (Urubici, SC, 2020).....33
- Figura 2** – Mapa do estado de Santa Catarina indicando locais de coletas de amostras de tomates e plantas daninhas. Neste mapa do estado de Santa Catarina está marcado com o desenho de um tomate os pontos de coletas de plantas sintomáticas de tomate nos municípios de Bom Retiro, Caçador, Lebon Régis, Monte Castelo/Major Vieira, Palhoça, Rio do Sul, Santo Amaro da Imperatriz e Urubici. Os pontos de coletas de plantas daninhas estão identificados no mapa com o desenho de uma planta na cor verde, sendo os municípios coletados: Caçador, Urubici, Bom Retiro, Santo Amaro da Imperatriz, Monte Castelo/Major Vieira. (Lages, SC, 2021).....34
- Figura 3** – Planta de tomate sintomática em meio a lavoura (A), (Amostra nº 22). Presença de sintomas típicos de viroses, amarelecimento, mosaico, nanismo e folhas arroxeadas (B) (Monte Castelo/ Major Vieira, SC, 2021).....42
- Figura 4** – Plantas de tomates sintomáticas em lavoura com alta incidência de plantas com sintomas de infecção viral (A); diferença de tamanho entre plantas visualmente sadias e infectadas (B), (Amostra nº 24), (Caçador, SC, 2021).....43
- Figura 5** – Plantas em plena colheita com sintomas de viroses (A), presença do ponteiro da planta com enrolamento das folhas, encarquilhamento e clareamento entre as nervuras (Amostra nº 2), (Bom Retiro, SC, 2020).....44
- Figura 6** – Planta daninha maria-pretinha (*Solanum americanum*), com sintomas típicos de virose (A) e (B), (Amostra nº 1), (Urubici, SC, 2020).....46



- Figura 7** – Planta daninha Caruru (*Amaranthus viridis*) ao lado de uma planta com sintomas típicos de viroses (A). Figura (B) é uma ampliação da planta daninha sintomática (Amostra nº4) (Bom Retiro, SC, 2020).....46
- Figura 8** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Orthospovirus*, utilizando os oligonucleotídeos BR60 e BR65. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. . M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).....47
- Figura 9** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Crinivirus*, utilizando os oligonucleotídeos CriniRdRp 251F e CriniRdRp 995R. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).....48
- Figura 10** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Polerovirus*, utilizando os oligonucleotídeos Pol-G-F e Pol-G-R. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).....49
- Figura 11** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Tobamovirus*, utilizando os oligonucleotídeos Tobamo dF e Tobamo dR. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).....50

- Figura 12** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Potyvirus*, utilizando os oligonucleotídeos NIB2F e NIB2R. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).....51
- Figura 13** – Identidade de nucleotídeos e aminoácidos para amostras de tomate e plantas daninhas comparadas com TCSV - *Tomato chlorotic spot virus* (Lages, SC, 2021).....53
- Figura 14** – Árvore filogenética obtida a partir do alinhamento das sequências nucleotídicas de fragmentos de DNA amplificados com os iniciadores BR60 e BR65 a partir de amostras de tomate e plantas daninhas, obtidas através do programa Mega X. Foram utilizados *tomato chlorotic spot virus* (TCSV), e *tomato spotted wilt virus* (TSWV, *outgroup*) para análise comparativa. Número da amostra sendo (To) para tomate e (Pd) para plantas daninhas, bem como o município de coleta: (LR) Lebon Régis, (UR) Urubici, (CA) Caçador, (BR) Bom Retiro, (SAI) Santo Amaro da Imperatriz, (MCMV) Monte Castelo/Major Vieira (Lages, SC, 2021).....54
- Figura 15** – Árvore filogenética obtida a partir do alinhamento das sequências de aminoácidos geradas a partir da sequência de nucleotídeos obtidas da amplificação de fragmentos de DNA utilizando os iniciadores BR60 e BR65 a partir de amostras de tomate e plantas daninhas, obtidas através do programa Mega X. Foram utilizados *tomato chlorotic spot virus* (TCSV), e *tomato spotted wilt virus* (TSWV, *outgroup*) para análise comparativa. Número da amostra sendo (To) para tomate e (Pd) para plantas daninhas, bem como o município de coleta: (LR) Lebon Régis, (UR) Urubici, (CA) Caçador, (BR) Bom Retiro, (SAI) Santo Amaro da Imperatriz, (MCMV) Monte Castelo/Major Vieira (Lages, SC, 2021).....55

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Informações referentes a coleta de plantas de tomate, incluindo o município de coleta, número da amostra, variedade, grupo, data de coleta, local de produção das mudas e posicionamento geográfico.(Lages, SC, 2021).....35
- Tabela 2** - Informações referentes a coleta de plantas daninhas, incluindo município de coleta, número da amostra, posicionamento geográfico, data de coleta e nome da planta. (Lages, SC, 2021).....37
- Tabela 3** - Iniciadores universais e tamanho dos fragmentos obtidos nas reações em cadeia da polimerase para os diferentes gêneros testados em tomate e em plantas daninhas.....39

## LISTA DE ABREVIATURAS

BR - Bom Retiro

CA - Caçador

CAV - Centro de Ciências Agroveterinárias

CEPA – Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola

CI - *Cylindrical Inclusion protein*

CSNV - Chrysanthemum stem necrosis vírus

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

FAO - *Food and Agriculture Organization*

GBNV - Groundnut bud necrosis vírus

GRSV - Groundnut ringspot vírus

HC-Pro - *Helper Component-Protease*

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LR - Lebon Régis

MCMV - Monte Castelo/Major Vieira

MIP – Manejo integrado de pragas

ONU – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS

ORF – *Open Reading Frame*

PCR - polimerase chain reaction

PIPO - *pretty interesting potyvirus ORF*

RNA – Ácido Ribonucleico

SC – Santa Catarina

SAI - Santo Amaro da Imperatriz

TCSV - Tomato chlorotic spot virus

TSWV - Tomato spotted wilt virus

UDESC - Universidade do Estado de Santa Catarina

UR - Urubici

VPg - *Viral Protein genome-linked*

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>155</b>
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>177</b>
<b>1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS E ORIGEM DO TOMATEIRO</b> .....	<b>187</b>
1.1 A CULTURA DO TOMATE.....	18
1.2 VÍRUS EM TOMATE .....	20
<b>2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PRINCIPAIS GÊNEROS DE VÍRUS ASSOCIADOS A CULTURA</b> .....	<b>22</b>
2.1 <i>POTYVIRUS</i> .....	22
2.2 <i>ORTOTHOSPOVIRUS</i> .....	23
2.3 <i>CRINIVIRUS</i> .....	23
2.4 <i>TOBAMOVIRUS</i> .....	24
2.5 <i>POLEROVIRUS</i> .....	25
<b>3 VETORES DE VIROSES EM TOMATE</b> .....	<b>26</b>
3.1 MOSCA BRANCA.....	26
3.2 TRIPES .....	28
3.3 PULGÕES .....	28
<b>4 PLANTAS DANINHAS ASSOCIADAS A CULTURA DO TOMATE</b> .....	<b>30</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
Caracterização das Espécies Virais.....	37
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>56</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>58</b>

## INTRODUÇÃO

Com o crescimento populacional a demanda por alimentos será uma grande necessidade futura, sendo necessário produzir alimentos em grandes quantidades e de boa qualidade para que os seres humanos consigam atender as suas necessidades nutricionais.

A família Solanaceae inclui várias espécies de importância agrônômica, como o tomate que é o produto olerícola de maior difusão de uso no mundo para consumo fresco ou processado, juntamente com a batata, cebola e alho (CAMARGO; CAMARGO FILHO, 2008). O tomate é considerado uma espécie cosmopolita, sendo cultivada no mundo todo e tendo como maiores produtores a China, a União Européia, a Índia, os Estados Unidos da América e a Turquia (FAO, 2019).

O Brasil é o nono maior produtor com cerca de 64 mil hectares cultivados, tendo produção em torno de 4.168 milhões de toneladas (ONU – Organização das Nações Unidas, 2016). No estado de Santa Catarina, segundo dados do IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020), a estimativa de área de cultivo do tomateiro é de aproximadamente 2.466 hectares com uma produção de 175.086 toneladas, posicionando o estado em sexto lugar na produção nacional.

A cultura do tomate em Santa Catarina está presente em todo o território do estado, com destaque para a região de Joaçaba com 50,4% da área plantada no estado, região essa composta pelos municípios de Caçador e Lebon Regis com 700 e 400 hectares plantados respectivamente. Geralmente os produtores transplantam as mudas no início da primavera, mudas essas que normalmente são produzidas no Sudeste do País, sendo transplantadas escalonadamente até dezembro (SINTESE ANUAL DA AGRICULTURA DE SANTA CATARINA, 2017-2018).

Vários patógenos podem causar doenças no tomateiro, com destaque para os fungos, bactérias, nematóides e vírus (LOPES & ÁVILA, 2005).

Os vírus são patógenos biotróficos que além de ocasionarem danos diretos à cultura, reduzindo o vigor das plantas e produção/qualidade de frutos, também podem tornar a planta mais suscetível ao ataque de outros patógenos

(ACOSTA et al., 2013; GUERRA et al., 2012; JESUS JÚNIOR et al., 2014; MATTHEWS, 1991).

As viroses se destacam por não existir tratamento curativo. As principais doenças de etiologia viral no Brasil são causadas por espécies de vírus pertencentes aos gêneros *Begomovirus*, *Orthotospovirus*, *Crinivirus*, *Polerovirus*, *Potyvirus* e *Tobamovirus*.

A identificação e a caracterização de vírus na cultura do tomate e em plantas daninhas associadas no estado de Santa Catarina são fundamentais para a recomendação de práticas de manejo adequadas. O estado de Santa Catarina carece de informações relacionadas a infecções virais na cultura do tomateiro.

Os dados gerados nesse estudo poderão auxiliar técnicos e produtores a definirem práticas de manejo específicas no que se refere a infecções virais em lavouras de tomates, resultando em maior produtividade das lavouras e maior lucratividade para o agricultor.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento e caracterização de viroses com genoma de RNA em tomates e plantas daninhas associadas no estado de Santa Catarina.



## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS E ORIGEM DO TOMATEIRO

O tomate tem como classificação científica: Reino: Plantae; Superdivisão: Spermatophyta; Divisão: Magnoliophyta (Angiospermae); Classe: Magnoliopsida (Dicotiledoneae); Ordem: Solanales; Família: Solanaceae; Gênero: *Solanum*; Espécie: *Solanum lycopersicum* L. (Sinonomia *Lycopersicon esculentum* Mill. e *Lycopersicon lycopersicum* (L.) H. Karst.). (MUELLER, 2016).

O gênero *Solanum* tem como centro de origem a região andina da Colômbia, Peru, Equador, Chile e da Bolívia, lugar onde crescem espontaneamente diversas espécies do gênero. O mais provável ancestral do tomate silvestre é o *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (Dun.), planta essa que cresce nas regiões tropicais e subtropicais da América e da Europa. Durante os movimentos migratórios indígenas no México e na América Central no período pré-colombiano algumas espécies foram introduzidas. (FILGUEIRA, 2003; PROHENS, NUEZ, 2008).

A palavra tomate originou-se de *tumatl* ou *tomatl* – dialeto indígena mexicano, significando plantas de frutos globulares polpa aquosa e muitas sementes. O centro de domesticação do tomateiro é o México, por onde a planta passou a ser melhorada geneticamente e cultivada. Antes da chegada dos conquistadores espanhóis o tomate era parte integrante da cultura mexicana, no início da conquista o tomate já estava integrado a cultura de povos indígenas astecas, que cultivavam, comercializavam e consumiam tomates. Tribos andinas e os povos Incas utilizavam os frutos muito raramente. Em 1523 e 1554 foi introduzido na Europa pela Espanha, apresentando tipos diversificados de domesticação. Introduzido como planta ornamental e medicinal, nos finais do século XVIII passou a ser cultivado como hortaliça na Espanha e se disseminando pelo globo (FILGUEIRA, 2003; PROHENS; NUEZ, 2008)

## 1.1 A CULTURA DO TOMATE

Os maiores produtores de tomate são: China, Índia, Estados Unidos, Turquia, Egito, Irã, Itália, Espanha, Brasil e México, sendo que estes países são responsáveis por 76,40% da produção mundial (FAO, 2016).

Mundialmente a China é o maior produtor com mais de um milhão de hectares de área cultivada e com uma produção anual de mais de 56 milhões de toneladas. (FAOSTAT, 2018).

O Brasil é o nono maior produtor com cerca de 54.443 mil hectares cultivados e com produção em torno de 4 milhões de toneladas, o que significa uma média aproximada de 73,47 t/ha (IBGE, 2020).

Cultivado em todos os estados do país, sendo que os principais produtores são Goiás, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Bahia e Santa Catarina (IBGE, 2019). Da produção total, cerca de 70% são destinados ao mercado para consumo *in natura* e o restante a indústria para processamento em estratos, pastas, molhos, sucos e outros derivados (IBGE, 2020).

No estado de Santa Catarina, segundo dados do IBGE (2019), a estimativa de área de cultivo do tomateiro é de aproximadamente 2.733 hectares com uma produção de 194.778 toneladas, posicionando o estado em sexto lugar na produção nacional e em terceiro lugar em produtividade (BECKER *et al.*, 2016; IBGE, 2019). Dividindo o estado em microrregiões, a de Joaçaba detém 51,5% da área plantada e 64% da produção, sendo as demais microrregiões do estado como Tabuleiro, Florianópolis e Campos de Lages com 33% de área plantada e 26% da produção (BECKER *et al.*, 2016).

Em Santa Catarina, o cultivo de tomate é destinado para o consumo *in natura*, também denominado de tomate de mesa. O clima mais favorável nas regiões do Litoral e Meio-Oeste propiciam conduzir o cultivo do tomate durante todo o ano e em sequência nas diferentes partes do estado (BECKER *et al.*, 2016).

O clima em Santa Catarina propicia conduzir o cultivo do tomate em diferentes épocas do ano. Em Joaçaba e nos campos de Lages (oeste e serra de SC, respectivamente) a época de produção é de dezembro a março; Em Canoinhas e São Bento do Sul (norte de SC) a época de produção é de dezembro a abril; Em Joinville (norte de SC) a produção vai de maio a março;

Em Criciúma, Araranguá e Tubarão (Sul de SC) e a grande Florianópolis (litoral) a produção vai de maio a julho e outubro a fevereiro; já em Rio do Sul e Ituporanga (Vale do Itajaí) a produção vai de outubro a fevereiro (BECKER et al., 2016).

Considerando os municípios de Caçador, Lebon Régis e Rio das Antas, que fazem parte da microrregião de Joaçaba, eles continuam liderando a maior área plantada, com mais de 900 hectares e uma produtividade de 82 mil quilos por hectare. Os três municípios representam a significativa parcela de 54% da produção estadual e colocam a microrregião de Joaçaba como a maior do Estado, fornecedora de tomates durante o verão (EPAGRI/CEPA, 2020).

Para se obter um resultado positivo na cultura do tomateiro as variedades devem ser resistentes às doenças e atender ao tamanho e à uniformidade dos frutos. O tomate requer um clima relativamente ameno, entre 21°C a 24°C, para uma produção de melhor qualidade. Necessita de uma área ensolarada, mas a temperatura acima de 35°C há uma tendência de dificuldade na formação do tubo polínico o que diminuirá a autofecundação das flores com a consequente diminuição da produtividade. A maioria das cultivares de tomateiro são sensíveis a temperaturas muito elevadas o que causam o abortamento de flores, além de não suportarem temperaturas baixas, pois essas podem comprometer as folhas. Com relação ao solo, para a cultura do tomate recomenda-se solos férteis, porosos, bem drenados e ricos em matéria orgânica. O tomateiro é medianamente tolerante à acidez, mas é exigente em cálcio e magnésio. Além disso, é aconselhável plantar o tomate em um solo que não tenha sido cultivado antes com tomate ou outra solanácea para evitar doenças (FILGUEIRA, 2003; INCAPER, 2010; PROHENS; NUEZ, 2008).

Trata-se de uma cultura de grande complexidade exigindo manejo e tratamentos culturais constantemente. Apresenta um número significativo de pragas e doenças que acometem a cultura, assim exigindo a correta identificação do patógeno e aplicação de produtos fitossanitários (TORMEN et al., 2012).

Em todos os sistemas de produção como exemplo produção integrada, plantio convencional e agricultura orgânica, a ocorrência de doenças deve ter especial atenção. Vários patógenos estão relacionados a doenças no tomateiro, com destaque para os fungos, bactérias, nematoides e vírus (LOPES & ÁVILA, 2005).

Os vírus são patógenos biotróficos que além de ocasionarem danos diretos à cultura, reduzindo o vigor das plantas e produção/qualidade de frutos, também podem tornar a planta mais suscetível ao ataque de outros patógenos (ACOSTA et al., 2013; GUERRA et al., 2012; JESUS JÚNIOR et al., 2014; MATTHEWS, 1991).

Os danos causados por viroses são variáveis dependendo do genótipo do hospedeiro, da estirpe viral e do estágio fenológico da planta que ocorre a infecção, com danos na ordem de 70 a 100% em infecções de plantas jovens (INOUE-NAGATA et al., 2016).

As principais pragas são as transmissoras de viroses, as desfolhadoras e as que atacam os frutos. O controle de pragas somente com agrotóxicos apresenta inúmeras desvantagens para o tomaticultor, como por exemplo, aumento no custo de produção, diminuição no número de inimigos naturais, além de comprometer a saúde do aplicador e do consumidor. Nesta perspectiva, métodos alternativos de controle devem ser adotados, ou seja, o manejo integrado de pragas (MIP) é fundamental (SANTOS, 2016). A utilização do MIP visa favorecer os inimigos naturais das pragas, reduzir os riscos de poluição ambiental, produzir alimentos mais saudáveis e reduzir o custo de produção (MOURA et al., 2014).

## 1.2 VÍRUS EM TOMATE

Os vírus são constituídos por nucleoproteínas que possuem a habilidade de causar doenças (AGRIOS, 2014). Essas nucleoproteínas são compostas de ácido nucléico (RNA ou DNA) revestido por uma camada protetora, o capsídeo, sendo parasitas intracelulares obrigatórios. Os vírus utilizam os ribossomos e os aminoácidos da célula hospedeira para síntese de suas proteínas, nucleotídeos e certas enzimas do hospedeiro para síntese de novas cópias do ácido nucléico viral. Para que ocorra esse processo é necessária energia da célula hospedeira (HULL, 2002).

Os sintomas mais comuns de doenças em plantas causadas por vírus são desvios de cor, deformações, mosqueado, clareamento de nervuras, murcha, enfezamentos, nanismo, perfurações, espessamento foliar, enações, sintomas de necrose, alterações em organelas, como o cloroplasto ou o núcleo, ou

inclusões formadas por proteínas ou partículas virais que acumulam na célula (ZAMBOLIM et al., 2012).

O tomate é uma das culturas mais afetadas por doenças de plantas, sendo que cerca de duzentas doenças e distúrbios fisiológicos tem sido relatado na cultura do tomate no mundo (LOPES & ÁVILA, 2005).

A produção de tomate exige conhecimento técnico, uma vez que a cultura é extremamente sensível a diversos fatores, especialmente pragas e doenças. Entre as doenças, as viroses estão entre as mais importantes no cultivo do tomateiro (INOUE-NAGATA et al., 2016).

As viroses que afetam a cultura do tomate merecem destaque devido as características peculiares desses patógenos biotróficos e aos danos causados à cultura no Brasil e no mundo. No Brasil várias espécies já foram relatadas em associação com plantas de tomate, com destaque para as espécies *Potato leafroll virus*, *Tomato mosaic virus*, *Tobacco mosaic virus*, *Tomato spotted wilt virus*, *Tomato chlorotic spot virus*, *Groundnut ringspot virus*, *Chrysanthemum stem necrosis virus*, *Potato virus Y*, *Pepper yellow mosaic virus*, *Tomato severe rugose virus*, *Tomato mottle leaf curl virus*, *Tomato golden vein virus*, *Tomato chlorotic mottle virus*, *Tomato common mosaic virus*, *Tomato yellow vein streak virus*, *Tomato yellow spot virus* e *Tomato chlorosis virus* (INOUE-NAGATA et al., 2005; INOUE-NAGATA et al., 2016).

Dentre as medidas de controle recomendadas para o manejo de viroses em tomate destacam-se: utilização de sementes e mudas saudáveis; escolha do local e época do plantio; utilização de cultivares resistentes; eliminação de hospedeiros alternativos; e controle químico do vetor (BECKER et al., 2016; INOUE-NAGATA et al., 2005).

## 2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PRINCIPAIS GÊNEROS DE VÍRUS ASSOCIADOS A CULTURA

### 2.1 POTYVÍRUS

Os vírus pertencentes ao gênero *Potyvirus* (Família *Potyviridae*) apresentam partículas flexuosas alongadas de 680-900 nm de comprimento e 11-13 nm de diâmetro, contendo um único segmento genômico de RNA de fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 10000 nucleotídeos (nt). O genoma apresenta a proteína VPg (“*Viral Protein genome-linked*”) ligada covalentemente na extremidade 5’ e na extremidade 3’ é poliadenilado. O RNA genômico codifica uma poliproteína, a qual é processada em dez produtos gênicos individuais (KING et al., 2012). As proteínas codificadas pelo genoma viral são: (i) P1 – tem papel importante na replicação viral; (ii) HC-Pro (“*Helper Component-Protease*”) – importante na supressão do silenciamento gênico (mecanismo envolvido na resposta antiviral) e na transmissão pelo vetor; (iii) P3 – importante para replicação do genoma viral, gama de hospedeiros e desenvolvimento de sintomas; (iv) 6K1 – função ainda não conhecida; (v) CI (“*Cylindrical Inclusion protein*”) – apresenta atividade de helicase e acumula no citoplasma de células infectadas formando corpos de inclusão; (vi) 6K2 – é uma proteína transmembrana que conecta o complexo de replicação ao retículo endoplasmático da célula hospedeira; (vii) VPg – ligada covalentemente a região 5’ do genoma viral, sendo importante nos processos de replicação, tradução e supressão do silenciamento gênico; (viii) NIa-Pro – apresenta função de protease; (ix) NIb – polimerase de RNA dependente de RNA; (x) CP – capa proteica viral também envolvida no movimento viral, amplificação do genoma e transmissão pelo vetor. Adicionalmente, uma pequena região codificadora (ORF – Open Reading Frame) adicional tem sido reportada. Essa ORF é denominada de PIPO (“*pretty interesting potyvirus ORF*”) e é importante para o movimento intercelular do vírus (KING et al., 2012).

De maneira geral, os potyvírus são transmitidos de maneira não persistente por afídeos a várias espécies de hospedeiros, incluindo as pertencentes à família das solanáceas. Também podem ser transmitidos experimentalmente por meio de inoculação mecânica e, algumas espécies virais,

podem ser transmitidas naturalmente por sementes ou material propagativo infectado (KING et al., 2012).

## 2.2 ORTOTHOSPOVÍRUS

O gênero *Orthospovirus* pertencente à família *Tospoviridae* e possui ampla gama de hospedeiros, infectando mais de 1090 espécies de plantas, causando lesões necróticas, murcha e morte de plantas infectadas (ICTV, 2016; LIU, 2017).

Os vírus pertencentes ao gênero *Orthospovirus* apresentam partículas esféricas, medindo 80-120 nm de diâmetro e possuem genoma de RNA de fita simples, segmentado, denominados de: L (*large*), M (*medium*) e S (*small*). O RNA L é de sentido negativo, contendo uma única fase aberta de leitura (ORF, open reading frame) que codifica uma RNA-polimerase viral associada a replicação. Enquanto os RNAs M e S são ambisensos, e cada um contém duas ORFs separadas por uma região intergênica rica em adenina (A) e –Uracila (U). O RNA M codifica para a proteína de movimento NSm e para as glicoproteínas Gn e Gc e o RNA S codifica uma proteína NSs supressora de silenciamento gênico e a proteína de nucleocapsídeo associada a RNA (NP) (LIU, 2017).

Já foram relatadas 13 espécies de tripes associadas a transmissão natural e disseminação de diferentes espécies virais desse gênero (KING et al., 2012).

Há apenas um relato de transmissão de *Soybean vein necrosis virus* via sementes e de maneira geral, é possível fazer a transmissão experimental via extrato vegetal tamponado (GROVES et al., 2016).

## 2.3 CRINIVÍRUS

Os vírus pertencentes ao gênero *Crinivirus* (Família *Closteroviridae*) apresentam partículas alongadas e flexuosas com simetria helicoidal de 650-900 nm de comprimento, contendo dois segmentos genômicos de RNA de fita simples, sentido positivo, com 7801- 9127 nt para o RNA-1 e 7903-8530 nt para o RNA-2. Existe uma exceção nesse gênero que é o Potato yellow vein virus, o qual apresenta três segmentos genômicos (RNA-1 com 8035 nt; RNA-2 com 5339 nt; e RNA-3 com 3892 nt) (KING et al., 2012).

Esses vírus podem apresentar de 9 a 13 ORFs dependendo da espécie viral e do número de segmentos genômicos. No RNA-1 são codificadas as proteínas associadas a replicação do genoma viral e no RNA-2 as proteínas associadas ao movimento, encapsidação e transmissão pela mosca branca (KING et al., 2012). Estudos adicionais são necessários para confirmação da função das proteínas codificadas pelos crinivírus, uma vez que a maioria das funções foi predita com base na comparação de sequências que apresentam domínios funcionais já caracterizados. Os crinivírus são transmitidos de maneira semi-persistente por mosca branca dos gêneros *Trialeurodes* e *Bemisia* (principalmente *T. vaporariorum* e *B. tabaci*). Não existem relatos de transmissão mecânica e transmissão por sementes (KING et al., 2012).

#### 2.4 TOBAMOVÍRUS

Os vírus pertencentes ao gênero *Tobamovirus* (Família *Virgaviridae*) apresentam partículas alongadas e rígidas com 18 nm de diâmetro e 300-310 nm de comprimento, contendo um único segmento genômico de RNA de fita simples, sentido positivo, com 6300-6600 nt (KING et al., 2012). Duas proteínas não estruturais são expressas diretamente do RNA genômico, uma proteína com 124-130 kDa e outra com 181-189 kDa (traduzida pelo mecanismo de leitura de códon de terminação – *readthrough*), ambas essenciais para replicação do genoma viral. Apresenta outra proteína não estrutural de 28-31 kDa requerida para o movimento célula-a-célula e a longa distância, pertencente ao grupo de proteínas de movimento célula-a-célula denominado 30K. Adicionalmente, os tobamovírus produzem uma proteína estrutural denominada de capa proteica (17-18 kDa), a qual envolve o material genético do vírus. Tanto a proteína de movimento quanto a capa proteica são expressas via RNA subgenômico (KING et al., 2012).

A maioria das espécies de tobamovírus apresentam gama de hospedeiros restrita. As espécies virais desse gênero não são transmitidas por vetores, mas são facilmente transmitidas pelo contato entre folhas (transmissão mecânica). Adicionalmente, podem ser transmitidas por sementes, sendo incapazes de infectar o embrião (KING et al., 2012).



## 2.5 POLEROVÍRUS

Os vírus pertencentes ao gênero *Polerovirus* (Família *Luteoviridae*) apresentam partículas isométricas com 25-30 nm de diâmetro, contendo um único segmento genômico de RNA de fita simples, sentido positivo, com 5641-5987 nt (KING et al., 2012). Três proteínas não estruturais são expressas diretamente do RNA genômico, uma proteína com 28-30 kDa (ORF0), outra com 66-72 kDa (ORF1), e a terceira com 116-121 kDa (ORF2, traduzida por mudança de fase a partir da ORF1), com funções relacionadas a supressão do silenciamento gênico e a replicação do genoma viral, respectivamente. A outra proteína não estrutural apresenta de 17-21 kDa e está relacionada possivelmente ao movimento do vírus na planta. Adicionalmente, os polerovírus produzem duas proteínas 17 estruturais denominadas de capa proteica (*major* com 22-23 kDa e *minor* com 67-80 Kda), ambas envolvidas na formação e estabilidade da partícula viral, sendo que a proteína *minor* CP também está envolvida no processo de transmissão por afídios. As regiões codificadoras da proteína de movimento e das proteínas da capa são traduzidas via RNA subgenômico (KING et al., 2012). Os polerovírus são transmitidos de maneira persistente circulativa por espécies de afídios (KING et al., 2012). A espécie *Potato leafroll virus* é transmitida eficientemente por *Myzus persicae* e *Macrosiphum euphorbiae* (NAGATA et al., 2005).

### 3 VETORES DE VIROSES EM TOMATE

Os insetos são os principais agentes de transmissão de vírus em plantas e fundamentais no estabelecimento e desenvolvimento de epidemias. O entendimento das relações vírus e vetor são fundamentais para a determinação de medidas de manejo eficientes. No tipo de relacionamento não persistente o vírus fica restrito a ponta do estilete, sendo adquirido e inoculado nas picadas de prova; já para o tipo de relacionamento semi-persistente o vírus pode atingir a faringe e o comportamento quanto a aquisição e inoculação é muito similar ao tipo não persistente. No tipo persistente circulativo o vírus circula no corpo do inseto, conferindo um tempo maior para aquisição e inoculação, sendo assim realizadas nas picadas de prova do inseto. Esse mesmo comportamento também é observado no persistente propagativo, onde o vírus tem a capacidade de replicar nas células do inseto vetor (DIETZGEN et al., 2016). A seguir serão apresentadas algumas informações referentes aos principais grupos de insetos vetores dos vírus avaliados neste estudo.

#### 3.1 MOSCA BRANCA

A mosca branca (*Bemisia tabaci*) é um inseto polífono que se alimenta da seiva presente no floema de mais de 600 hospedeiros (POLSTON et al., 2014), a importância desse inseto se dá principalmente pela capacidade de transmissão de cerca de 300 espécies de vírus de plantas (GILBERTSON et al., 2015), incluindo espécies de begomovírus e crinivírus, as quais podem estar associadas ao tomateiro. *Bemisia tabaci* é considerada um complexo de espécies crípticas, sendo composta por grupos distintos genética e ecologicamente.

Os adultos de mosca-branca, *B. tabaci*, são pequenos, sendo os machos menores e menos abundantes que as fêmeas. São insetos com cabeça opistognata aparentemente com o rostro separado da cabeça. Apresentam o dorso amarelo-pálido e as asas membranosas brancas com venação reduzida, medem de 1 mm a 2 mm de comprimento e 0,36 mm a 0,51 mm de largura. Os olhos são vermelhos, compostos e divididos em duas partes por uma projeção cuticular e as antenas são curtas. A espécie ocupa preferencialmente a face abaxial das folhas para sua alimentação e oviposição (BYRNE & BELLOWS JR,

1991; STANSLY & NARANJO, 2010). Os ovos da mosca branca possuem formato elíptico, assimétrico e pedicelo subapical curto (LIMA et al., 2001).

Esses diferentes grupos apresentam capacidades distintas de transmissão de vírus de plantas, de causar danos as plantas, de atração de inimigos naturais e resposta a inseticidas (BROWN et al., 1995). Dentro das 43 espécies do complexo *B. tabaci*, as espécies MEAM1 (*Middle East-Asia Minor 1*, conhecida como biótipo B) e MED (*Mediterranean*, conhecida como biótipo Q) são consideradas as mais agressivas dentro do complexo (BOYKIN & DE BARRO 2014).

No Brasil, a partir da introdução da espécie MEAM1 na década de 1990 foram relatadas 14 espécies de begomovirus nativas do Brasil infectando o tomate (LOURENÇÃO & NAGAI 1994; MORAES et al., 2018). Recentemente, foi realizado um amplo levantamento de *B. tabaci* no Brasil, onde foi reportado que de fato a espécie prevalente é a MEAM1. Já a espécie MED foi relatada em Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, infestando principalmente plantas ornamentais que não estavam infectadas com vírus (MORAES et al., 2018). No estado de Santa Catarina foi detectado a presença apenas de MED e *Trialeurodes vaporariorum* (MORAES et al., 2018).

A mosca-branca é responsável pela transmissão e disseminação de várias espécies virais, as quais causam danos significativos a cultura do tomate (SOUZA; REIS, 2003).

Os begomovírus no Brasil são transmitidos pela mosca-branca, *B. tabaci* MEAM1, de maneira persistente circulativa (ROSEN et al., 2015). A mosca-branca é um inseto sugador que, ao se alimentar de hospedeiras infectadas, sugam a seiva da planta contaminada a partir do floema, adquirindo as partículas virais. O vírus circula em todo o corpo do inseto, passando do intestino para a hemolinfa, onde é encaminhado, com o auxílio de proteínas denominadas Groel, até a glândula salivar. Ao se alimentar em uma planta saudável, a mosca deposita a saliva contaminada, transmitindo as partículas virais (CHEN et al., 2016).

### 3.2 TRIPES

Os tripes são insetos que apesar de sugarem continuamente a seiva do tomateiro, provocam maiores danos indiretos pela transmissão de viroses (MOURA et al., 2014). A espécie *Frankliniella schultzei* (Trybom, Thysanoptera: Thripidae) é o vetor da principal virose do tomateiro conhecida como “vira-cabeça do tomateiro” causada pelo orthotospovirus Tomato spotted wilt virus (TSWV) (GALLO et al., 2002).

São insetos muito pequenos, de corpo estreito e alongado (1 a 2 mm de comprimento), com coloração que varia de amarelo-claro a preto, cabeça quadrangular e aparelho bucal do tipo perfurador-sugador. Os adultos têm dois pares de asas estreitas e franjadas, enquanto as formas jovens são ápteras (MONTEIRO; MOUND, 2012)

Entretanto, este inseto também é capaz de transmitir outros vírus que causam danos significativos na cultura do tomate como Chrysanthemum stem necrosis virus (CSNV), Groundnut ringspot virus (GRSV), Groundnut bud necrosis virus (GBNV) e o Tomato chlorotic spot virus (TCSV) (RILEY et al., 2011).

Os *Orthotospovirus* são transmitidos por tripes, através da relação persistente-propagativa, ou seja, o vírus replica no inseto vetor. O vírus é adquirido pela larva e transmitido pelos adultos que são altamente eficientes na transmissão dos vírus. A espécie *F. schultzei* é a que ocorre com maior frequência no Estado de São Paulo e é responsável pelas epidemias de vira-cabeça em diversas solanáceas. (PAVAN et. al., 2018).

### 3.3 PULGÕES

Os pulgões constituem no principal grupo de insetos transmissores de vírus, aproximadamente metade dos 600 vírus transmitidos por vetores são transmitidos pelos pulgões. A maior parte dos vírus transmitidos por afídeos pertence a esta categoria. Exemplos de vírus transmitidos de modo estiletar são: *Potato virus Y* (vírus Y da batata), *Cucumber mosaic virus* (vírus do mosaico do pepino), *Bean common mosaic virus* (vírus do mosaico do feijoeiro), *Lettuce mosaic virus* (vírus do mosaico da alface), *Papaya ringspot virus* (vírus do anel do mamoeiro) (INOUE-NAGATA, 2002).

São insetos sugadores pertencentes a Ordem Hemiptera e Família Aphididae, de tamanho máximo de 5 mm de comprimento. Essa ordem apresenta distribuição mundial, sendo que a maioria das espécies são pragas importantes em diversas culturas. Medem em média de 2 mm de comprimento e apresentam coloração variando de amarelo claro a verde escuro (ALENCAR et al., 2002, SILVA; DONISETI; JORDÃO, 2004).

As fêmeas produzem ninfas ao invés de ovos, na reprodução o clima é o fator que controla o processo, em clima quente se reproduzem por partenogênese telítoca, sem a participação do macho e originando apenas fêmeas. Já em clima extremamente frio a reprodução é sexuada, sendo que os machos aparecem apenas no inverno. O ciclo de vida do pulgão tem duração de cinco a vinte dias e durante este período cada indivíduo tem o poder reprodutivo de 100 a 120 descendentes. O desenvolvimento de pulgões na planta hospedeira depende, entre outros fatores, das condições climáticas. Temperaturas elevadas entre 21 e 27°C e condições normais de umidade relativa favorecem o seu desenvolvimento (DEGRANDE, 1998). Os pulgões *Myzus persicae* e *Myzus euphorbiae* são transmissores de quatro tipos de viroses, sendo a mais conhecida a denominada de topo amarelo do tomateiro, além do vírus-do-mosaico-do-tomateiro, do vírus "Y" e do amarelo baixeiro. Estudos indicam que, dependendo da idade da planta na época da infecção e da estirpe de vírus, podem ocorrer perdas na produção da ordem de 20 a 70% (SOUZA; REIS, 2003; LEBEDENCO, 2006).

A maioria dos vírus de plantas transmitidos por pulgões segue uma estratégia não-circulativa. As características básicas dos vírus não-circulativos incluem a capacidade de ser adquirido em um curto período de tempo (segundos a minutos) e ser transmitido em intervalo de tempo sem período latente. Nos períodos de inoculação e aquisição e o local de retenção no vetor é possível distinguir duas categorias de vírus não-circulativos: não-persistente e semi-persistente. A transmissão não-persistente tem como características estar associada ao estilete do vetor, sendo os vírus adquiridos retidos por minutos ou poucas horas, os vírus serem facilmente perdidos durante as provas de alimentação e apresentarem baixa especificidade (vírus-vetor). A transmissão semi-persistente tem como algumas características as observadas na transmissão não-persistente, porém, a associação biológica do vírus e vetor

localiza-se na região proximal anterior do sistema digestivo dos insetos, onde os vírus podem ser retidos por horas ou dias (FERERES et al., 2015; MORENO et al., 2019).

#### 4 PLANTAS DANINHAS ASSOCIADAS A CULTURA DO TOMATE

Plantas daninhas são potenciais hospedeiras de pragas, doenças, nematoides, ácaros, bactérias e vírus, sendo fonte de inóculo em culturas de interesse comercial. Em lavouras de tomate se constituem problema sério, devido a competição, as plantas de tomate tornam-se mais suscetíveis a doenças e pragas. Como danos diretos ocasionados pelas plantas daninhas podemos citar a competição por luz, água e nutrientes, e danos indiretos por serem hospedeiras de patógenos e insetos vetores (BECKER et al., 2016).

De acordo com Hernandez et al. (2002) os danos a produtividade do tomateiro para processamento industrial são proporcionais a densidade de *Solanum americanum* Mill (Maria-pretinha), sendo, portanto, a capacidade de competição influenciada pela quantidade de plantas daninhas, quanto maior a densidade, maior o dano.

Plantas daninhas como *S. americanum*, *Solanum sissymbriifolium* (joá), *Nicandra physaloides* L. (joá-de-capote), entre outras, pertencentes à família botânica Solanaceae, a mesma do tomate, devem ser controladas em áreas de cultivo de tomate. Além de hospedeiras de patógenos e de produzir grande quantidade de sementes de fácil disseminação, elas possuem fisiologia semelhante à do tomate, o que dificulta seu controle com herbicidas seletivos para solanáceas (SINTESE, 2016). Além de ocasionarem todos os problemas citados acima, algumas plantas daninhas podem se constituir em reservatórios virais, sendo necessário a eliminação total dessas plantas na lavoura e em áreas próximas, pois insetos vetores podem visitar essas plantas e levar os vírus para espécie de interesse agrônomo.

No Brasil estima-se que a perda produtiva devido a interferência de plantas daninhas seja em torno de 20 a 30%, podendo ser maior quando estas plantas atuam como fonte de inóculo, comprometendo indiretamente algumas culturas agrícolas (LORENZI, 1994).

Esquivel 2015 e Orfanidou et. al (2016), relataram em seus estudos, comprovando o potencial de plantas daninhas atuando como reservatórios virais

de ToCV, utilizando em ensaios de transmissão plantas daninhas como *Solanum nigrum*, *Sonchus oleraceus* e *Amaranthus retroflexus*, uma eficiência de transmissão de 22 a 68%.

Um exemplo típico e bem documentado da importância de plantas daninhas como reservatório viral são os begomovírus. São constantes os relatos da ocorrência de novas espécies de begomovírus em tomate e em plantas daninhas. Em análise de amostras coletadas em áreas de produção de tomate na região Sudeste do Brasil, Castillo-Urquiza et al. (2008) descrevem seis novas espécies de begomovírus, três em tomate e três em plantas daninhas. Esse trabalho demonstra o potencial de emergência de novas espécies virais tanto em tomate quanto em plantas daninhas. Outros estudos também apresentam a emergência de novas espécies de begomovírus nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste (SILVA et al., 2012; TAVARES et al., 2012; MACEDO et al., 2018; QUADROS et al., 2019; REGO-MACHADO et al., 2019; MACEDO et al., 2020). Esse caráter emergente e a associação com a presença de plantas daninhas não é restrito aos begomovírus, embora estudos relacionando espécies virais de outros grupos, plantas daninhas e o tomate sejam escassos.

Um exemplo típico de begomovirus que ocorre em plantas daninhas silvestres e são uma fonte de variabilidade é a *Sida rhombifolia*, constituindo um hospedeiro que funciona como reservatório natural no campo. Espécies como *Sida mottle virus* (SiMoV) e *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV), já foram relatadas infectando o tomateiro (CASTILLO-URQUIZA et al., 2007; COTRIN et al., 2007).

Espécies virais dos gêneros *Begomovirus*, *Orthotospovirus*, *Crinivirus*, *Polerovirus*, *Potyvirus* e *Tobamovirus* podem infectar diversas espécies como *N. physaloides*, *S. americanum*, *Datura stramonium* L. (figueira do inferno), *Amaranthus spp.* (caruru), *Bidens pilosa* L. (picão), *Portulaca oleracea* L. (beldroega), *Sonchus oleraceus* L.(serralha), *Emilia sonchifolia* DC. (bela-emília), *Chenopodium ambrosioides* L. (santa-maria) e *Brassica campestris* L.(mostarda), entre outras (LIMA; FILHO, 2015).

Arnaud et al. (2007) identificaram as plantas daninhas *Amaranthus spinosus*, *Amaranthus viridis*, *Ageratum conyzoides* e *B. pilosa* como hospedeiras naturais de begomovírus associado à cultura do tomate no Brasil.

É extremamente importante a identificação de espécies de vírus em plantas daninhas, pois sabendo qual é a espécie prevalente em determinadas espécies de plantas daninhas temos como recomendar medidas de controle específicas para evitar que novas doenças de etiologia viral apareçam e afetem a cultura de importância econômica.

**Figura 1** – Área de produção de tomate com plantas apresentando sintomas de infecção viral como subdesenvolvimento e amarelecimento. Plantas daninhas são observadas em meio a cultura do tomate. (Urubici, SC, 2020).



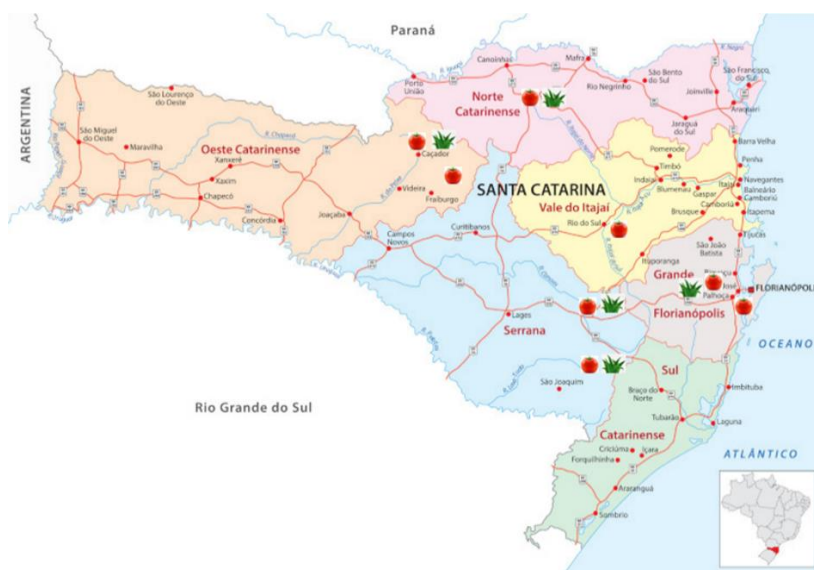
*Fonte: O próprio autor (2020).*



## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras sintomáticas de tomate e plantas daninhas associadas, em áreas de produção nos municípios de Bom Retiro, Caçador, Lebon Régis, Monte Castelo/Major Vieira, Palhoça, Rio do Sul, Santo Amaro da Imperatriz e Urubici (Figura 2). As amostras vegetais (tomate e plantas daninhas) foram colocadas em vasos devidamente identificados e levadas até o armazenamento em ultrafreezer para posterior processamento no laboratório de virologia vegetal da UDESC/CAV. O local de coleta das amostras de plantas foi georeferenciado com auxílio de um GPS, determinando o grupo ao qual pertencia as plantas de tomates coletadas e a espécie das plantas daninhas, além do local de produção das mudas (Tabelas 1 e 2).

**Figura 2** – Mapa do estado de Santa Catarina indicando locais de coletas de amostras de tomates e plantas daninhas. Neste mapa do estado de Santa Catarina está marcado com o desenho de um tomate os pontos de coletas de plantas sintomáticas de tomate nos municípios de Bom Retiro, Caçador, Lebon Régis, Monte Castelo/Major Vieira, Palhoça, Rio do Sul, Santo Amaro da Imperatriz e Urubici. Os pontos de coletas de plantas daninhas estão identificados no mapa com o desenho de uma planta na cor verde, sendo os municípios coletados: Caçador, Urubici, Bom Retiro, Santo Amaro da Imperatriz, Monte Castelo/Major Vieira. (Lages, SC, 2021).



Fonte: Adaptado de Prepara ENEM (2021).

**Tabela 1** – Informações referentes a coleta de plantas de tomate, incluindo o município de coleta, número da amostra, variedade, grupo, data de coleta, local de produção das mudas e posicionamento geográfico.(Lages, SC, 2021).

Local (Município)	Nº amostra	Variedade	Grupo	Data de coleta	Local da produção das mudas	Posicionamento geográfico
Rio do sul	13	Santa Clara	Longa vida	04/11/19	Rio do Sul/SC	S 27° 11'20.49'' W 49°39'20.84''
Rio do sul	7	Santa Clara	Longa vida	04/11/19	Rio do Sul/SC	S 27° 11'20.49'' W 49° 39'20.84''
Rio do sul	9	Anjico	Saladete	04/11/19	Rio do Sul/SC	S 27° 11'20.49'' W 49° 39'20.84''
Lebon Régis	11	Coronel	Longa vida	27/12/19	Piacatu/SP	S 26° 90'45.59'' W 50° 77'65.05''
Lebon Régis	6	Plutão	Saladete	27/12/19	Piacatu/SP	S 26° 90'45.59'' W 50° 77'65.05''
Lebon Régis	12	Plutão	Saladete	27/12/19	Piacatu/SP	S 26° 90'45.59'' W 50° 77'65.05''
Lebon Régis	10	Itaipava	Longa vida	27/12/19	Piacatu/SP	S 26° 88' 40.25'' W 50° 73'12.30''
Caçador	5	Tronus	Longa Vida	30/12/19	Caçador/SC	S 26° 68' 34.74'' W50° 98'61.44''
Caçador	15	Tronus	Longa Vida	30/12/19	Mogi Guaçu/SP	S 26° 68' 70.02'' W 50° 98'05.86''
Caçador	8	Tronus	Longa vida	30/12/19	Mogi Guaçu/SP	S 26° 68' 70.02'' W 50° 98'05.86''
Caçador	14	Plutão	Saladete	05/03/20	Piacatu/SP	S 26° 78' 52.27'' W 51° 08'09.70''
Caçador	16	Plutão	Saladete	05/03/20	Piacatu/SP	S 26° 78' 52.27'' W 51° 08'09.70''
	4	Paron	Longa Vida	12/03/20	Urubici/SC	S 27° 56' 22.60''

Urubici						W 49° 41' 49.50''
Urubici	21	Paron	Longa Vida	12/03/20	Urubici/SC	S 27° 56' 22.60'' W 49° 41' 49.50''
Bom Retiro	3	Paron	Longa Vida	12/03/20	Santo Amaro da Imperatriz/SC	S 27° 48' 95.30'' W 49° 35' 99.40''
Bom Retiro	2	Coronel	Longa Vida	12/03/20	Alfredo Wagner/SC	S 27° 48' 59.30'' W 49° 32' 02.00''
Bom Retiro	1	Coronel	Longa Vida	12/03/20	Alfredo Wagner/SC	S 27° 43' 63.00'' W 49° 44' 82.80''
Bom Retiro	17	Paron	Longa Vida	12/03/20	Alfredo Wagner/SC	S 27° 43' 63.00'' W 49° 44' 82.80''
Santo Amaro da Imperatriz	19	Valerin	Longa Vida	27/08/20	Santo Amaro da Imperatriz/SC	S 27° 69' 19.13'' W 48° 74' 45.89''
Santo Amaro da Imperatriz	20	HS	Saladete	27/08/20	Santo Amaro da Imperatriz/SC	S 27° 69' 17.73'' W 48° 74' 16.73''
Palhoça	18		Grappe	27/08/20	Palhoça/SC	S 27° 50' 27.50'' W 48° 35' 30.50''
Caçador	23	Coronel	Longa Vida	05/01/21	Piacatu/SP	S 26° 83' 35.13'' W 50° 96' 05.13''
Caçador	24	Coronel	Longa Vida	05/01/21	Piacatu/SP	S 26° 83' 35.13'' W 50° 96' 05.13''
Monte Castelo/ Major Vieira	22	Coronel	Longa Vida	06/01/21	Piacatu/SP	S 26° 50' 20.85'' W 50° 25' 83.62''

---

Produção: O próprio autor (2021)

**Tabela 2** - Tabela de coleta de plantas daninhas, município de coleta, número da amostra, data de coleta, nome científico da planta, nome comum da planta e posicionamento geográfico. (Lages, SC, 2021).

Local (município)	Nº da amostra	Data de coleta	Nome científico	Nome comum da planta	Posicionamento geográfico
Caçador	8	05/03/20	<i>Solanum americanum</i>	Maria pretinha	S 26° 78' 52.27'' W 51° 08' 09.70''
Caçador	5	05/03/20	<i>Amaranthus viridis</i>	Caruru	S 26° 78' 52.27'' W 51° 08' 09.70''
Caçador	6	05/03/20	<i>Bidens pilosa</i>	Picão preto	S 26° 78' 52.27'' W 51° 08' 09.70''
Urubici	1	12/03/20	<i>Solanum americanum</i>	Maria pretinha	S 27° 56' 22.60'' W 49° 41' 49.50''
Urubici	3	12/03/20	<i>Ipomea</i> sp.	Corda de viola	S 27° 56' 22.60'' W 49° 41' 49.50''
Bom Retiro	2	12/03/20	( <i>Solanum americanum</i> )	Maria pretinha	S 27° 48' 59.30'' W 49° 32' 02.00''
Bom Retiro	4	12/03/20	<i>Amaranthus viridis</i>	Caruru	S 27° 43' 63.00'' W 49° 44' 82.80''
Santo Amaro da Imperatriz	7	27/08/20	<i>Solanum americanum</i>	Maria pretinha	S 27° 69' 19.13'' W 48° 74' 45.89''
Santo Amaro da Imperatriz	9	27/08/20	<i>Solanum americanum</i>	Maria pretinha	S 27° 69' 17.73'' W 48° 74' 16.73''
Santo Amaro da Imperatriz	10	27/08/20	<i>Nicandra physalodes</i>	Joá de capote	S 27° 69' 17.73'' W 48° 74' 16.73''
Caçador	12	05/01/21	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteiro	S 26° 83' 35.13'' W 50° 96' 05.13''
Monte Catelo/Major Vieira	11	06/01/21	<i>Solanum americanum</i>	Maria pretinha	S 26° 50' 20.85'' W 50° 25' 83.62''

Fonte: O próprio autor (2020)

## **Caracterização das espécies virais**

### **Extração de RNA total**

Para detecção dos vírus com genoma de RNA, aproximadamente 100 mg de folhas de tomate e plantas daninhas foram homogeneizadas em nitrogênio líquido e submetidas à extração de RNA total utilizando o reagente TRi (Sigma Aldrich) de acordo com as especificações do fabricante.

A integridade e a quantidade dos ácidos nucleicos extraídos foram verificadas utilizando a técnica de eletroforese em gel de agarose 1% e quantificador de ácidos nucleicos Nanodrop 2000 (Thermo Fisher).

### **Síntese de DNA complementar (cDNA)**

Aos microtubos foram inicialmente adicionados 2 µg de RNA total, 0,1µM do oligonucleotideo reverso e água livre de RNase suficiente para completar o volume de 15µl. Os tubos foram incubados a 70°C por 5 min e a 2°C no gelo por 2 minutos. Após foi acrescentado em cada tubo 3µl de água livre de RNase, 5µl de tampão 5x MMLV, 1µl de dNTP's (10µM) e 1µl da enzima RT-MMLV (200u/µL) (Promega). Por fim, os tubos foram incubados a 42°C por 1h.

### **Reação em cadeia da polimerase (PCR)**

A PCR foi realizada utilizando a enzima GoTaq Flexi DNA polymerase (Promega) de acordo com as recomendações do fabricante para a detecção das espécies pertencentes aos gêneros *Polerovirus*, *Tobamovirus*, *Orthospovirus*, *Potyvirus* e *Crinivirus*, de acordo com as recomendações do fabricante. Para detecção das espécies virais pertencentes aos gêneros citados acima foram utilizados oligonucleotídeos universais descritos na tabela 3.

**Tabela 3** - Iniciadores universais e tamanho dos fragmentos obtidos para os diferentes gêneros testados em tomate e em plantas daninhas.

Oligonucleotídeos	Sequência (5'-3')	Fragmento esperado (pb)
<b><i>Crinivirus</i></b>		
CriniRdRp 251F	TNGGNAARGGNGARAG	744
CriniRdRp 995R	GTRTTNGAYAACCAHGTRTHG	
<b><i>Orthospovirus</i></b>		
BR60	CCCGGATCCTGCAGAGCAATTGTGTCA	453
BR65	ATCAAGCCTTCTGAAAGTCAT	
<b><i>Polerovirus</i></b>		
Pol-G-F	GAYTGCTCYGGYTTYGACTGGAG	1100
Pol-G-R	GATYTTATAYTCATGGTAGGCCTTGAG	
<b><i>Potyvirus</i></b>		
NIB2F	GTITGYGTIGAYGAYTTYAAYAA	350
NIB3R	TCIACIACIGTIGAIGGYTGNCC	
<b><i>Tobamovirus</i></b>		
TobamodF	TKGAYGGNGTBCCNGGNTGYGG	880
TobamodR	ACNGAVTBNABCTGTAATTGCTAT	

H = A+C+T, I=deoxyinosine, N=A+C+G+T, R= A+G, V= A+C+G, Y=C+T, K=G+T.

Fonte: ZHENG et al., 2009; EIRAS, et al., 2001; ROJAS et al., 1993; LI et al., 2018; Wintermantel & HLADKY 2010; KNIERIM et al., 2010.

As temperaturas de desnaturação, anelamento e extensão foram de acordo com KNIERIM et al., 2010 para *Polerovirus*, LI et al., 2018 para *Tobamovirus*, EIRAS et al., 2001 para *Orthospovirus*, ZHENG et al., 2009 para *Potyvirus* e WINTERMANTEL & HLADKY 2010 para *Crinivirus*.

De acordo com as amostras analisadas, foram testadas 24 amostras de plantas de tomate e 12 amostras de plantas daninhas para os 5 grupos de vírus (*Crinivirus*, *Orthospovirus*, *Polerovirus*, *Potyvirus* e *Tobamovirus*).

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (1,0%), corados com GelRed (Biotium), visualizados sobre luz UV e fotografados.

### **Análise de sequências e filogenia**

As sequências de nucleotídeos obtidas foram analisadas inicialmente com o programa Geneious v. 11 para geração das sequências consenso.

Posteriormente, as sequências consenso de cada amostra foram comparadas com o banco de dados utilizando as ferramentas Blast(n) e Blast(x). As árvores filogenéticas para análise de nucleotídeos e aminoácidos foram geradas utilizando o método de máximo verossimilhança com o modelo estatístico Tamura 3 parâmetros com 1000 repetições. Isolados dos vírus TCSV e TWSV foram utilizados para comparação; TSWV foi utilizado como *outgroup* nas análises filogenéticas. Os alinhamentos, a escolha do melhor modelo e as árvores filogenéticas foram obtidos utilizando-se o programa MEGA X (KUMAR et al., 2018).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as áreas de produção visitadas foram encontradas plantas de tomate e plantas daninhas com sintomas de infecção viral. Vale destacar também que durante o período de coleta não se observou a presença de *Bemisia tabaci* (mosca branca) nas lavouras de tomate visitadas no estado de Santa Catarina. Essa constatação resultou no direcionamento do levantamento e caracterização de vírus com genoma de RNA, excluindo os begomovírus das análises.

Os produtores visitados, em sua maioria, relataram a presença da doença conhecida como vira-cabeça do tomateiro como sendo a doença viral prevalente nas suas lavouras. Embora esse relato seja empírico, o conhecimento local deve ser levado em consideração na pesquisa científica e espécies virais do gênero *Orthospovirus* foram incluídas nas análises desse estudo. Outro aspecto preocupante observado, durante as visitas e coletas, foi que em alguns casos a incidência de sintomas relacionados a viroses chegou a 100% das plantas, obrigando os produtores a abandonar totalmente o seu cultivo.

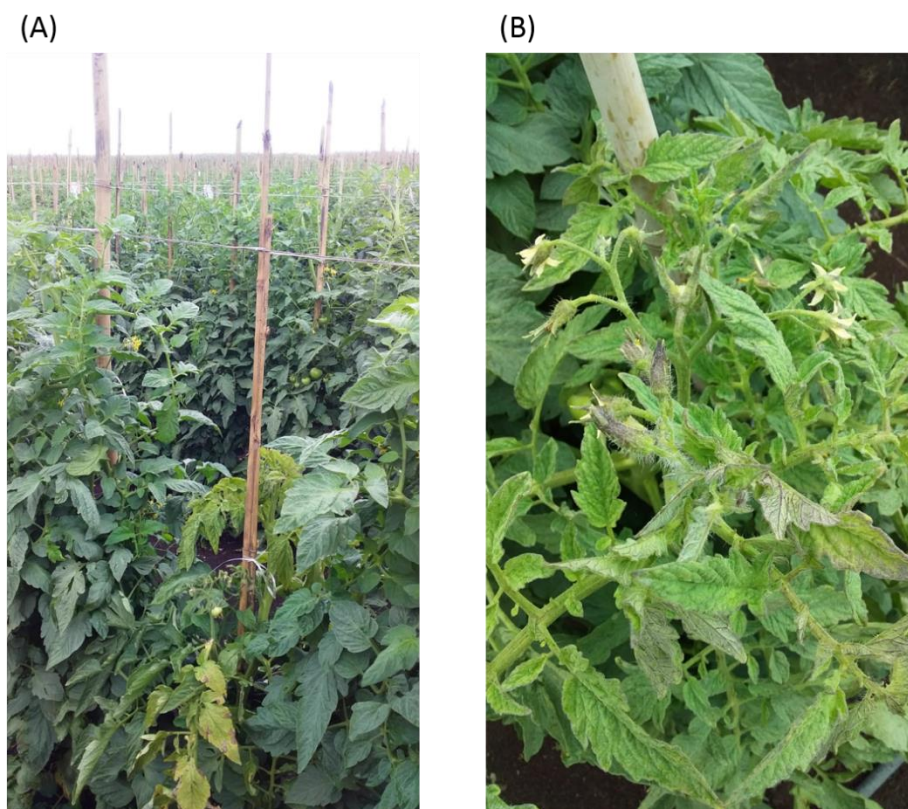
A cultura do tomate na microrregião de Joaçaba, que inclui os municípios de Caçador e Lebon Régis (locais onde foram coletadas o maior número de amostras) representam um dos maiores percentuais de produção no estado (SINTESE, 2016). Produtores dessa região relataram danos a produção de tomate na ordem de 30% na safra 2020/2021. Esse cenário é preocupante e instiga os pesquisadores a buscarem soluções para mitigar os danos causados por infecções virais na cultura do tomate. O primeiro ponto a ser explorado envolvendo o patossistema viroses e tomate no estado de Santa Catarina é a determinação das espécies virais prevalentes. Nesse sentido, o estudo realizado nesse trabalho fornece informações básicas no que diz respeito ao grupo e possível espécie viral prevalente nas áreas de produção de tomate no estado.

Nas coletas em áreas de produção foram observados sintomas como amarelecimento, folhas arroxeadas, bolhosidades, mosaico, nanismo e deformação foliar. Nas figuras apresentadas a seguir pode-se observar as plantas sintomáticas em diferentes estádios de desenvolvimento, sendo que a campo foram observados sintomas desde o início do desenvolvimento da cultura até a colheita. Na figura 3A pode-se observar a presença de uma planta típica



com sintomas de vira-cabeça em meio a uma lavoura visualmente sadia, com baixa incidência de plantas com sintomas de viroses. Também foram observadas plantas com sintomas de amarelecimento, mosaico, nanismo e nervuras arroxeadas (Figura 3B). Entre todas as visitas em áreas produtoras, esta lavoura onde foi coletada a amostra 22 verificou-se a menor incidência de plantas com sintomas de viroses.

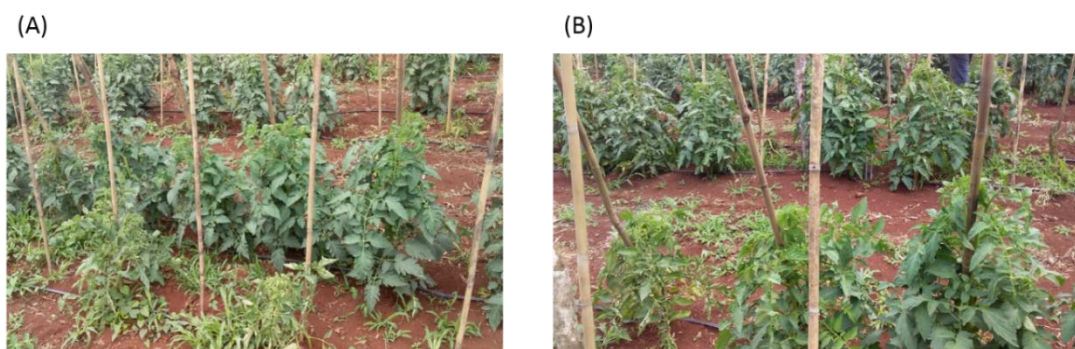
**Figura 3** – Planta de tomate sintomática em meio a lavoura (A), (Amostra nº 22). Presença de sintomas típicos de viroses, amarelecimento, mosaico, nanismo e folhas arroxeadas (B) (Monte Castelo/ Major Vieira, SC, 2021).



*Fonte: O próprio autor (2021).*

Na figura 4 observa-se o grande número de plantas com sintomas em estádios iniciais de desenvolvimento; além disso, é possível observar falhas na linha de cultivo, relacionadas ao arranquio de plantas sintomáticas pelos produtores. Esta prática foi adotada com o objetivo de eliminar parcialmente plantas doentes, mas sem sucesso, pois mais de 80% da lavoura apresentava sintomas de infecção viral. Nota-se também na figura 4 a presença de plantas daninhas em meio as plantas de tomate.

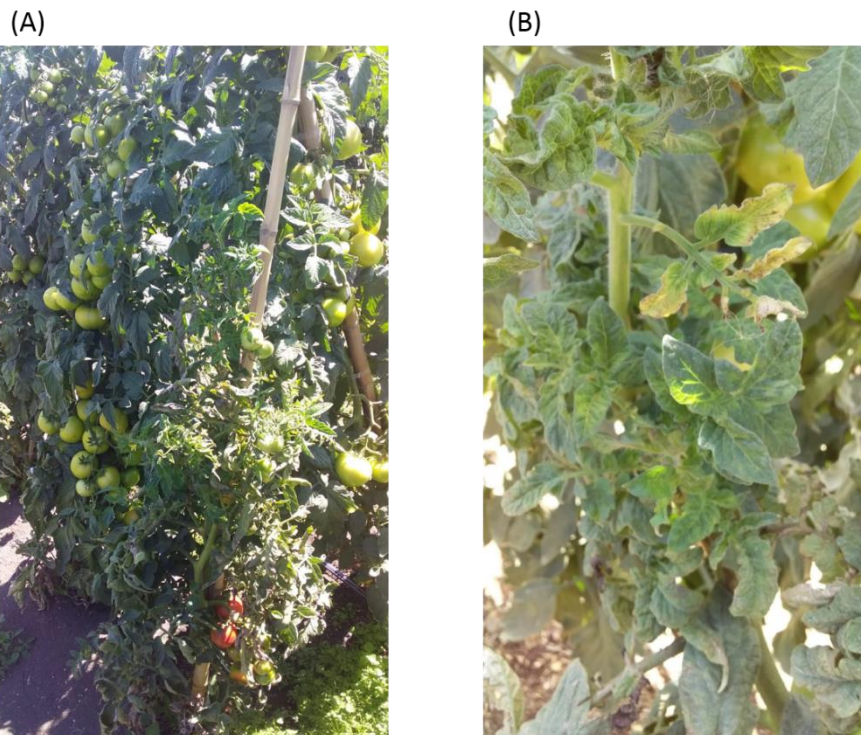
**Figura 4** – Plantas de tomates sintomáticas em lavoura com alta incidência de plantas com sintomas de infecção viral (A); diferença de tamanho entre plantas visualmente saudáveis e infectadas (B), (Amostra nº 24), (Caçador, SC, 2021).



*Fonte: O próprio autor (2021).*

Com relação a todas as amostras coletadas em diferentes estádios de desenvolvimento, observou-se que as doenças virais na cultura do tomate podem estar associadas as plantas em diferentes fases da cultura; como pode ser observado na figura 5, onde a lavoura estava em plena colheita e algumas plantas começaram a apresentar sintomas típicos de viroses, iniciando-se nos ponteiros (B) e passando posteriormente os sintomas para os frutos.

**Figura 5** – Plantas em plena colheita com sintomas de viroses (A), presença do ponteiro da planta com enrolamento das folhas, encarquilhamento e clareamento entre as nervuras (Amostra nº 2), (Bom Retiro, SC, 2020).



Fonte: O próprio autor (2020).

Dentre os fatores importantes ligados as doenças virais estão a transmissão pelos insetos vetores e a presença de hospedeiros alternativos nas lavouras e nas proximidades, tanto no período da safra quanto na entressafra. Ávila et al., (2004), em um trabalho realizado na região serrana do Espírito Santo, afirmam que surtos epidêmicos de uma determinada espécie viral podem ocorrer, como é o caso dos orthospovírus associados a plantas de tomate, que são frequentemente encontradas quando ocorrem verões muito quentes, que resultam na presença em altas densidades populacionais dos insetos vetores (nesse caso tripses). Durante a coleta de material vegetal em todas as áreas que foram visitadas, os produtores relataram a presença do inseto tripses, fator este que pode ser confirmado através da observação da presença do inseto dentro dos botões florais do tomateiro, presença essa ligada a infecções de espécies virais do gênero *Orthospovirus*.

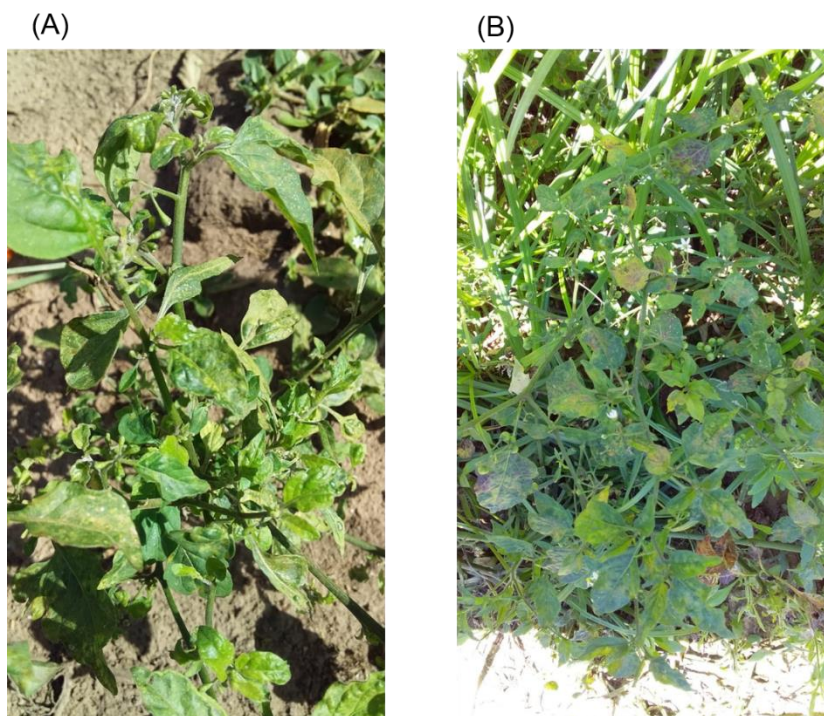
O controle químico do tripses é recomendado e deve ser realizado com rigor técnico, pois após constatados na lavoura, adultos e larvas podem se abrigar em determinadas estruturas vegetais onde os inseticidas não conseguem atingi-los. Vale destacar que as larvas uma vez infectivas (associadas ao vírus), permanecem virulíferas até o final da fase adulta, estágio em que se desloca a longas distâncias e transmite espécies de orthotospovírus para diversas plantas (PARELLA; LEWIS, 1997; HULL, 2002; RILEY; PAPPU, 2004). Em áreas com histórico de alta infestação de tripses e de alta incidência de orthotospovírus recomenda-se a aplicação de inseticidas nos primeiros dias após o transplante das mudas (SOUZA; REIS, 2003).

Em grande parte das propriedades que foram coletadas amostras a presença de plantas daninhas em meio a cultura era comum, sendo elas de diversos tamanhos e espécies, atuando como um poderoso reservatório viral para posterior infecção da cultura de interesse. Outra característica importante observada é a presença de diversas culturas na mesma propriedade, ocorrendo o abandono dessas áreas após as colheitas, resultando em um aumento expressivo no número de plantas daninhas presentes nas áreas.

As plantas daninhas estavam presentes em 100% das lavouras visitadas, sendo elas com maior ou menor intensidade dentro do cultivo de tomates. Em geral, a importância das plantas daninhas como reservatório viral é desconhecida pelos produtores, conforme constatado nas visitas e coletas de amostras. Algumas plantas daninhas como a maria-pretinha (*Solanum americanum*), estava presente em alta incidência nas lavouras, sendo essa espécie considerada hospedeira de diferentes espécies virais (WINTERMANTEL et al., 2006). Próximo as áreas de cultivo de tomate notaram-se a presença de diversas espécies de plantas daninhas com sintomas virais que foram coletadas para análise.

Na figura 6, pode-se observar a planta daninha maria-pretinha, com sintomas de viroses, notou-se em plantas daninhas sintomáticas a presença de sintomas como bolhosidades, amarelecimento, encarquilhamento e nanismo da planta. Geralmente, lavouras de tomate com maior quantidade de plantas apresentando sintomas de infecção viral estavam relacionadas com alta incidência dessa planta daninha, presentes tanto nas proximidades quanto dentro das áreas de cultivo.

**Figura 6** – Planta daninha maria-pretinha (*Solanum americanum*), com sintomas típicos de virose (A) e (B), (Amostra nº 1), (Urubici, SC, 2020).



Fonte: O próprio autor (2020).

Em algumas lavouras, plantas daninhas e plantas de tomate com sintomas de virose idênticos estavam lado a lado, como pode ser observado na figura 7, onde têm-se a planta daninha Caruru (*Amaranthus viridis*) com sintomas de amarelecimento ao lado de uma planta de tomate sintomática.

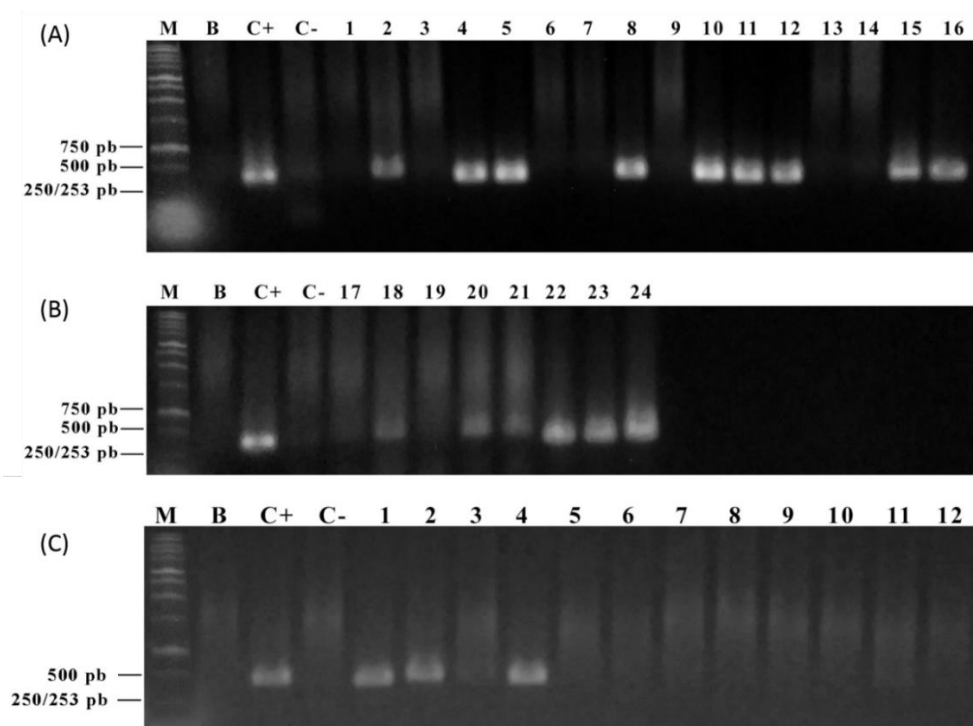
**Figura 7** – Planta daninha Caruru (*Amaranthus viridis*) ao lado de uma planta com sintomas típicos de viroses (A). Figura (B) é uma ampliação da planta daninha sintomática (Amostra nº4) (Bom Retiro, SC, 2020).



Fonte: O próprio autor (2020).

Após a constatação de sintomas de infecção viral tanto em tomate quanto em plantas daninhas em áreas de produção no estado de Santa Catarina, as amostras foram coletadas e utilizadas para as extrações de RNA total, síntese do DNA complementar (cDNA) e reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção dos vírus associados. Para avaliar a presença ou não do vírus após a PCR, utilizou-se o gel de agarose 1% para eletroforese, onde tiveram apenas ampliações quando se utilizou os iniciadores para o gênero *Orthospovirus*. As amostras de tomate de número 2, 4, 5, 8, 10, 11, 12, 15, 16, 18, 20, 21, 22, 23 e 24, conforme segue a figura 8 (A) e (B) apresentaram amplificação de banda com tamanho esperado (453 pb), referente a um fragmento do nucleocapsídeo e que representa 60% dessa região codificadora. Para as plantas daninhas (figura 8C), as amostras 1, 2 e 4 amplificaram.

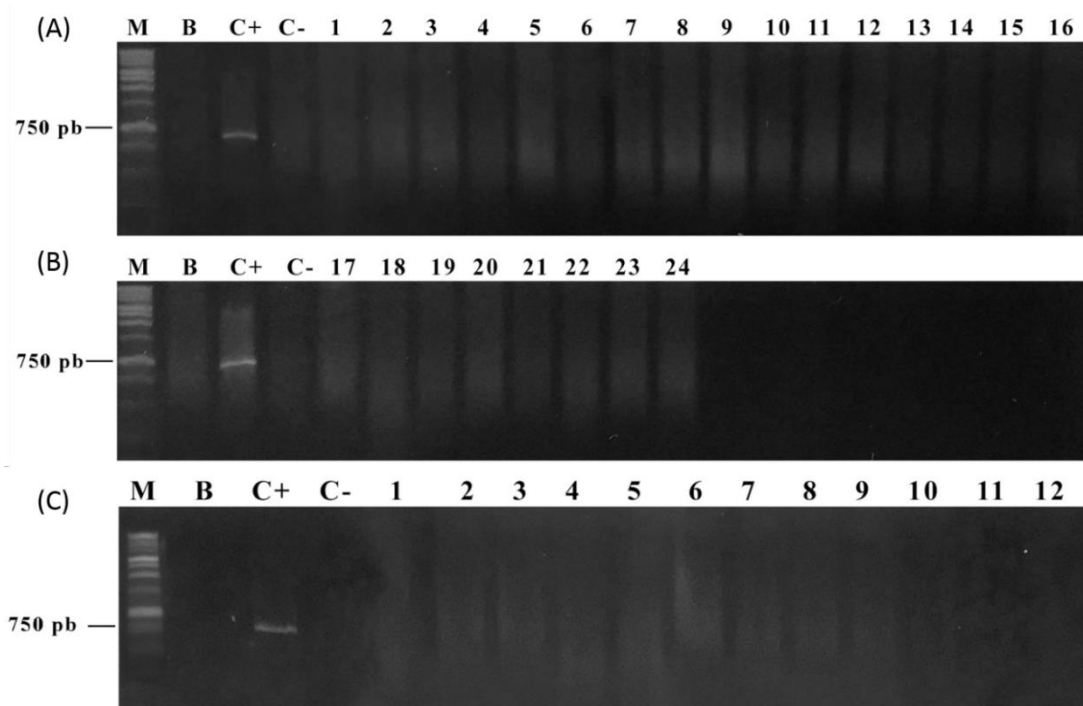
**Figura 8** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Orthospovirus*, utilizando os oligonucleotídeos BR60 e BR65. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).



Fonte: O próprio autor (2021).

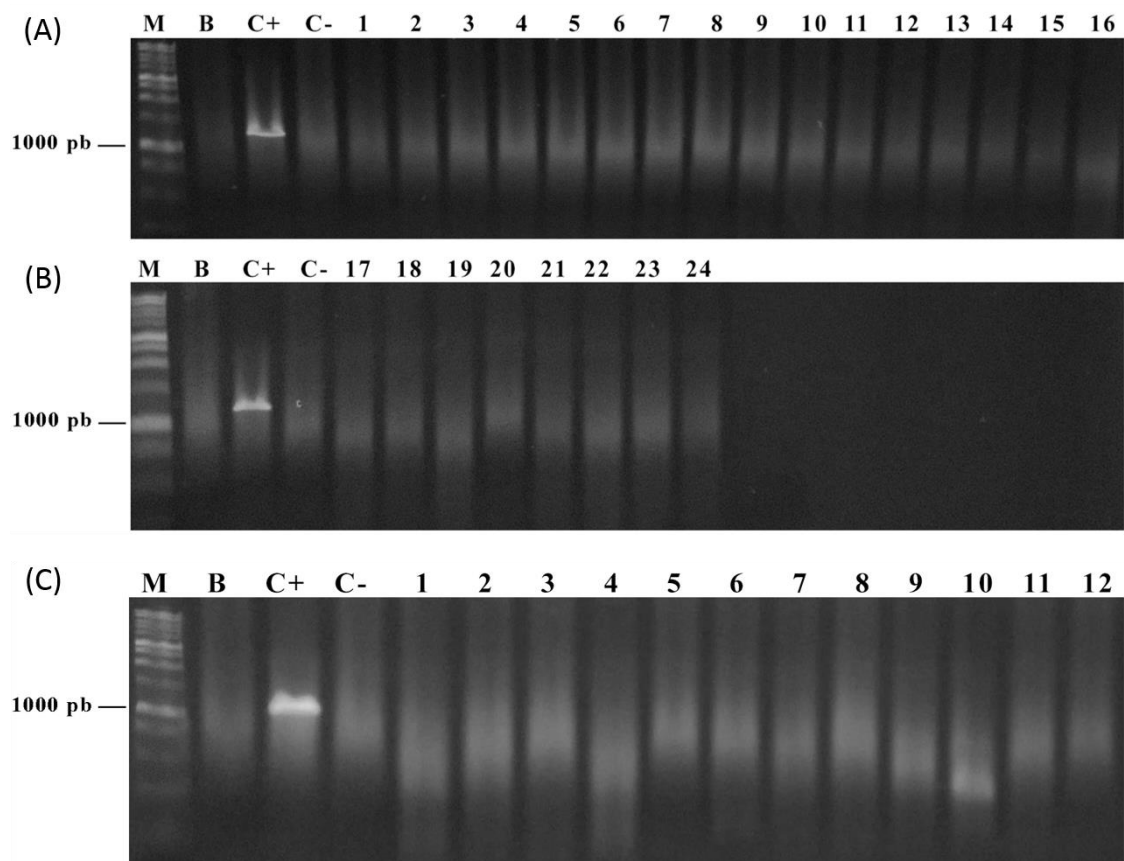
Para os demais gêneros (*Crinivirus*, *Polerovirus*, *Potyvirus* e *Tobamovirus*) não foram observadas amplificações para amostras de tomate e plantas daninhas de acordo com o tamanho dos fragmentos esperados, sendo eles, respectivamente, 744, 1100, 350 e 880 pares de bases (Figuras 9-12).

**Figura 9** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Crinivirus*, utilizando os oligonucleotídeos CriniRdRp 251F e CriniRdRp 995R. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).



Fonte: O próprio autor (2021).

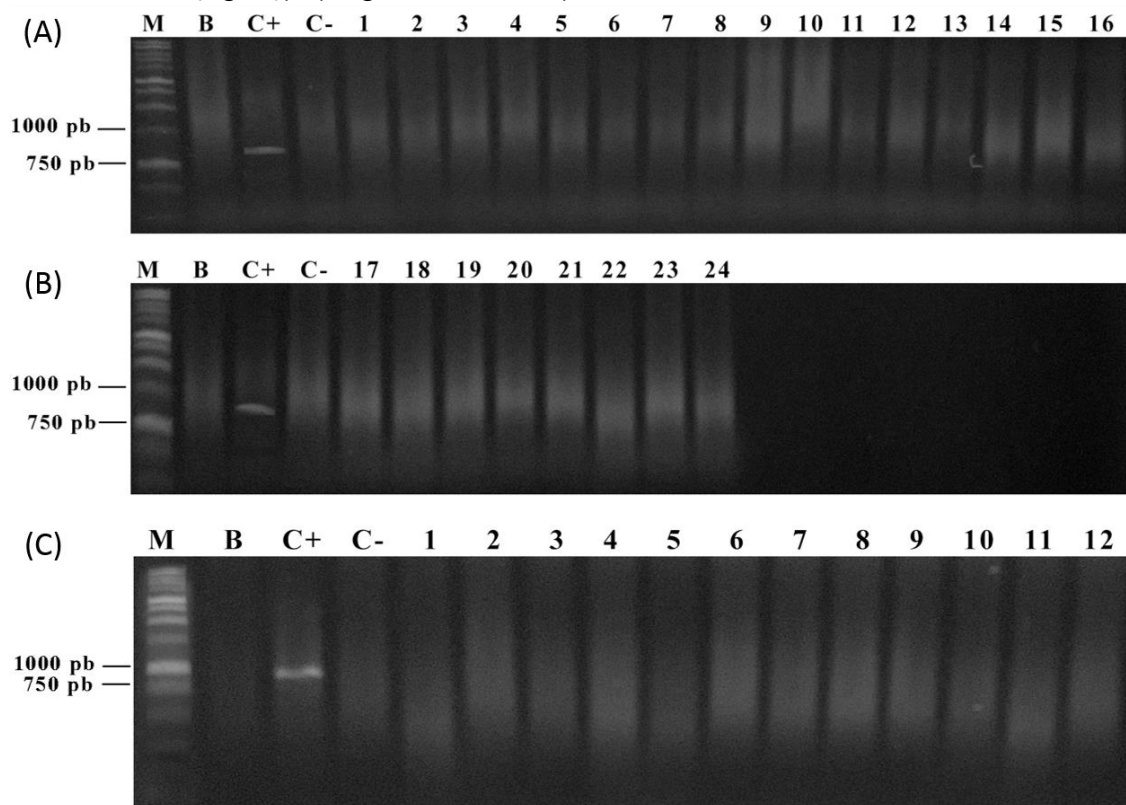
**Figura 10** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Polerovirus*, utilizando os oligonucleotídeos Pol-G-F e Pol-G-R. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).



Fonte: O próprio autor (2021).

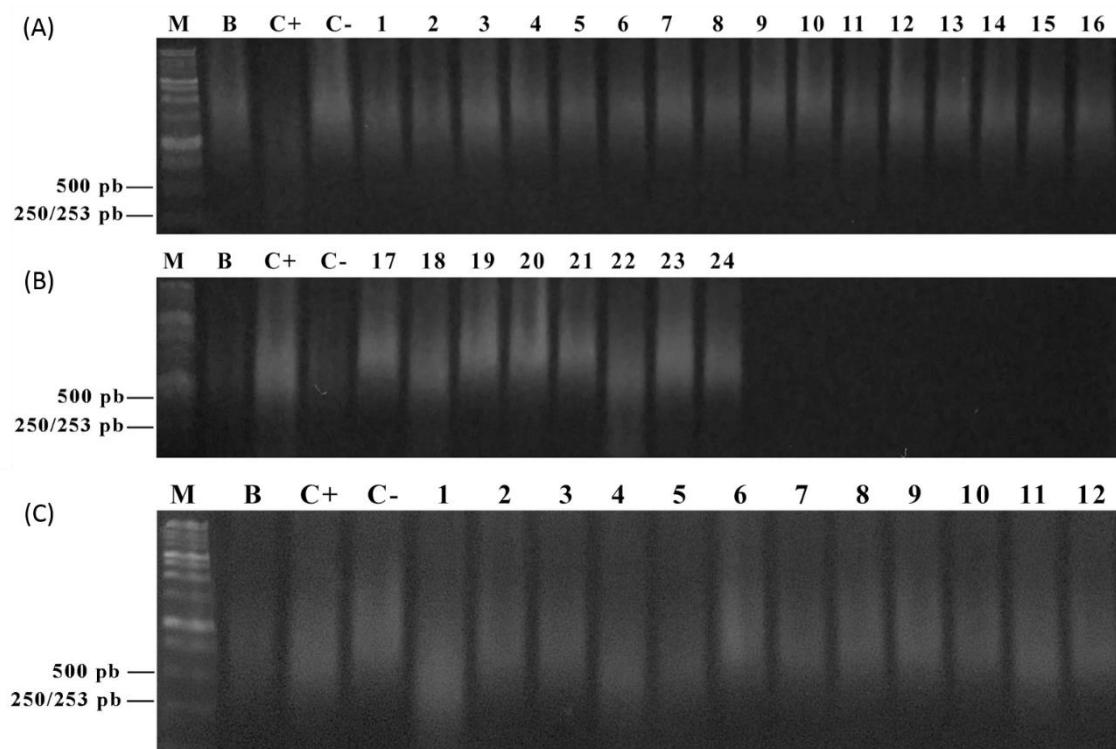


**Figura 11** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Tobamovirus*, utilizando os oligonucleotídeos TobamodF e Tobamo dR. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).



Fonte: O próprio autor (2021).

**Figura 12** – Eletroforese em gel de agarose (1,0%) dos produtos da PCR para a detecção de espécies do gênero *Potyvirus*, utilizando os oligonucleotídeos NIB2F e NIB2R. Geis (A) e (B) representam amostras de tomate 1-24 e gel (C) representa as plantas daninhas amostras de 1-12. M (Marcador molecular); B (Branco {água}); C+ (Controle positivo); C- (Controle negativo {água}). (Lages, SC, 2021).



Fonte: O próprio autor (2021).

Não foram observadas amplificações para o gênero *Potyvirus* em amostras de tomate e plantas daninhas, embora o controle utilizado também não tenha amplificado. Esse resultado é intrigante, uma vez que foi repetido inúmeras vezes, sempre com o mesmo resultado. Vale destacar que tanto o RNA quanto o cDNA obtido a partir da amostra controle positivo apresentavam qualidade adequada, sugerindo que a planta supostamente infectada por potyvírus na verdade não estava. Para confirmação da ausência de potyvírus nas amostras é fundamental a utilização de um controle positivo, sendo assim não se pode descartar a possibilidade de alguma (s) amostra (s) esteja (m) infectada (s) por espécies virais desse gênero.

Para caracterização do orthotospovírus associado as plantas de tomate e daninhas, os fragmentos amplificados na PCR foram purificados utilizando o

kit Gene Jet (Fermentas) de acordo com as recomendações do fabricante. Os fragmentos de DNA purificados foram enviados para sequenciamento (ACTGene Análises moleculares LTDA), utilizando os iniciadores correspondentes para cada fragmento amplificado, neste caso especificamente os iniciadores BR60 e BR65 (orthospovírus). As sequências consenso obtidas foram comparadas com sequências disponíveis no *GenBank* para determinação da identidade de nucleotídeos e análise filogenética foi realizada.

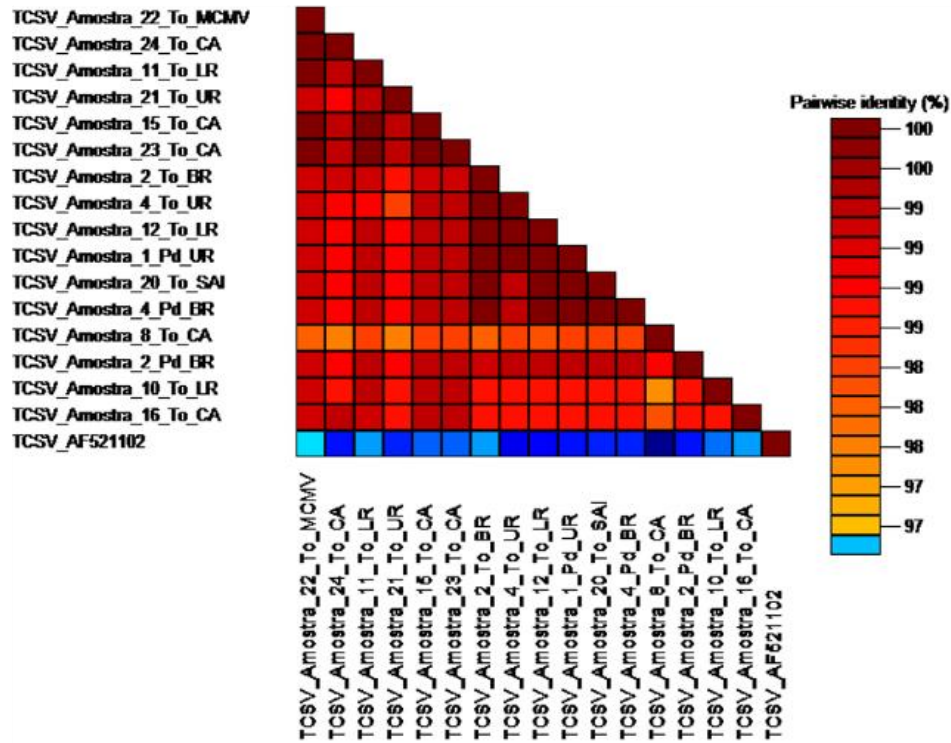
A porcentagem de identidade de nucleotídeos (nt) e aminoácidos (aa) foi gerada através do programa SDT. As sequências obtidas nesse estudo foram comparadas com um isolado de *tomato chlorotic spot virus* (TCSV, número de acesso\_AF521102), uma vez que foi o vírus que apresentou maior identidade. Para nt a porcentagem de identidade ficou acima de 97%. Na comparação dos aa a porcentagem de identidade variou de 97-100% (Figura 13).

O critério de demarcação de espécie do gênero *Orthospovirus* indica que a identidade de sequência de aminoácidos da proteína estrutural nucleocapsídio deve ser superior a 90% para ser considerado da mesma espécie (KORMELINK et al., 2021). Apesar da análise apresentada nesse trabalho utilizar um fragmento da proteína estrutural supracitada, sugere-se que os isolados caracterizados nesse estudo pertencem a espécie *Tomato chlorotic spot virus*. Para confirmação, é necessário amplificar e sequenciar toda a região que codifica o nucleocapsídeo.

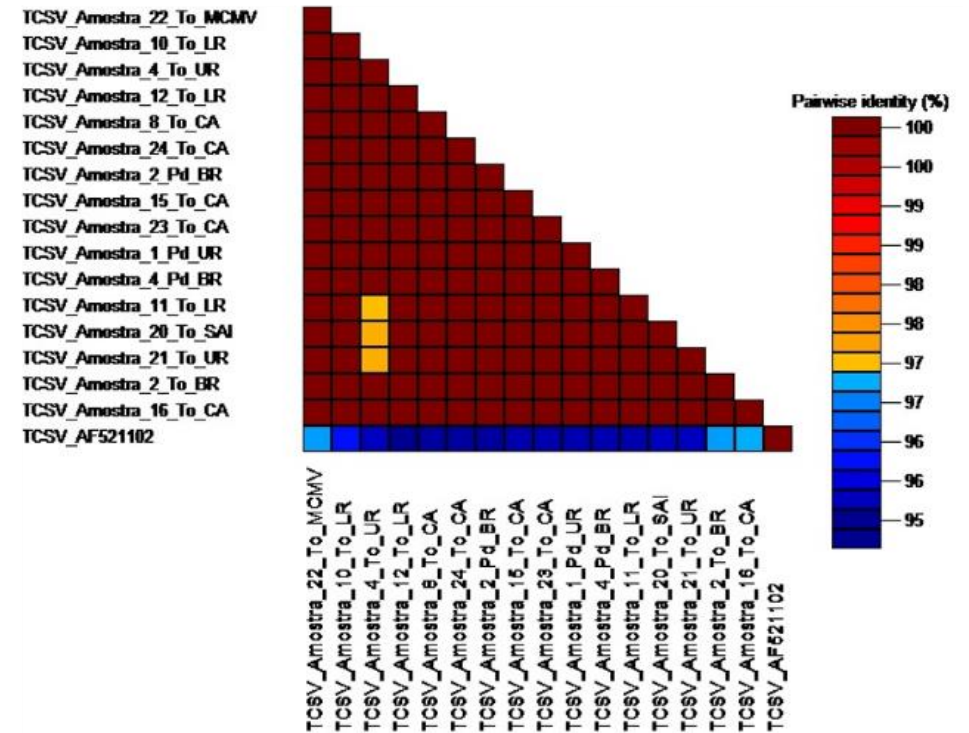
As análises filogenéticas suportam os dados da análise comparativa de identidade de nt e aa, sendo que os isolados virais caracterizados nesse estudo formam um único clado nas filogenias de nt e aa separados do TCSV isolado de alface (Figuras 14 e 15).

**Figura 13** – Identidade de nucleotídeos e aminoácidos para amostras de tomate e plantas daninhas comparadas com tomate chlorotic spot virus (TCSV) (Lages, SC, 2021).

(A)

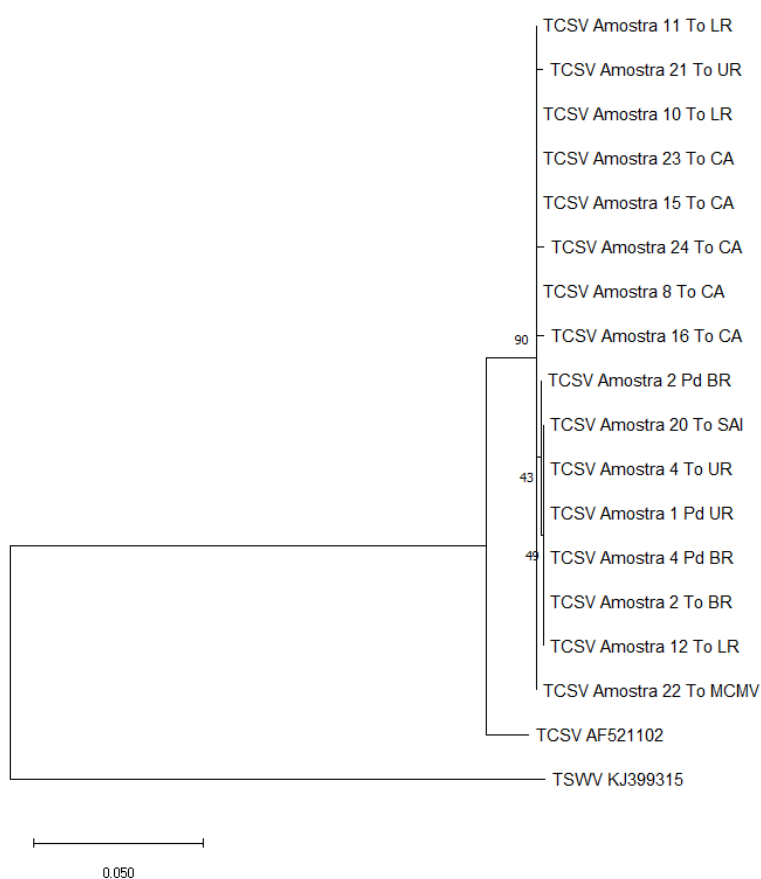


(B)



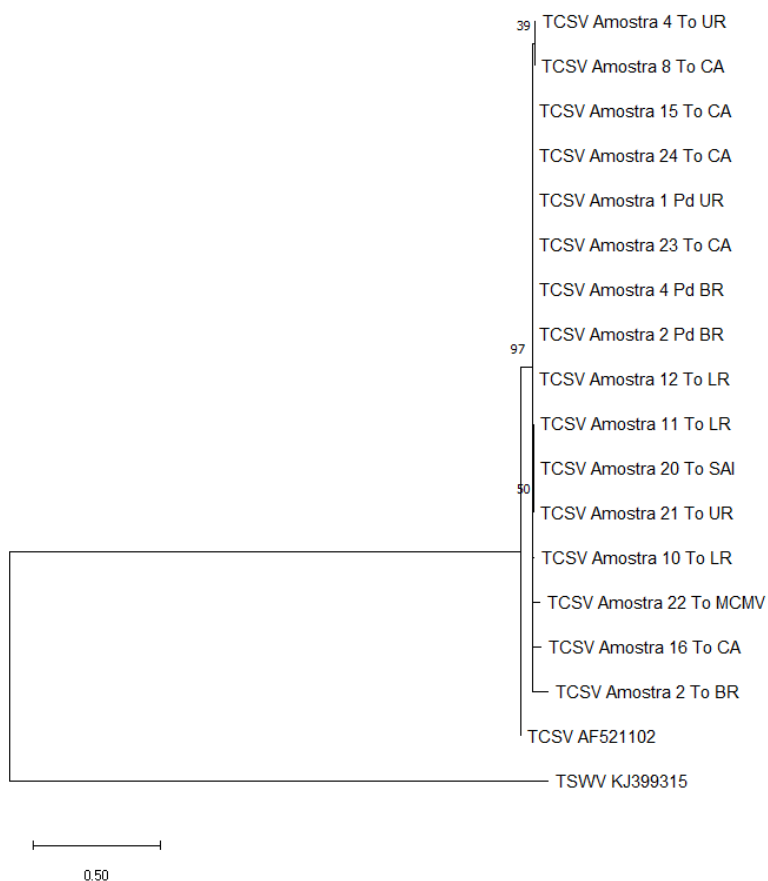
Fonte: O próprio autor (2021).

**Figura 14** – Árvore filogenética obtida a partir do alinhamento das sequências nucleotídicas de fragmentos de DNA amplificados com os iniciadores BR60 e BR65 a partir de amostras de tomate e plantas daninhas, obtidas através do programa Mega X. Foram utilizados tomato chlorotic spot virus (TCSV), e tomato spotted wilt virus (TSWV, *outgroup*) para análise comparativa. Número da amostra sendo (To) para tomate e (Pd) para plantas daninhas, bem como o município de coleta: (LR) Lebon Régis, (UR) Urubici, (CA) Caçador, (BR) Bom Retiro, (SAI) Santo Amaro da Imperatriz, (MCMV) Monte Castelo/Major Vieira. (Lages, SC, 2021).



Fonte: O próprio autor (2021).

**Figura 15** – Árvore filogenética obtida a partir do alinhamento das sequências de aminoácidos geradas a partir da sequência de nucleotídeos obtidas da amplificação de fragmentos de DNA utilizando os iniciadores BR60 e BR65 a partir de amostras de tomate e plantas daninhas, obtidas através do programa Mega X. Foram utilizados tomato chlorotic spot virus (TCSV), e tomato spotted wilt virus (TSWV, *outgroup*) para análise comparativa. Número da amostra sendo (To) para tomate e (Pd) para plantas daninhas, bem como o município de coleta: (LR) Lebon Régis, (UR) Urubici, (CA) Caçador, (BR) Bom Retiro, (SAI) Santo Amaro da Imperatriz, (MCMV) Monte Castelo/Major Vieira (Lages, SC, 2021).



Fonte: O próprio autor (2021).

Desde início dos anos 2000 já vem sendo relatada a prevalência de TCSV nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo (COLARICCIO et al., 2001).

Os tospovírus estão entre os agentes virais de maior importância para a agricultura mundial, provocando perdas em várias culturas, sobretudo em hortaliças (GOLDBACH & PETERS, 1994; SCHOLTHOF et al., 2011).

Em épocas mais quentes e secas do ano podem ocorrer surtos com maiores danos, devido a maior população de tripes. Em sementeiras as plântulas têm a produtividade totalmente comprometida sendo fontes de inóculo para outras plantas (LOPES & ÁVILA, 2005).

O controle das tospoviroses através do controle dos vetores é difícil, métodos físicos, químicos e biológicos não são muito eficientes para evitar a dispersão dessas doenças. Sendo assim, a resistência genética pode ser a principal ferramenta para controle das tospoviroses em hortaliças, assim como para a grande maioria dos vírus que infectam diversas culturas pelo mundo (ROSELLÓ et al., 1996).

Os resultados apresentados nesse estudo indicam a presença de infecções virais em praticamente todas as áreas avaliadas e sugerem que o vírus prevalente nas áreas de produção de tomate no estado de Santa Catarina é o TCSV. Além disso, foi demonstrado também a associação do mesmo vírus com plantas daninhas, suportando a ideia que essas plantas servem de reservatório viral e a partir do momento que são visitadas por insetos vetores (nesse caso tripes) podem contribuir para o surgimento de epidemias na cultura do tomate.

Análises adicionais são necessárias para verificar se as amostras sintomáticas coletadas que não foi detectado vírus, apresentam infecção por um potyvírus ou mesmo uma nova espécie viral.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que plantas de tomate no estado de Santa Catarina estão infectadas por orthospovírus, possivelmente a espécie *Tomato chlorotic spot virus*.

Plantas daninhas são um importante reservatório de espécies virais, apresentando sintomas típicos aos encontrados em plantas de tomates.

Lavouras de tomate com elevada infestação por plantas daninhas apresentam alta incidência de viroses.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho abordou sobre um levantamento de viroses em áreas de produção de tomate no estado de Santa Catarina, gerando dados para que produtores e técnicos encontrem alternativas para o controle de viroses em áreas produtoras no estado. A estratégia de conhecer a espécie viral prevalente em diferentes regiões produtoras é de extrema importância, pois como não existem plantas imunes aos vírus, outros métodos de manejo são essenciais.

No estado existem poucos estudos relacionados as infecções virais em tomate, sendo esse estudo o primeiro levantamento com abrangência em diversas áreas de produção no estado de Santa Catarina.

Estudos adicionais serão realizados para completar este trabalho, incluindo a coleta de mais amostras em diferentes anos e a caracterização de outras viroses não reportadas nesse estudo.

## REFERÊNCIAS

- ACOSTA, K.; ZAMORA, L.; PIÑOL, B.; FERNÁNDEZ, A.; CHÁVEZ, A.; FLORES, G.; MÉNDEZ, J.; SANTOS, M.E.; LEYVA, N.E.; AROCHA Y. **Identification and molecular characterization of phytoplasmas and rickettsia pathogens associated with 'Bunchy Top Symptom' (BTS) and 'Papaya Bunchy Top' (PBT) of papaya in Cuba.** Crop protection 45: 49-56. 2013.
- ALENCAR, J. A. de.; BLEICHER, E.; HAJI, F. N. P.; BARBOSA, F. R. **Pragas-tecnologia no manejo de controle.** In: TAVARES, S. C. C. de H. (ed.). Melão: fitossanidade. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p. 51-74. (Frutas do Brasil, 25).
- ARNAUD, L. S. E. P. et al. Predominância de begomovírus em tomateiros na região produtora da Ibiapaba, Ceará, e sua detecção natural em plantas daninhas. **Fitopatol. Bras.**, v. 32, n. 3, p. 241-246, 2007.
- ÁVILA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K.; COSTA, H.; BOITEUX, L.S.; NEVES, L.O.Q.; PRATES, R.S.; BERTINI, L.A. Ocorrência de viroses em tomate e pimentão na região serrana do estado do Espírito Santo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.655-658, jul-set 2004.
- AGRIOS, N.G. **Plant Pathology.** Academic Press. 2014.
- BARBOSA, L. F.; MARUBAYASHI, J. M.; DE MARCHI, B. R.; YUKI, V. A.; PAVAN, M. A.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; KRAUSE-SAKATE, R. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. **Pest Management Science**, v. 70, n. 10, p. 1440-1445. 2014
- BECKER, W.F.; WAMSER, A.F.; FELTRIM, A.L.; SUZUKI, A.; SANTOS, J.P.; VALMORBIDA, J.; HAHN, L.; MARCUZZO, L.L.; MUELLER, S. **Sistema de produção integrada para o tomate tutorado em Santa Catarina.** 1. ed. Florianópolis: Epagri, v.1, 2016.
- BOYKIN, L.M.; DE BARRO, P.J. **A practical guide to identifying members of the Bemisia tabaci species complex: and other morphologically identical species.** Frontiers in Ecology and Evolution 2: 45. 2014.
- BROW, J.K., FROHLICH, D.R.; ROSELL, R.C. The sweetpotato or silverleaf whittflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. **Annual Review of Entomology**, Palo alto, v.40, p. 511-534, 1995
- BYRNE, D. N.; BELLOWS JR, T. S. **Whitefly Biology.** Annual Review of Entomology, v. 36, n. 1, p. 431-457, 1991
- CAMARGO, F. P. DE; CAMARGO FILHO, W. P. **Produção de tomate de mesa no Brasil, 1990-2006: Contribuição da área e da produtividade.** Horticultura Brasileira, São Paulo, v. 26, n. 2, 2008.
- CASTILLO-URQUIZA, G.P., BESERRA JR., J.E.A., ALFENAS-ZERBINI, P., VARSANI, A., LIMA, A.T.M., BARROS, D. R. E ZERBINI, F.M. **Genetic diversity**

**of begomoviruses infecting tomato in Paty do Alferes**, Rio de Janeiro state, Brazil. *Virus Reviews and Research*, v.12, p.233.2007.

CASTILLO-URQUIZA, G.P., BESERRA JR., J.E.A., BRUCKNER, F.P., LIMA, A.T.M., VARSANI, A., ALFENAS-ZERBINI, P. E ZERBINI, F. M. **Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil**. *Archives of Virology*, *no prelo*. 2008.

COTRIN, M. A., KRAUSE-SAKATE, R., NARITA, N., ZERBINI, F, M. E PAVAN, M. A. Diversidade genética de begomovirus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. *Summa Phytopathologica*, v.33, p.300-303.2007.

CHEN, W., HASEGAWA, D. K., KAUR, N., KLIOT, A., PINHEIRO, P. V., LUAN, J., STENSMYR, M. C., ZHENG, Y., LIU, W., SUN, H., XU, Y., LUO, Y., KRUSE, A., YANG, X., KONTSEDALOV, S., LEBEDEV, G., FISHER, T. W., NELSON, D. R., HUNTER, W. B., BROWN, J. K., JANDER, G., CILIA, M., DOUGLAS, A. E., GHANIM, M., SIMMONS, A. M., WINTERMANTEL, W. M., LING, K.-S. & FEI, Z. (2016). **The draft genome of whitefly Bemisia tabaci MEAM1, a global crop pest, provides novel insights into virus transmission, host adaptation, and insecticide resistance**. *BMC Biology* 14, 110.

COLARICCIO, A.; EIRAS, M.; CHAVES, A. L. R.; ROGGERO, P.; CHAGAS, C. M. Diversidade de tospovírus em diferentes regiões produtoras de olerícolas do Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v. 27, n. 2, p. 177- 182, 2001.

DEGRANDE, P. E. **Guia prático de controle de pragas do algodoeiro**. Dourados: UFMS, 1998. 60 p.

DIETZGEN, R. G.; MANN, K. S.; JOHNSON, K.N. Plant Virus–Insect Vector Interactions: Current and Potential Future Research Directions. *Viruses* 303:1-21.

EIRAS, M.; RESENDE, R. O.; MISSIAGGIA, A.A.; DE ÁVILA, A.C. **RT-PCR and dot clob hybridization methods for a universal detection of tospoviruses**. *Fitopatologia Brasileira* 26: 170-175. 2001.

ESQUIVEL, F. A, **Identificação de hospedeiros alternativos do Tomato chlorosis virus**. 49 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2016. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 05.jun.21.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2018. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 05.jun.21.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2019. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acesso em: 05.jun.21.

FAJARDO, T. V.M., DE ÁVILA, A. C., RESENDE, R. O. Doenças causadas por vírus em tomate. In: ZAMBOLIN, L., VALE, F. X. R., COSTA, H. (eds.) **Controle de Doenças de Plantas – Hortaliças**. Viçosa, vol. 2, 2000. p.843-877

FELSENSTEIN J. **Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap**. *Evolution* 39:783-791, 1985.

FERERES, ALBERTO and RACCAH, Benjamin (April 2015) **Plant Virus Transmission by Insects**. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000760.pub3

FILGUEIRA, F. A. R. **Solanáceas: Agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela e jiló**. 1 a ed. Lavras: UFLA, 2003. ISBN: 8587692151.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002.

GILBERTSON, R.L.; BATUMAN, O.; WEBSTER, C.G.; ADKINS, S. **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. 2015.

GOLDBACH R, PETERS D. 1994. **Possible causes of the emergence of tospovirus diseases**. p. 113–120, In: *Seminars in Virology*. Academic Press, New York

GROVES, C.; GERMAN, T.; DASGUPTA, R.; MUELLER, D.; SMITH, D.L. **Seed Transmission of Soybean vein necrosis virus: The First Tospovirus Implicated in Seed Transmission**. *Plos One* 11: 1-14. 2016.

GUERRA, D.S.; NICKEL, O.; DEL PONTE, E.M.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; FAJARDO, T.V.M.; MARODIN, G. **Development of glomerella leaf spot is enhanced in virus-infected maxi gala apples**. *Journal of Plant Pathology* 94: 237-241. 2012.

HERNANDEZ, D. D. et al. Efeito da densidade e proporção de plantas de tomate industrial e de maria-pretinha em competição. **Planta Daninha** 20: 229-236, 2002.

HULL, R. *Matthew's plant virology*. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2002. 1001 p.

IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, 2019. IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, 2020.

ICTV. **International Committee on taxonomy of viruses**. *Virus Taxonomy*: 2016 Release.

INCAPER. **Tomate**. 1a ed. Vitória: INCAPER, 2010. ISBN 978-85-89724-17-3.

INOUE-NAGATA, A., FONSECA, M., RESENDE, R. et al. **Pepper yellow mosaic virus**, um novo potyvirus em sweetpepper, *Capsicum annuum*. Arco. Virol. **147**, 849–855 (2002).

INOUE-NAGATA, A.K.; ÁVILA, A.C.; LOPES, C.A. Doenças viróticas. In: LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. (Org.). **Doenças do tomateiro**. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2005. v. 1, p. 77-94.

INOUE-NAGATA, A.K.; LOPES, C.A.; REIS, A.; PEREIRA, R.B.; QUEZADO-DUVAL, A.M.; PINHEIRO, J.B.; LIMA, M.F. Doenças do tomateiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Org.). **Manual de Fitopatologia**. 5 ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, , v. 2, 2016.

JESUS JUNIOR, W.C.; PAULA JÚNIOR, T.J.; LEHNER, M.S.; HAU, B. **Interactions between foliar diseases: concepts and epidemiological approaches**. Tropical Plant Pathology 39: 1-18. 2014.

KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J.; CARSTENS, E.B.; LEFKOWITZ, E.J. **Virus Taxonomy: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. 9th Ed. San Diego CA, USA. Elsevier Academic Press. 2012.

KORMELINK, R.; VERCHOT, J.; TAO, X.; DESBIEZ, C. **The Bunyavirales: The Plant-Infecting Counterparts**. Viruses **2021**, *13*, 842. <https://doi.org/10.3390/v13050842>

KNIERIM, D.; DENG, T.C.; TSAI, W.S.; GREEN, S. K.; KENYON, L. **Molecular identification of three distinct Polerovirus species and a recombinant Cucurbit aphid-borne yellows virus strain infecting cucurbit crops in Taiwan**. Plant Pathology 59: 991-1002. 2010.

KUMAR S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). **MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms**. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549, 2018..

LEBEDENCO, A. **Eficiência de métodos de controle de pragas do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) na região de Presidente Prudente-SP**. Dissertação de mestrado, UNOESTE, Presidente Prudente, 2006.

LIMA, M. F., FILHO, M. M., **Vira-cabeça do Tomateiro: Sintomas, Epidemiologia, Transmissão e Medidas de Manejo** – EMBRAPA. Brasília, DF 2015.

LIMA, A.C.S.; LARA, F.M.; SANTOS, E. J. M. **Morfologia de mosca-branca, Bemisia tabaci biótipo “B” (Hemiptera: Aleyrodidae), encontrada em Jaboticabal, SP, com base em eletronicografias de varredura**. Boletim Sanidad Vegetal Plagas, Rioja, v.27, p. 315-322, 2001.

LI, Y.; TAN, G.; LAN, P.; ZHANG, A.; LIU, Y.; LI, R.; LI, F. **Detection of tobamoviruses by RT-PCR using a novel pair of degenerate primers**. Journal of Virological Methods 259: 122-128. 2018.

LIU, L.Y.; HE-YI YE, H.Y.; CHEN, T.H.; CHEN, T.C. **Development of a microarray for simultaneous detection and differentiation of different tospoviruses that are serologically related to *Tomato spotted wilt virus***. *Virology Journal* 14: 1-10. 2017.

LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. **Doenças do tomateiro**. 2. ed. Brasília: Embrapa, v. 1, 2005.

LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de Bemisia tabaci no Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n. 1, p. 53-59, 1994

LORENZI, H. Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional (1994) Nova Odessa: Plantarum, 336p.

MACEDO, M.A.; ALBUQUERQUE, L.C.; MALIANO, M.R.; SOUZA, J.O.; ROJAS, M.R.; INOUE-NAGATA, A.K.; GILBERTSON, R.L. Characterization of tomato leaf curl purple vein virus, a new monopartite New World begomovirus infecting tomato in Northeast Brazil. **Archives of Virology** 163: 737-743, 2018.

MACEDO, M.A.; RÊGO-MACHADO, C.M.; MALIANO, M.L.; ROJAS, M.R.; INOUE-NAGATA, A. K.; GILBERTSON, R.L. Complete sequence of a new bipartite begomovirus infecting Sida sp. in Northeastern Brazil. **Archives of Virology** 165: 253-256, 2020.

MATTHEWS, R.E.F. **Plant Virology**. Academic Press, Inc. San Diego. 3<sup>rd</sup> ed. 1991.

MORAES, L.A.; MULLER, C.; BUENO, R.C.O.F.; SANTOS, A.; BELLO, V.H.; DE MARCHI, B.R.; WATANABE, L.F.M.; MARUBAYASHI, J.M.; SANTOS, B.R.; YUKI, V.A.; TAKADA, H.M.; BARROS, D.R.; NEVES, C.G.; SILVA, F.N.; GONÇALVES, M.J.; GHANIM, M.; BOYKIN, L.; PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R. Distribution and phylogenetics of whiteflies and their endosymbiont relationships after the Mediterranean species invasion in Brazil. **Scientific Reports** 8: 1-13, 2018.

MOURA, A.P.; MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J.A. et al. **Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular Técnica 129, 2014.

MONTEIRO, R. C; MOUND, L. A. Thysanoptera. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. (Ed.). **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, 2012. p. 407-422.

MORENO, A.; TJALLINGII, W. F.; FERNANDEZ-MATA, G.; FERERES, A. 2019. **Communication Differences in the mechanism of inoculation between a semi-persistent and a non-persistent aphid-transmitted plant virus**. *Journal of General Virology*, 2012: 662–667. doi: 10.1099/vir.0.037887-0

MUELLER, S.; WAMSER, A.F.; BECKER, W.F. et al. **Indicações técnicas para tomateiro tutorado na Região do Alto Vale do Rio do Peixe**. Florianópolis: Epagri Sistemas de Produção, 2008.

ONU (Organização das Nações Unidas). **World Population Prospects**. United Nations Department of Economic and Social Affairs/Population Division World Population Prospects: The 2017 Revision, Key Findings and Advance Tables. Nova York, 2016.

ORFANIDOU, C. G.; PAPPIS, P. G.; EFTHIMIOU, K. E.; KATIS, N. I.; MALIOGKA, V. I. *Transmission of Tomato chlorosis virus (ToCV) by Bemisia tabaci biotype Q and evaluation of four weed species as viral sources*. **Plant Disease**, v. 100, n. 10, p. 2043-2049, 2016

PARELLA, M. P.; LEWIS, T. **Integrated pest management (IPM) in field crops**. In: Lewis T. (Ed.). *Thrips as crop pests*. New York: CAB International, 1997. p. 595-614.

PAVAN, M.A., SAKATE, R.K., MOURA, M.F., and BRAGA, R.S. *Viroses*. In: BRANDÃO FILHO, J.U.T., FREITAS, P.S.L., BERIAN, L.O.S., and GOTO, R., comps. **Hortaliças-fruto** [online]. Maringá: EDUEM, 2018, pp. 241-269. ISBN: 978-65-86383-01-0. <https://doi.org/10.7476/9786586383010.0009>.

POLSTON, J.E.; DE BARRO, P.; BOYKIN, L.M. **Transmission specificities of plant viruses with the newly identified species of the Bemisia tabaci species complex**. *Pest Management Science* 70: 1547-1552. 2014.

PROHENS, J.; NUEZ, F. **Vegetables II: Fabaceae, Liliaceae, Solanaceae, and Umbelliferae. 1 st ed. Valencia: Springer**, 2008. ISBN: 978-0-387-74108-6, 978-0-387-74110-9.

QUADROS, A.F.F.; SILVA, J.P.; XAVIER, C.A.D.; ZERBINI, F.M.; BOARI, A.J. *Two new begomoviruses infecting tomato and Hibiscus sp. in the Amazon region of Brazil*. **Archives of Virology** 164: 1897-1901, 2019.

REGO-MACHADO, C.M.; NAKASU, E.Y.T.; BLAWID, R.; NAGATA, T.; INOUE-NAGATA, A.K. *Complete genome sequence of a new bipartite begomovirus infecting tomato in Brazil*. **Archives of Virology** 164: 2873-2875, 2019.

RIBEIRO, S.G.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; FERNANDES, J.J.; FARIA, J.C.; LIMA, M.F.; GILBERTSON, R.L.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZERBINI, F.M. *Widespread occurrence of tomato geminiviruses in Brazil, associated with the new biotype of the whitefly vector*. **Plant Disease** 82: 830-831, 1998.

RILEY, D.; JOSEPH, S.V.; SRINIVASAN, R.; DIFFIE, S. **Thrips vectors of tospoviruses**. **Journal of Integrated Pest Management**, v.1, n. 2, 2011.

RILEY, D. G.; PAPPU, H. R. *Tactics for management of thrips (Thysanoptera: Thripidae) and tomato spotted wilt tospovirus in tomato*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 5, p. 1648-1658, Sept. 2004.

ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSELL, D.R.; MAXWELL, D.P. **Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses**. *Plant Disease*, 1993.

ROSELLÓ S, DÍEZ MJ, NUEZ F. 1996. **Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop.** I. The Tomato spotted wilt virus—a review. *Scientia Horticulturae* 67: 117–150.

ROSEN, R., KANAKALA, S., KLIOT, A., CATHRIN PAKKIANATHAN, B., FARICH, B. A., SANTANA-MAGAL, N., ELIMELECH, M., KONTSEDALOV, S., LEBEDEV, G., CILIA, M. & GHANIM, M. (2015). **Persistent, circulative transmission of begomoviruses by whitefly vectors.** *Current Opinion in Virology* 15, 1-8.

SANTOS, J.P. Principais pragas e seu controle. In: BECKER, W.F.; WAMSER, A.F.; FELTRIM, A.L.; SUZUKI, A.; SANTOS, J.P.; VALMORBIDA, J.; HAHN, L.; MARCUZZO, L.L.; MUELLER, S.; **Sistema de produção integrada para o tomate tutorado em Santa Catarina.** Florianópolis, SC: Epagri, 2016.

SILVA, S.J.C.; CASTILLO-URQUIZA, G.P.; HORA JUNIOR, B.T.; ASSUNÇÃO, I.P.; LIMA, G.S.A.; PIO-RIBEIRO, G.; MIZUBUTI, E.S.G.; ZERBINI, F.M. Species diversity, phylogeny and genetic variability of begomovirus populations infecting leguminous weeds in northeastern Brazil. *Plant Pathology* 61: 457-467, 2012.

**Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2013-2014.** Florianópolis: Epagri/Cepa, 2014.

**Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2015-2016.** Florianópolis: Epagri/Cepa, 2016. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2017-2018.** Florianópolis: Epagri/Cepa, 2018. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2019-2020.** Florianópolis: Epagri/Cepa, 2020. SILVA, R. A.; DONISETI, M.; JORDÃO, A. L. **Levantamento preliminar de pulgões no estado do Amapá.** Amapá: Embrapa Amapá, 2004. 11 p. (Circular Técnica, 32).

SOUZA, J. C.; REIS, P. R. **Principais pragas do tomate de mesa: bioecologia, dano e controle.** Informe Agropecuário, v. 24, 2003.

SCHOLTHOF, KBG, ADKINS S, CZOSNEK H, PALUKAITIS P, JACQUOT E, HOHN T, SAUNDERS K, CANDRESSE T, AHLQUIST P, HEMENWAY C, FOSTER GD. 2011. **Top 10 plant viruses in molecular plant pathology.** *Molecular Plant Pathology* 12: 938–954.

STANSLY, P. A.; NARANJO, S. E. Introduction. In: STANSLY, P. A.; NARANJO, S. E. (Eds.). **Bemisia: Bionomics and management of a global pest.** New York: Springer, 2010. p. 1–5.

TAMURA K. **Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases.** *Molecular Biology and Evolution.* 1992.

TAVARES, S.S.; RAMOS-SOBRINHO, R.; GONZALEZ-AGUILERA, J.; ASSUNÇÃO, I.P.; LIMA, G.S.A.; ZERBINI, F.M. Further molecular characterization of weed-associated begomoviruses in Brazil, with emphasis on *Sida* spp. *Planta Daninha* 30: 305-315, 2012.



TORMEN, N.R.; DA SILVA, F.D.L.; DEBORTOLI, M.P. et al. **Deposição de gotas no dossel e controle químico de Phakopsora pachyrhizi na soja. Revista Brasileira de Engenharia e Ambiental.** Campina Grande, v 16, n.7. p.802-808, 2012.

WINTERMANTEL, W.M. & WISLER, G.C. 2006. **Vector specificity, host range and genetic diversity of Tomato chlorosis virus.** Plant Disease. 90:814-819.

WINTERMANTEL, W.M.; HLADYK, L.L. **Method for detection and differentiation of existing and new crinivirus species through multiplex and degenerate primer RT-PCR.** Journal of Virological Methods 170: 106-114. 2010.

ZAMBOLIM, L.; JESUS JUNIOR, W.C.; PEREIRA, O.L. **O Essencial da fitopatologia.** Viçosa, MG: UFV, DFP, 2012.

ZERBINI, F. M.; CARVALHO, M. G.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. **Introdução à Virologia Vegetal.** Viçosa, MG: Editora UFV, 145 p. (Cadernos Didáticos), 2002.

ZHENG, L.; RODONI, B.C.; GIBBS, M.J.; GIBBS, A. J. **A novel pair of universal primers for the detection of potyviruses.** Plant Pathology 59: 211-220, 2009.