



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

DORIAN YEST MELO SILVA

**Caracterização do tomato severe deformation virus, um novo
begomovírus em tomateiro causando sintoma severo de
deformação foliar**

BRASÍLIA – DF

2024

DORIAN YEST MELO SILVA

**Caracterização do tomato severe deformation virus, um novo
begomovírus em tomateiro causando sintoma severo de
deformação foliar**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia
da Universidade de Brasília, para obtenção do
título de Mestre em Fitopatologia.**

**Orientadora: Prof. Dra. Alice Kazuko Inoue
Nagata**

BRASÍLIA – DF

2024

Esta dissertação intitulada “Caracterização do tomate severe deformation virus, um novo begomovírus em tomateiro causando sintoma severo de deformação foliar” foi apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade de Brasília como requisito para obtenção do grau de Mestre em Fitopatologia e avaliado pela banca examinadora abaixo assinada.

A transcrição ou utilização de qualquer trecho deste trabalho é permitida, desde que seja feito de acordo com as normas de ética científica.

Dissertação avaliada em: 05 de agosto de 2024

Banca Examinadora

Dra. Alice Kazuko Inoue-Nagata (Presidente) Embrapa Hortaliças

Dra. Mônica Alves de Macedo – Instituto Federal de Brasília (IFB)

Dra. Simone da Graça Ribeiro –
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Cenargen

Dr. Maurício Rossato (suplente) Universidade de Brasília (UnB)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

*Primeiramente, a **Deus** por me dar um sopro de vida e realizar meus sonhos, segundo à minha orientadora **Alice Kazuko Inoue-Nagata**, pela orientação essencial ao longo do projeto e por sua genuína paciência e dedicação em todos os momentos.*

*À minha amiga **Wandressa**, pelo apoio inestimável nos experimentos, sempre pronta a colaborar e incentivar.*

*Aos meus amigos **Ivair, Jonas, Roberta, Yanca, e Ana Lis**, que me ajudaram nas questões de escrita, desenvolvimento e ofereceram suas valiosas opiniões sobre o trabalho.*

*À minha mãe, **Luciene**, por sempre estar ao meu lado, oferecendo remédios e palavras de incentivo que foram cruciais para superar os desafios.*

*Ao meu noivo, **Jhony de Araújo Santana**, por sua paciência e amor durante toda a reta final do mestrado, sendo meu apoio constante e fonte de força.*

*Aos meus colegas de laboratório, em especial ao **Erich**, por sua ajuda nas transformações dos clones infecciosos e clones para sequenciamento, e por sua colaboração e amizade.*

A todos vocês, meu mais sincero obrigado. Sem o apoio e a contribuição de cada um, este trabalho não teria sido possível.

Caracterização do tomato severe deformation virus, um novo begomovírus em tomateiro causando sintoma severo de deformação foliar

RESUMO:

Lavouras de tomateiro são frequentemente afetadas por doenças causadas por begomovírus, que podem causar sérios impactos na produção da cultura no Brasil. Os begomovírus apresentam alta diversidade genômica, evidenciada pelos inúmeros variantes já relatados. Uma amostra de tomateiro apresentando sintomas de clorose, forte deformação foliar e enrolamento do ápice foi encontrada em Cristalina, Goiás. A amostra foi coletada, a presença do vírus confirmada e o DNA genômico clonado, sendo identificado como um novo begomovírus. A sequência do genoma completo foi determinada e confirmada por sequenciamento Sanger, com o tamanho de 2.639 nucleotídeos para o DNA-A e 2.598 nucleotídeos para o DNA-B. Os dois segmentos do genoma foram comparados com as sequências de outros begomovírus mais próximos, revelando uma máxima identidade de 86,24% do DNA-A desse begomovírus com o tomate interveinal chlorosis virus 2 (ToICV2; acesso MK087038) e do DNA-B de 86,47% com o segmento B desse mesmo vírus (MK087039). Isso confirmou que o isolado pertence a uma potencial nova espécie, por apresentar uma identidade de nucleotídeos do DNA-A menor que 91%, segundo o critério taxonômico para distinção de espécies no gênero *Begomovirus*. A organização genômica do vírus é típica de um begomovírus bipartido do Novo Mundo. Em uma análise filogenética, o DNA-A do potencial novo begomovírus agrupou-se com o ToICV2 e o DNA-B com ToICV2, conforme esperado. Clones infecciosos do DNA-A e DNA-B foram gerados por Gibson Assembly e a capacidade de infecção foi avaliada via agroinoculação. Três cultivares de tomateiro foram inoculadas e 88 foram infectadas de um total de 101 plantas de tomateiro,

distribuídas entre as cultivares Santa Clara (29/33), BRS Sena (25/32) e Compact (34/36). Os sintomas observados nas plantas infectadas foram similares aos observados em campo, incluindo clorose, forte deformação foliar e enrolamento do ápice, demonstrando a associação do vírus com a doença e concluindo os Postulados de Koch. Os resultados comprovam a presença de um novo begomovírus, cujo nome proposto é tomato severe deformation virus (TSDV) com o nome binomial *Begomovirus solanumacutadeformationis*. O TSDV foi encontrado em uma região onde já foi detectada a ocorrência dos begomovírus tomato mottle leaf curl virus, tomato severe rugose virus e tomato interveinal chlorosis virus-2 em tomateiro, evidenciando uma rica diversidade de espécies de begomovírus na região.

Palavras-chave: TSDV; Geminivírus; *Solanum lycopersicum*; Taxonomia; Diversidade viral.

Characterization of tomato severe deformation virus, a new begomovirus in tomato causing severe leaf deformation symptoms

ABSTRACT:

Tomato crops are frequently affected by diseases caused by begomoviruses, which can have serious impacts on crop production in Brazil. Begomoviruses exhibit high genomic diversity, as evidenced by the numerous variants already reported. A tomato plant sample displaying symptoms of chlorosis, severe leaf deformation, and apical leaf curling was observed in Cristalina, Goiás. The sample was collected, the presence of the virus confirmed, and the genomic DNA cloned, being identified as a new begomovirus. The complete genome sequence was determined and confirmed by Sanger sequencing, with a size of 2,639 nucleotides for DNA-A and 2,598 nucleotides for DNA-B. The two genome segments were compared with the sequences of closely related begomoviruses, revealing a maximum identity of 86.24% for the DNA-A of this begomovirus with the tomato interveinal chlorosis virus 2 (ToICV2; accession MK087038) and 86.47% for the DNA-B segment with that of the same virus (MK087039). This confirmed that the isolate belongs to a potential new species, as it exhibits less than 91% nucleotide identity in the DNA-A, according to the taxonomic criteria for species distinction within the genus *Begomovirus*. The genomic organization of the virus is typical of a New World bipartite begomovirus. In a phylogenetic analysis, the DNA-A of the potential new begomovirus clustered with ToICV2, and the DNA-B also grouped with ToICV2, as expected. Infectious clones of DNA-A and DNA-B were generated by Gibson Assembly, and the infection capacity was assessed via agroinoculation. Three tomato cultivars were inoculated, and 88 out of a total of 101 tomato plants were infected, distributed among the cultivars Santa Clara (29/33), BRS Sena (25/32), and Compack (34/36). The

symptoms observed in the infected plants were similar to those observed in the field, including chlorosis, severe leaf deformation, and apical leaf curling, demonstrating the association between the virus with the disease and concluding the Koch's Postulates. The findings confirm the presence of a new begomovirus, for which the proposed name is Tomato severe deformation virus (TSDV) with the binomial name *Begomovirus solanumacutadeformationis*. TSDV was found in a region where the occurrence of the begomoviruses *Tomato mottle leaf curl virus*, *Tomato severe rugose virus*, and *Tomato interveinal chlorosis virus-2* has already been detected in tomatoes, highlighting a rich diversity of begomovirus species in the region.

Keywords: TSDV; Geminivirus; *Solanum lycopersicum*; Taxonomy; Viral diversity.

Sumário

RESUMO:	5
ABSTRACT:	7
INTRODUÇÃO GERAL	14
REVISÃO DE LITERATURA	17
O tomate	17
Patologias do Tomateiro no Brasil	19
Família <i>Geminiviridae</i>	21
Gênero <i>Begomovirus</i>	25
Satélites	27
Crítérios Taxonômicos	29
Detecção viral	31
Transmissão de begomovírus por <i>Bemisia tabaci</i>	32
Transmissão alternativa	35
Begomoviroses no mundo	35
Begomoviroses no Brasil	36
Begomoviroses em tomateiro	39
JUSTIFICATIVA	42
HIPÓTESES	43
OBJETIVO GERAL	43
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
MATERIAL E MÉTODOS	44
1. Coleta do material e testes moleculares	44
2. Sequenciamento e construção dos clones infecciosos	46
3. Análises Filogenéticas	50
4. Agroinoculação dos clones de #23067	51
RESULTADOS	53
1. Identificação do begomovírus	53
2. Inoculação dos clones infecciosos	68
DISCUSSÃO	72
CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS:	97
Anexo 1	98
Anexo 2	107
Anexo 3	108
Anexo 4	111

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Mapa mundial destacando os países produtores de tomate (em vermelho) e indicando o ranking global dos principais produtores;

FIGURA 2: Esquema ilustrando os 14 gêneros da família *Geminiviridae*, apresentando sua organização genômica com descrição das ORFs (Open Reading Frames) e componentes genômicos;

FIGURA 3: Esquema representando a organização genômica de membros do gênero *Begomovirus*, detalhando suas Open Reading Frames (ORFs) e componentes genômicos;

FIGURA 4: Imagem de uma planta de tomateiro da cultivar H1301, exibindo sintomas característicos de infecção por begomovírus: clorose, forte deformação foliar e enrolamento do ápice da planta, capturada em campo no município de Cristalina, Goiás;

FIGURA 5: Esquema da Construção do Clone Infeccioso utilizando a técnica de Gibson Assembly;

FIGURA 6: Esquema da Construção do Clone Infeccioso utilizando a técnica de Gibson Assembly para o clone infeccioso do componente B;

FIGURA 7: Perfil obtido a partir da digestão do produto do RCA da amostra 23067 com a enzima de restrição *MspI*;

FIGURA 8: Eletroforese em gel de agarose a 1% mostrando o perfil obtido a partir da digestão do DNA plasmidial das clonagens do #23067 com a enzima de restrição *ApaI*;

FIGURA 9: Eletroforese em gel de agarose a 1% mostrando o perfil obtido a partir da digestão do DNA plasmidial das clonagens do genoma viral de #23067 com enzimas HindIII (A) e KpnI (B).

FIGURA 10: Alinhamento das sequências dos clones monoméricos 23067_7 e do clone dimérico 23067_2A no ClustalW.

FIGURA 11: Representação esquemática das ORFs dos segmentos A e B do begomovírus 23067;

FIGURA 12: Alinhamento dos componentes A e B da amostra 23067. Os asteriscos indicam a identidade nucleotídica da região comum entre as duas sequências;

FIGURA 13: Alinhamento das sequências próximas ao #23067, demonstrando as sequências de íterons e TATA BOX;

FIGURA 14: Gráficos de Análises de Bayesian Information Criterion (BIC) para os componentes A e B do isolado 23067;

FIGURA 15: Árvore filogenética enraizada no midpoint do 23067A e dos begomovírus mais próximos, gerada pelo método de máxima verossimilhança (10.000 réplicas), utilizando o software IQ-TREE (Nguyen et al., 2015) com os modelos Akaike Information Criterion. Os valores de bootstrap estão incluídos na legenda;

FIGURA 16: Árvore filogenética enraizada no midpoint do 23067B e dos begomovírus mais próximos, gerada pelo método de máxima verossimilhança (10.000 réplicas), utilizando o software IQ-TREE (Nguyen et al., 2015) com os modelos Akaike Information Criterion. Os valores de bootstrap estão incluídos na legenda;

FIGURA 17: Tomateiro das cultivares Compack e BRS Sena agroinfiltrados com os clones infecciosos de tomato severe deformation virus (2A e 16B), 28 dias pós

inoculação, apresentando sintomas típicos da infecção por begomovírus, como clorose de nervura e leve deformação foliar;

FIGURA 18: Tomateiros das cultivares Compack e BRS Sena agroinfiltrados com os clones infecciosos de tomato severe deformation virus (2A e 16B), apresentando sintomas típicos da infecção, como clorose e forte deformação foliar;

FIGURA 19: Plantas de tomateiro das cultivares BRS Sena e Santa clara infectadas com os clones infecciosos de tomato severe deformation virus (2A e 16B).

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Lista de primers projetados para a detecção do vírus, a construção de clones infecciosos.

TABELA 2: Porcentagem de identidade nucleotídica e de aminoácidos das ORFs AV1 (CP), AC1 (REP), AC2 (TrAP), AC3 (REn) e AC4 do isolado 23067 com as espécies de begomovírus mais próximas ao componente A do vírus.

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: Registro de todas as espécies pertencentes ao gênero *Begomovirus*, fornecendo dados sobre a nova nomenclatura binomial, nome do vírus, país de caracterização, acesso no GenBank® e acrônimo associado.

ANEXO 2: Compilação de todos os begomovírus que afetam o tomateiro no Brasil, fornecendo detalhes sobre o nome do vírus, acesso ao GenBank®, acrônimo correspondente e referência do relato.

ANEXO 3: Representação da árvore filogenética enraizada no midpoint do 23067A e 23067B junto com as sequências dos begomovírus mais próximos, gerada pelo método de Máxima Verossimilhança (10.000 réplicas), utilizando o software IQ-TREE (Nguyen et al. 2015) com o modelo Akaike Information Criterion.

ANEXO 4: Sequência completa de nucleotídeos dos componentes A e B, correspondentes aos clones 23067_2A e 23067_5.

INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma das culturas de hortaliças mais difundidas globalmente (FAO, 2019) e no Brasil o fruto é amplamente comercializado e consumido, gerando grande renda aos produtores (Boteon et al. 2020). No entanto, o tomateiro é uma das plantas mais vulneráveis a uma variedade de pragas e doenças tanto no contexto brasileiro quanto internacional. O tomateiro é afetado por diversos patógenos, incluindo fungos, oomicetos, bactérias, nematoides e vírus (Lopes 2021).

As viroses são atualmente uma das principais preocupações para os produtores de tomate, especialmente aquelas causadas por membros da família *Geminiviridae*, que inclui 723 espécies descritas em quatorze gêneros (<https://ictv.global/report/chapter/geminiviridae/geminiviridae> consultado 24/06/2024). Esses vírus, com genoma de DNA circular de fita simples (2,5 a 5,2 kb) e encapsidados em partículas geminadas icosaédricas (Zhang et al. 2001), podem infectar uma ampla gama de plantas. O gênero *Begomovirus*, o maior dessa família, possui espécies com um ou dois componentes genômicos distintos, DNA-A e DNA-B (Brown et al. 2015). Os begomovírus são transmitidos pelas moscas-brancas *Bemisia tabaci* e podem infectar o tomateiro causando sintomas diversos, incluindo entre outros clorose internerval, rugosidade, distorção foliar e mosaico (Inoue-Nagata et al. 2016).

No Brasil, até a década de 1990, os begomovírus apresentavam baixa incidência nas lavouras de tomate (Ribeiro et al. 1998). No entanto, surtos de begomovirose começaram a causar prejuízos econômicos com a entrada e dispersão da espécie *B. tabaci* MEAM1 (Ribeiro et al. 1998). A alta polifagia e adaptabilidade de MEAM1 à cultura do tomateiro, associadas às altas taxas de variabilidade genética dos begomovírus,

resultaram em um aumento acentuado no número de espécies infectando tomateiros (Libardi Miraldo et al. 2021; Fernandes et al. 2024). Atualmente, pelo menos 29 espécies de begomovírus já foram relatadas infectando tomateiro no Brasil e o número continua crescendo (Flores et al. 1960; Faria et al. 1997; Jovel et al. 2004; Fernandes et al. 2006, 2008; Andrade et al. 2006; Ribeiro et al. 2007; Cotrim et al. 2007; Castillo-Urquiza et al. 2008; Tavares et al. 2012; Barreto et al. 2013; Adams et al. 2017; Macedo et al. 2018; Quadros et al. 2019; Mituti et al. 2019; Rego-Machado et al. 2019; Duarte et al. 2021; National Center for Biotechnology Information, 2024). A alta incidência dos vírus, sua alta taxa de mutações e recombinações e as densas populações de moscas-brancas dificultam o controle e favorecem o surgimento de novas variantes, causando mais prejuízos para a safra de tomate (Padidam et al. 1999; Seal et al. 2006).

Levantamentos que monitoram as espécies de begomovírus presentes nos campos de produção são essenciais para identificar precocemente novas espécies e fornecer informações para o desenvolvimento de medidas de controle eficientes. A classificação taxonômica de novas espécies de begomovírus segue critérios estabelecidos pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) (Fiallo-Olivé et al. 2021), incluindo a presença do componente genômico DNA-B, a organização do genoma, gama de hospedeiros, transmissão por vetores e a identidade da sequência nucleotídica (Brown et al. 2015). Outros aspectos considerados incluem análise filogenética, capacidade de trans-replicação e produção de pseudorecombinantes, essenciais para uma classificação precisa dos begomovírus (Padidam et al. 1999; Seal et al. 2006; Lima et al. 2017; Fiallo-Olivé et al. 2021).

Durante uma visita a uma lavoura de tomateiro no município de Cristalina – GO, foi encontrado um tomateiro com sintomas semelhantes à infecção por begomovírus, como clorose de nervuras, clorose foliar, redução da área foliar e nanismo, incluindo uma

deformação foliar severa. Análises laboratoriais dessa amostra revelaram a presença de uma nova espécie de begomovírus infectando tomateiro no Centro-Oeste brasileiro. Portanto, este trabalho teve como objetivo caracterizar essa nova espécie de begomovírus infectando tomateiro no Centro-Oeste brasileiro.

REVISÃO DE LITERATURA

O tomate

O tomateiro é uma das plantas hortaliças mais amplamente cultivadas em todo o território brasileiro, desempenhando um papel de grande relevância na agricultura nacional. Acredita-se que o tomateiro é originário da região andina, abrangendo países como Equador, Peru e Colômbia (Warnock 1991). Embora as variedades ancestrais do tomateiro sejam originárias do oeste da América do Sul, sua domesticação em grande escala ocorreu no México (Rick 1974) e, atualmente, está distribuído por todos os continentes do mundo. Pertencente à família das Solanáceas (Brandão Filho et al. 2018), o tomateiro possui folhas compostas com presença de tricomas – um mecanismo de defesa contra pragas – e hastes flexíveis (Gilardón et al. 2001).

O tomateiro, planta de crescimento arbustivo e rasteiro, pode ser cultivado de duas maneiras distintas. No cultivo rasteiro (plantas de crescimento determinado), voltado principalmente para a produção industrial, a condução das plantas não é necessária. Já no cultivo conduzido (plantas de crescimento indeterminado), direcionado ao consumo *in natura*, as plantas são mantidas eretas com o uso de estacas ou fitilhos, com colheitas periódicas, valorizando a qualidade e o frescor dos frutos.

A China é o líder em produção de tomate, estimada em 67.538.340 milhões de toneladas, enquanto o Brasil ocupa a nona colocação no ranking mundial de produção com 3.679.160 milhões de toneladas no ano de 2021 (FAO 2022) (Figura 1). Os principais estados produtores de tomate no Brasil são Goiás, São Paulo, Minas Gerais e Bahia (IBGE 2021)

Os produtores mundiais de tomate têm enfrentado desafios significativos durante o ciclo de cultivo desta hortaliça. O tomateiro destaca-se como uma das mais suscetíveis aos ataques de pragas e doenças. Um exemplo disso é o relato de Rashid e colaboradores que em 2016 calculou uma perda entre 70% e 95% nas lavouras de tomateiro na Malásia, ocasionada por doenças fúngicas e bacterianas, respectivamente (Rashid et al. 2016). No Brasil, o tomateiro pode ser atacado por diversos agentes patogênicos, levando a perdas significativas em lavouras (Lopes 2021).

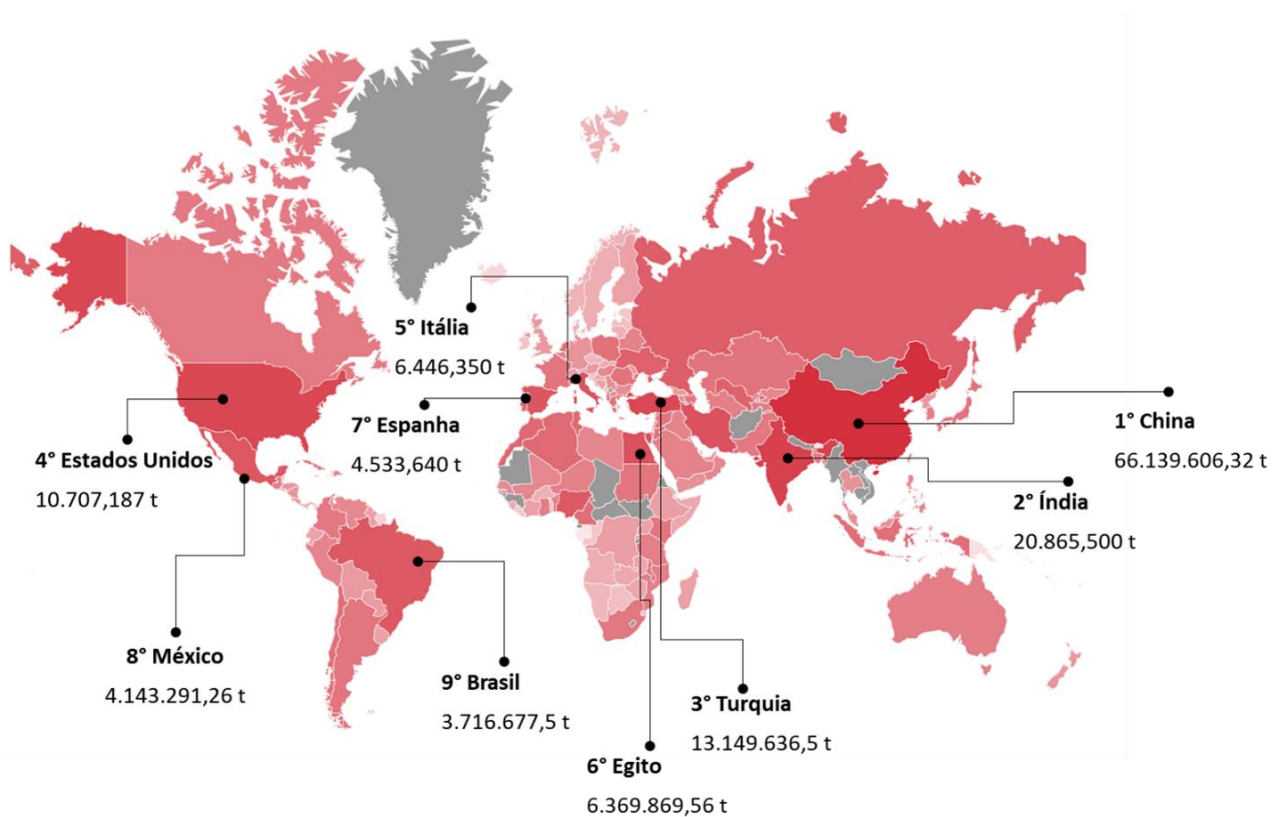


FIGURA 1 – Ranking mundial de países produtores de tomate no ano de 2021. Produção em escala de toneladas. Os países produtores de tomate são destacados em vermelho neste mapa. A intensidade do vermelho varia de acordo com a posição do país no ranking global de produção de tomate, proporcionando uma visualização clara da distribuição da produção mundial. t: toneladas FONTE: FAOSTAT, 2022.

Patologias do Tomateiro no Brasil

Os principais agentes causadores de doenças no tomateiro no Brasil incluem fungos, oomicetos, bactérias, nematoides e vírus (Lopes 2021).

Entre as doenças fúngicas mais relevantes que afetam a cultura, podemos citar a septoriose, que ocorre pelo ataque do fungo *Septoria lycopersici* (da Costa et al. 2022), causando manchas de cor marrom/palha de formato arredondado na folha e, quando maduras, liberam esporos que são facilmente dispersados. Destaca-se também a requeima, causada por *Phytophthora infestans*, um oomiceto de importância em regiões de clima frio e úmido, largamente distribuído no Brasil (Reis and Lopes 2012) e as “galhas” causadas por membros do gênero de nematoides *Meloidogyne*, que estão amplamente distribuídos nos solos brasileiros (Gabriel et al. 2022). No entanto, atualmente, as doenças causadas por bactérias e vírus representam a maior preocupação dos produtores brasileiros. Entre as doenças bacterianas, a mancha bacteriana causada por *Xanthomonas* spp. (Quezado-Duval and Camargo 2004), a murcha bacteriana, que é uma doença causada por um complexo de espécies de *Ralstonia* (Lopes 2009) e a pinta bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv *tomato*) (Lopes 2001) podem ser consideradas as principais ameaças à cultura.

A cultura do tomateiro está entre as culturas olerícolas mais afetadas por vírus fitopatogênicos (Lopes 2021). Em relação às viroses, os principais agentes patogênicos que afetam o tomateiro no Brasil pertencem as famílias *Potyviridae*, *Tospoviridae* e *Geminiviridae* (Inoue-Nagata 2013).

Dentro da família *Potyviridae*, destaca-se o gênero *Potyvirus*, cujos vírus têm um impacto significativo na cultura do tomateiro. Um exemplo notável é o *Potato virus Y* (*Potyvirus ytuerosi*) (Inoue-Nagata et al. 2022). Este vírus foi relatado pela primeira vez

infectando tomateiros em 1956, quando Silberschmidt observou plantas apresentando sintomas como folhas pequenas, rugosidade, clorose foliar e nervuras espaçadas (Silberschmidt 1956). Além disso, o potato vírus Y (PVY) foi classificado como o 5º vírus mais importante para as culturas agrícolas (Scholthof et al. 2011). As potyviroses, causadas por potyvírus, emergem como uma preocupação significativa para os produtores. Esses vírus são transmitidos de forma não persistente por pulgões, além de serem transmissíveis experimentalmente por inoculação mecânica (Inoue-Nagata et al. 2022).

Um gênero de vírus de importante impacto econômico na cultura do tomate é o *Orthospovirus*, classificado na família *Tospoviridae*. Dentro deste gênero, existem três principais vírus que são patogênicos para o tomateiro: o *Tomato spotted wilt virus* (*Orthospovirus tomatomaculae*) o *Tomato chlorotic spot virus* (*Orthospovirus tomatoflavi*) e o *Groundnut ringspot virus* (*Orthospovirus arachianuli*) (Martínez et al. 2019). Essas espécies são reconhecidas por sua capacidade de induzir a doença conhecida como Vira-cabeça do Tomateiro. Os sintomas frequentemente observados incluem arroxamento ou bronzeamento das folhas, atrofia e curvatura do ponteiro - sendo este último responsável pela origem do nome da doença - redução geral do porte da planta e desenvolvimento de lesões necróticas nas hastes e folhas (Inoue-Nagata and Lima 2021). Sua disseminação na natureza é auxiliada por várias espécies de tripses, sendo as principais transmissoras, de forma persistente-circulativa propagativa, as espécies *Frankliniella occidentalis* e *F. schultzei* (Nagata et al. 2004).

Nos últimos anos, as geminiviroses têm surgido como uma das principais preocupações entre os produtores de tomate no Brasil no contexto das doenças virais (Inoue-Nagata et al. 2016). Isso se deve à sua rápida disseminação através de vetores, sua capacidade de adaptação ao hospedeiro e aos prejuízos substanciais que causam, gerando

um impacto significativo na produção de tomate. Além de apresentarem uma ampla gama de hospedeiros, os geminivírus são disseminados eficientemente por diversos insetos vetores.

Os geminivírus são patógenos de plantas que causam doenças economicamente importantes na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo.

Família *Geminiviridae*

A família *Geminiviridae* compreende o maior número de vírus causadores de doenças em plantas, sendo 723 espécies reconhecidas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (<https://ictv.global/report/chapter/geminiviridae/geminiviridae> consultado 24/06/2024). Essas espécies estão distribuídas em quatorze gêneros dentro da família: *Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Capulavirus*, *Citlodavirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Maldovirus*, *Mastrevirus*, *Mulcrilevirus*, *Opunvirus*, *Topilevirus*, *Topocuvirus* e *Turncurtovirus* (Fiallo-Olivé et al. 2021). Os vírus pertencentes a essa família possuem genoma composto por uma ou duas fitas simples de DNA circular, de tamanho variando entre 2,5 e 5,2 kb, além de possuírem uma organização genômica (Figura 2) que difere um dos outros (Fiallo-Olivé et al. 2021). Seu genoma é encapsidado em uma partícula icosaédrica geminada, característica da família, de tamanho aproximado de 22 x 38 nm (Zhang et al. 2001).

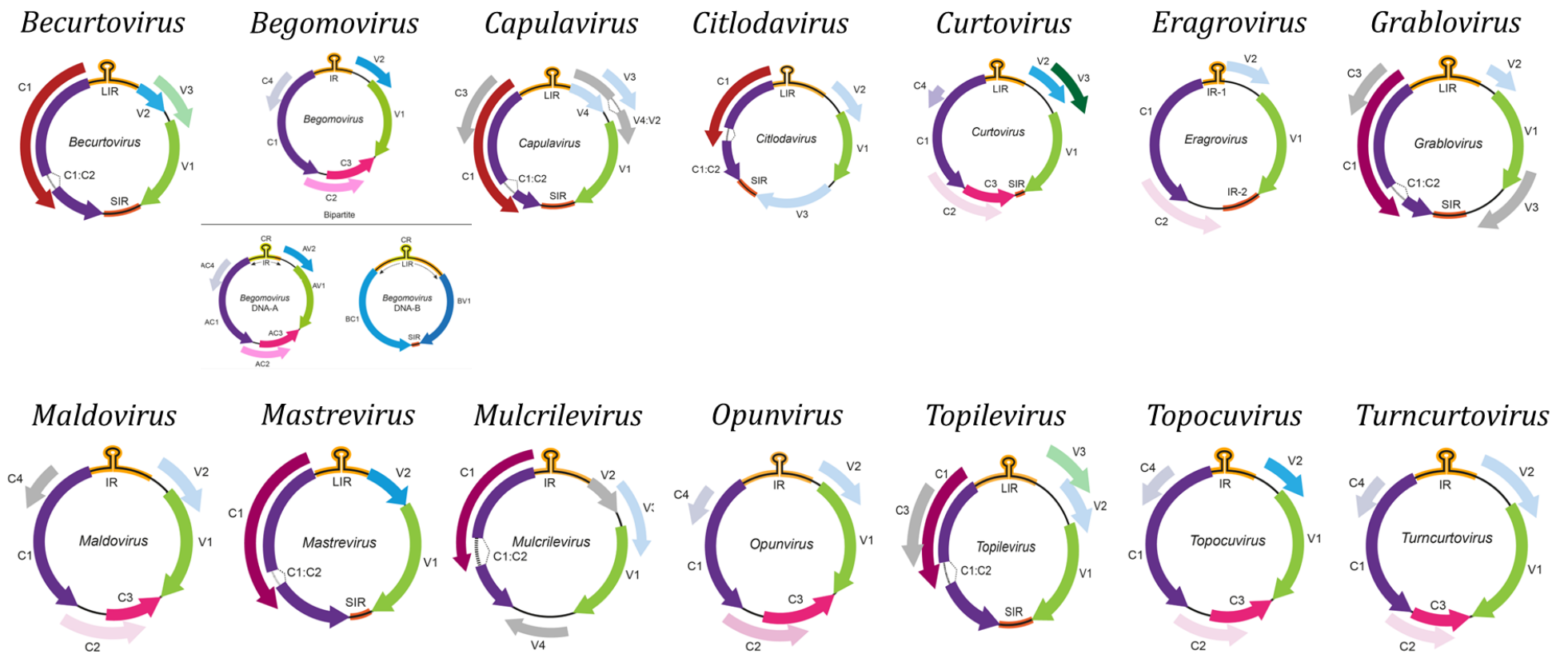


FIGURA 2: Organização genômica dos vírus da família *Geminiviridae*. As características dos geminivírus incluem a Região Intergênica Longa (LIR), a Região Intergênica Curta (SIR) e a Região Comum (CR). Os diferentes genes e elementos genômicos estão identificados, como a proteína capsidial (V1), a proteína de movimento (V2), o gene regulador (V3), e as proteínas associadas à replicação (AC1/C1/C1:C2), proteína ativadora transcricional (AC2/C2), proteína intensificadora de replicação (AC3/C3) e proteína associada a silenciamento gênico (AC4/C4) (Referência: (Fiallo-Olivé et al. 2021).

Geralmente encontrados no floema de plantas infectadas, os vírus da família *Geminiviridae* possuem a capacidade de mover-se pelo floema e acumular-se no núcleo da planta hospedeira para replicação (Fiallo-Olivé et al. 2021). Sua replicação ocorre por meio de intermediários replicativos de fita dupla, utilizando mecanismos dependentes de recombinação e círculo rolante (Preiss and Jeske 2003).

A origem de replicação (ORI) é uma sequência específica de nucleotídeos no genoma do vírus onde a replicação do DNA é iniciada. Esta região contém um sítio de ligação para a proteína Rep, que é responsável pela clivagem do DNA viral e pelo início da síntese (Orozco and Hanley-Bowdoin 1998) e localiza-se na região intergênica (RI), que inclui os iterons. Os iterons desempenham um papel crucial na replicação do DNA viral, fornecendo um ponto de ancoragem para a proteína Rep e sendo essenciais para a formação de uma estrutura adequada que permite a clivagem do DNA viral e o início da síntese de novas cadeias de DNA (Laufs et al. 1995).

A sequência de nucleotídeos da RI é altamente conservada dentro de uma determinada espécie viral, mas varia entre diferentes espécies, exceto por um elemento de 30 nucleotídeos essencial para a replicação (Lazarowitz 1992). Este elemento contém uma sequência repetida e invertida, predominantemente composta por guanina e citosina, formando uma estrutura conservada denominada "structurally-conserved element" (SCE). Esta SCE adota a configuração de grampo ("stem and loop") com uma sequência invariável (5'-TAATATTAC-3'), encontrada em quase todos os geminivírus (Lazarowitz 1992). No nonanucleotídeo, ocorre a clivagem essencial (TAATATT/AC) para o início do processo de replicação por círculo rolante, mediada pela proteína Rep, uma endonuclease sítio-específica que requer uma estrutura e sequência específicas (Orozco and Hanley-Bowdoin 1998).

A replicação dos geminivírus segue um mecanismo semelhante ao utilizado pelos bacteriófagos ϕ X174 e M13 (Saunders et al. 1991), ocorrendo predominantemente dentro do núcleo da célula vegetal e dependendo principalmente dos fatores do hospedeiro. Esses vírus não possuem sua própria DNA polimerase, dependendo, portanto, dos fatores do hospedeiro durante os estádios iniciais da replicação. Uma vez estabelecida a infecção celular, os geminivírus se movimentam de célula para célula através do plasmodesma, colonizando as células vizinhas.

Os membros da família *Geminiviridae* infectam plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas (Fiallo-Olivé et al. 2021), como o algodoeiro, as cucurbitáceas, o feijoeiro, a mandioca, o milho, o pimentão e o tomateiro, sendo frequentemente responsáveis por grandes perdas econômicas. Os geminivírus possuem ainda uma ampla gama de vetores, como moscas-brancas (Fiallo-Olivé et al. 2020), cigarrinhas (Heydarnejad et al. 2013), pulgões (Ryckebusch et al. 2020) e membracídeos (Bahder et al. 2016), disseminando os vírus e favorecendo a disseminação da doença.

No Brasil, membros de vários gêneros da família *Geminiviridae* foram identificados, possuindo agentes patogênicos em plantas infestantes e cultivadas e, até o momento, foram caracterizadas espécies de vírus pertencentes a quatro gêneros dessa família. Um exemplo é o tomato geminivirus 1 (TGV1) (*Topilevirus lycopersici*) que tem sido identificado infectando tanto tomateiros quanto *Cleome* sp. Outro exemplo é o *Tomato apical leaf curl virus* (*Topilevirus solani*) pertencente ao gênero *Topilevirus*, identificado como um patógeno afetando tomateiros no Brasil (Fontenele et al. 2017; Batista et al. 2019). Também foi documentada a presença do *Maize striate mosaic virus* (*Mastrevirus striatis*) um vírus do gênero *Mastrevirus* que afeta o milho (Fontenele et al. 2018b), bem como o *Passion fruit chlorotic mottle virus* (*Citlodavirus passiflorae*), vírus

do gênero *Citlodavirus*, que causa danos em plantações de maracujá no Mato Grosso do Sul (Fontenele et al. 2018a).

O gênero *Begomovirus* é o maior em número de espécies e mais importante economicamente dentro dessa família (Fiallo-Olivé et al. 2021)

Gênero *Begomovirus*

O gênero *Begomovirus* abriga cerca de 89% de todos os geminivírus, consolidando-se como o maior grupo de vírus de plantas (Fiallo-Olivé et al. 2021). Das 723 espécies documentadas na família *Geminiviridae*, 520 delas pertencem ao gênero *Begomovirus* (<https://ictv.global/report/chapter/geminiviridae/geminiviridae/begomovirus>), e afetam uma ampla gama de hospedeiras dicotiledôneas, resultando em danos econômicos significativos.

Com base em sua organização genômica e relacionamento filogenético, os begomovírus podem ser classificados em duas categorias principais: os begomovírus do Velho Mundo (VM - Europa, Ásia, África e Austrália) e os begomovírus do Novo Mundo (NM - Américas) (Gilbertson et al. 2015). Os begomovírus do VM são principalmente monopartidos, contendo um único DNA genômico, com apenas alguns exemplos bipartidos que consistem em dois componentes genômicos distintos (Figura 3), conhecidos como DNA-A e DNA-B (Brown et al. 2015). O DNA-A codifica quatro proteínas no sentido complementar (C) sendo elas: **Rep** (C1/AC1), associada à replicação; **Trap** (C2/AC2), relacionado à transcrição e supressão de silenciamento gênico; **REn** (C3/AC3), responsável pelo aumento da replicação e a C4/AC4, envolvida

na supressão de silenciamento gênico. No sentido viral (V), o DNA-A codifica apenas a proteína capsidial (CP) (V1/AV1), responsável pela formação da partícula viral (Hanley-Bowdoin et al. 2000), a V2 (presente nos monopartidos e os vírus bipartidos do Velho Mundo) codifica a (**Pre-coat**) e ajudam na movimentação dos begomovirus monopartidos (Padidam et al. 1996). O DNA-B dos begomovirus codifica duas proteínas distintas: a proteína de movimento, **MP** (BC1), responsável pelo movimento célula-a-célula, no sentido complementar, e a proteína associada ao transporte nuclear, **NSP** (BV1), no sentido viral (Gafni and Epel 2002). Nas espécies bipartidas, a interação entre a MP e a NSP é crucial para o movimento celular e de longa distância (Ward et al. 1997). Por outro lado, nos begomovirus monopartidos, a função análoga à NSP dos bipartidos é desempenhada pela proteína do capsídeo (CP), facilitando o transporte do DNA para o núcleo celular. Entretanto, para o movimento através das células do floema, as proteínas V1 e C4 parecem desempenhar um papel importante, possivelmente evoluindo para mediar esse processo de maneira semelhante à proteína BC1 dos begomovirus bipartidos (Rojas et al. 2001).

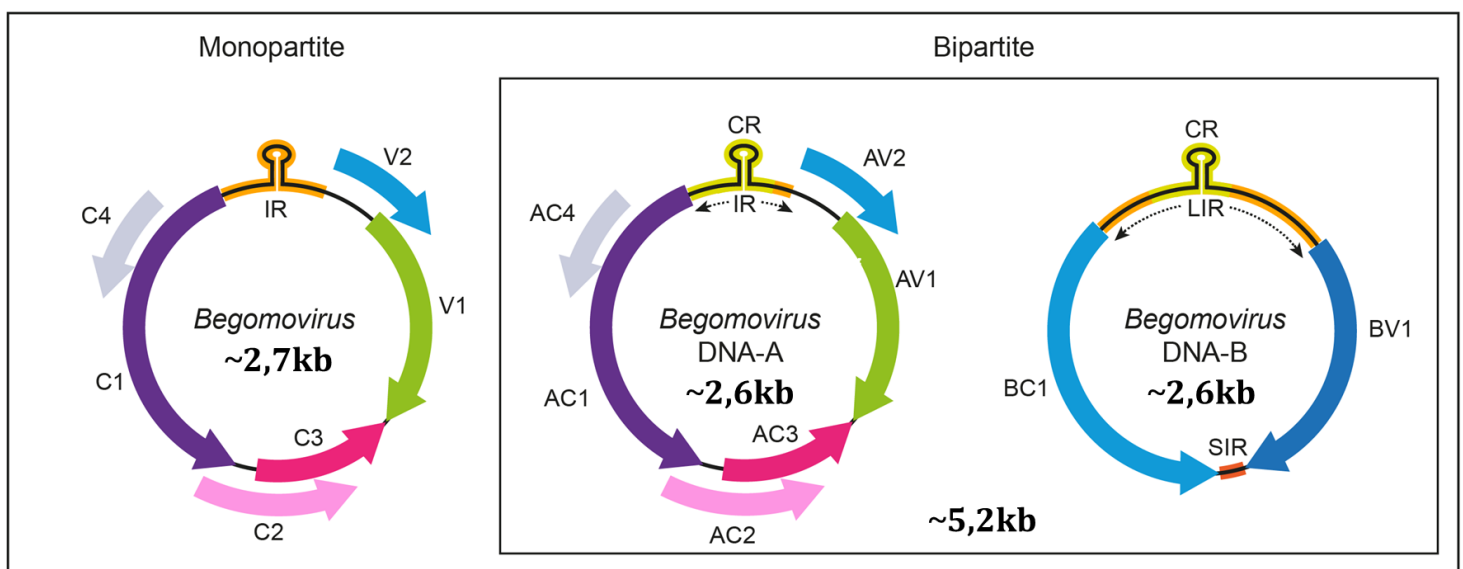


FIGURA 3: Organização genômica de begomovirus. ORFs indicadas na cadeia de sentido de vírion (V) ou de sentido complementar (C), com a designação do componente (A ou B) se bipartidos. "Região comum" (CR) compartilhada entre os componentes genômicos bipartidos, mostrada como caixas verde claras na região intergênica (IR)/região intergênica longa (LIR). Posição do stem-loop contendo sequência conservada 5'-TAATATTAC-3' na IR ou LIR mostrada. V1/AV1, proteína capsidial; C1/AC1, proteína associada à replicação;

C2/AC2, proteína ativadora transcricional; C3/AC3, proteína intensificadora de replicação; C4/AC4, proteína supressora do silenciamento gênico da planta; BC1, proteína do movimento; BV1, proteína de transporte nuclear; SIR, região intergênica curta. Os tamanhos das moléculas estão indicados na figura. (Adaptado de Fiallo-Olivé et al. 2021).

As moléculas de DNA-A e DNA-B dos begomovírus bipartidos geralmente têm pouca identidade de sequência, exceto por uma região altamente conservada de aproximadamente 200 nucleotídeos (nt) na RI, conhecida como região comum (CR) (Lazarowitz 1992). Este domínio funcional é fundamental para o início do processo de replicação por círculo rolante, mediado pela proteína Rep. Por outro lado, os begomovírus monopartidos geralmente codificam todas as funções necessárias para replicação e disseminação em hospedeiros permissivos em um só componente genômico. No entanto, um número crescente desses vírus requer associação com uma pequena molécula de DNA satélite, conhecida como betasatélite (anteriormente chamada de DNA β), para infectar hospedeiros de campo sistemicamente e causar sintomas graves (Saunders et al. 2000; Briddon et al. 2001; Zhou 2013).

Satélites

Os satélites convencionais são agentes subvirais que não possuem genes responsáveis pela codificação de proteínas com funções essenciais para a replicação (Mansoor 2003). Eles dependem da co-infecção de uma célula hospedeira por um vírus auxiliar para sua multiplicação (Briddon et al. 2012). Existem duas categorias principais de satélites: os vírus satélites, que codificam uma proteína estrutural para encapsidar seu genoma, e os ácidos nucleicos satélites, que codificam proteínas não estruturais ou não codificantes e são encapsidados pela CP do vírus auxiliar. O material genético dos

satélites é distinto em relação ao genoma de seus vírus auxiliares. O processo de replicação dos satélites interfere na replicação do vírus auxiliar, podendo influenciar os sintomas da doença, variando de atenuação a exacerbação, dependendo das características específicas do satélite, vírus auxiliar e planta hospedeira (Simon et al. 2004).

Dentro da associação com os begomovírus, foram identificadas três classes de moléculas circulares de DNA de fita simples: os alfassatélites, betassatélites e os deltassatélites (Briddon and Stanley 2006; Zhou 2013; Lozano et al. 2016). Os alfassatélites têm aproximadamente 1.350 nucleotídeos, codificam a proteína Rep e apresentam uma região com alta concentração de adenina, além de uma configuração em forma de "grampo" que inclui a sequência TAGTATTAC (Zhou 2013). Estas moléculas realizam auto-replicação dentro da planta hospedeira, mas necessitam do vírus auxiliar para se moverem e serem transmitidas pelo inseto vetor (Briddon et al. 2018).

Os betassatélites são compostos por aproximadamente 1.360 nucleotídeos e não compartilham semelhanças nucleotídicas com o genoma do vírus do qual dependem. No entanto, eles precisam desse vírus para sua replicação, encapsidação, movimento entre células e a longas distâncias, além da transmissão pelo vetor (Gnanasekaran et al. 2019). Essas moléculas também exibem uma estrutura em forma de "grampo" contendo a sequência TAGTATTAC e uma única região de leitura aberta que codifica a proteína β C1. Esta proteína desempenha um papel importante na indução de sintomas em determinados hospedeiros, além de suprimir o silenciamento gênico transcricional e pós-transcricional (Gopal et al. 2007; Rosario et al. 2016; Gnanasekaran et al. 2019).

Os satélites delta apresentam um genoma reduzido, composto por aproximadamente 700 nucleotídeos que não têm capacidade de codificar qualquer proteína. Eles são totalmente dependentes do vírus auxiliar para sua replicação, movimentação e transmissão (Dry et al. 1997). Sua presença tem sido associada a uma

redução no acúmulo de begomovírus e/ou uma expressão atenuada de sintomas (Hassan et al. 2016).

Em 2010, foram relatados alfassatélites no Brasil e na Venezuela, em conjunto com os begomovírus bipartidos Cleome leaf crumple virus (CILCrV), Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV) e melon chlorotic mosaic virus (MeCMV) (Paprotka et al. 2010; Romay et al. 2010). Portanto, esses foram os primeiros registros de alfassatélites associados a begomovírus ocorrendo naturalmente na região do "Novo Mundo", revelando uma interação entre esses agentes patogênicos (Paprotka et al. 2010; Romay et al. 2010).

Critérios Taxonômicos

Os begomovírus são classificados com base em vários critérios (Brown et al. 2015). Primeiro, verifica-se se possuem ou não o componente genômico DNA-B, o que afeta sua classificação. Também se examina a organização do genoma, especialmente a presença ou ausência da ORF AV2, que é importante para a classificação do vírus.

Uma das etapas cruciais da taxonomia dos begomovírus é a análise da identidade da sequência nucleotídica do genoma completo. Membros de espécies distintas geralmente apresentam menos de 91% de identidade de nucleotídeos no genoma completo, ou no DNA-A para bipartidos (Brown et al. 2015). Quando a semelhança se aproxima desse limite, outros atributos virais devem ser considerados para uma classificação precisa. Para facilitar a classificação taxonômica de novos begomovírus, são propostas diretrizes específicas:

Primeiro, deve-se realizar uma análise BLAST no banco de dados de nucleotídeos para identificar sequências semelhantes. A nova sequência deve ser adicionada a um conjunto de dados de genomas completos, salvos no formato FASTA, com todas as sequências alinhadas na mesma coordenada genômica. Utilizando o programa Sequence Demarcation Tool (SDT) (Muhire et al. 2014) as identidades entre as sequências devem ser calculadas e salvas em formato CSV. Se a nova sequência compartilhar menos de 91% de identidade com qualquer outra conhecida, o vírus deve ser classificado como uma nova espécie. Se a identidade for inferior a 94% em relação aos isolados da mesma espécie, deve-se propor uma nova classificação para o nível de estirpe.

É amplamente reconhecido que os begomovírus possuem uma alta taxa de variabilidade genética tanto dentro quanto entre as espécies (Padidam et al. 1999; Lima et al. 2017). Mutações, recombinações e pseudo-recombinações ocorrem frequentemente, com taxas de substituição tão altas quanto as dos vírus com genoma de RNA, facilitando o surgimento de novas variantes (Padidam et al. 1999; Seal et al. 2006; Lima et al. 2017). Assim, os geminivírus em geral formam um conjunto de genomas mutantes e recombinantes, resultando em rápida evolução adaptativa e surgimento de novas variantes e espécies que podem infectar diferentes hospedeiros, causar novas doenças ou superar genes de resistência (Domingo et al. 2012; Sánchez-Campos et al. 2018).

Segundo Fiallo-Olivé et al. (2021), a capacidade de trans-replicação de componentes genômicos também é um critério relevante, pois a incapacidade de uma proteína Rep de um vírus em trans-replicar componentes genômicos de outro sugere que eles devem ser considerados membros de espécies distintas. Finalmente, a gama natural de hospedeiros e os fenótipos de sintomas são considerados, embora sejam mais comumente usados para distinguir estirpes dentro de uma mesma espécie (Fiallo-Olivé et

al. 2021). Esses critérios são fundamentais para determinar o status taxonômico das espécies de begomovírus, levando em consideração aspectos genômicos e biológicos.

Deteção viral

Existem várias abordagens disponíveis para a detecção de vírus em plantas, com destaque para métodos moleculares. Técnicas como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e hibridização de ácido nucleico são fundamentadas na detecção de ácidos nucleicos virais, utilizando primers e sondas específicas, respectivamente, para o vírus em questão (Maule et al. 1983; Candresse et al. 2000). A técnica de PCR é uma ferramenta amplamente utilizada para detectar begomovírus, principalmente pela alta eficiência de detecção de alguns primers considerados como universais para os begomovírus, como aqueles relatados por Rojas et al. (1993) denominados PAL1v1978F e PAR1c496R (Rojas 1993). A CP dos vírus é importante para a infecção e propagação viral, por isso, devido à sua conservação entre os begomovírus, primers baseados nessa região são amplamente usados em testes de PCR para detectar esses vírus (Sohrab et al. 2003).

A amplificação do genoma circular dos begomovírus pode ser realizada através da técnica de amplificação por círculo rolante (RCA) (Inoue-Nagata et al. 2004). Neste processo, primers randômicos são introduzidos na reação, os quais se ligam ao genoma circular, iniciando a síntese do ácido nucleico em conjunto com a polimerase do bacteriófago (ϕ) *phi* 29 polimerase de DNA. Na RCA, a molécula de DNA circular é amplificada em cadeia, resultando na produção de múltiplas cópias da sequência de DNA (Inoue-Nagata et al. 2004). Posteriormente, o produto da RCA pode ser submetido à análise de polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP). Este método

envolve a digestão do DNA amplificado por enzimas de restrição específicas, resultando na clivagem do DNA em fragmentos em sítios específicos (Haible et al. 2006). Esses padrões de amplicons gerados podem ser utilizados para a identificação preliminar do vírus. A abordagem das duas técnicas em conjunto (RCA e RFLP) demonstra versatilidade e aplicabilidade em diferentes contextos, incluindo diagnóstico molecular (John et al. 2009; Wyant et al. 2012).

As técnicas moleculares apresentam diversas vantagens, tais como alta especificidade, sensibilidade elevada e rápida capacidade de detecção e multiplexação (Price et al. 2010). No entanto, apesar da robustez geral desses métodos, é crucial reconhecer suas limitações. A contaminação entre amostras é uma preocupação. Além disso, a quantidade e qualidade do DNA influenciam diretamente os resultados obtidos (Leke et al. 2015). Adicionalmente, a amplificação não específica e a inibição da atividade da polimerase podem ocorrer devido à presença de contaminantes, como compostos fenólicos e polissacarídeos, nos ácidos nucleicos (Leke et al. 2015).

Transmissão de begomovírus por *Bemisia tabaci*

Os begomovírus são transmitidos de maneira persistente-circulativa pelas moscas-brancas pertencentes ao complexo de espécies crípticas de *Bemisia tabaci* (Fiallo-Olivé et al. 2020). De modo geral, Ghanim et al. (2001) descrevem que a mosca-branca ingere as partículas virais por meio de seu estilete durante a alimentação no floema de plantas infectadas. Essas partículas são transportadas pelo canal alimentar, passando pelo esôfago até alcançar o intestino. A partir da câmara de filtro e do intestino médio, as partículas são transferidas para a hemolinfa e chegam às glândulas salivares primárias (GSPs), onde

se acumulam. Subsequentemente, o vírus é liberado juntamente com a saliva ao longo do canal salivar para o floema da planta.

As duas espécies mais reconhecidas por sua alta capacidade invasiva são a *B. tabaci* Middle East Asia Minor 1 (MEAM1) e a *B. tabaci* Mediterranean (MED), anteriormente conhecidas como biótipos B e Q, respectivamente. De aparência morfológicamente similar, a diferenciação entre essas espécies de moscas-brancas é realizada por meio de abordagens moleculares e análise comportamental. O método predominante na atualidade para análise genética de moscas-brancas adultas consiste na extração do DNA total seguida pela amplificação do gene mitocondrial conhecido como citocromo oxidase I (mtCOI) (Dinsdale et al. 2010). Esta amplificação é realizada através de primers específicos forward (C1-J-2195) e reverse (TL2-N-3014) em uma PCR (Simon et al. 1994). Posteriormente, o fragmento amplificado é submetido à digestão enzimática utilizando as endonucleases de restrição Tru9I ou TaqI, esperando-se 3 fragmentos digeridos para MEAM1 (tamanhos: 414, 162 e 144 pb) e 2 fragmentos para MED (tamanhos: 633 e 146 pb) (Bosco et al. 2006). Essa abordagem permite a identificação e análise de variações genéticas no mtCOI, fornecendo informações valiosas para estudos taxonômicos de moscas-brancas. Essa abordagem é crucial para a diferenciação específica entre as espécies crípticas em vários continentes em que está distribuído.

A *B. tabaci* foi identificada pela primeira vez no Brasil em 1928 em *Euphorbia pulcherrima* no estado da Bahia (Bondar 1928) e dentro do conjunto de espécies de importância no Brasil, merecem destaque a *Bemisia tabaci* MEAM1 e a *Bemisia tabaci* MED tanto pela adaptabilidade aos hospedeiros quanto pela resistência a inseticidas (Libardi Miraldo et al. 2021; Fernandes et al. 2024). A entrada da MEAM1 no Brasil teve início por volta da década de 1990, quando foi identificada a entrada de uma espécie de *Bemisia tabaci* colonizando tomateiros, batateiras e algumas plantas daninhas no estado

de São Paulo (Lourenção and Nagai 1994), ocasionando significativos prejuízos na tomaticultura daquela época. Entretanto, a introdução da MED no Brasil ocorreu duas décadas mais tarde (da Fonseca Barbosa et al. 2015). Nesse período, essa espécie de mosca-branca já estava estabelecida em países fronteiriços como Argentina e Uruguai (Grille et al. 2011), sendo inicialmente detectada no estado do Rio Grande do Sul (da Fonseca Barbosa et al. 2015). Posteriormente, em estudos realizados entre 2015 e 2016 notou-se uma segunda invasão de MED, colonizando plantas ornamentais nos estados de São Paulo e Paraná (Moraes et al. 2017). É amplamente aceito que, anteriormente à introdução e disseminação da MEAM1, as espécies predominantes eram *B. tabaci* New World 1 (NW1) e *B. tabaci* New World 2 (NW2), correspondentes ao biótipo A (Marubayashi et al. 2013). No entanto, estas espécies não apresentavam alta eficiência na colonização do tomateiro (Bedford et al. 1994). Após a disseminação do MEAM1 no Brasil, houve um declínio acentuado das moscas-brancas do grupo New World (NW1 e NW2) (Inoue-Nagata et al. 2016), devido à competição ecológica e à superioridade competitiva do MEAM1, que é altamente polífago e transmite vírus com alta eficiência (BEDFORD et al. 1994; Lü et al. 2014).

A nova nomenclatura das espécies de moscas-brancas indica os diferentes locais geográficos onde essas moscas-brancas foram originalmente descobertas, sugerindo assim que o Oriente Médio e a Ásia Menor são considerados o provável centro de origem da MEAM1, enquanto a região que se estende desde a bacia do Mediterrâneo ocidental até o Egito é reconhecida como o centro de origem da MED (Frohlich et al. 1999; de Barro et al. 2000). Ambas são reconhecidas como as mais invasivas globalmente, ocasionando significativas perdas em várias culturas agrícolas relevantes, como tomate, soja, pimentão, feijão, entre outras (Oliveira et al. 2001). Atualmente, no contexto brasileiro, essas duas espécies de mosca-branca são capazes de transmitir begomovírus

(Bello et al. 2020). A espécie MEAM1 prevalece em diversas culturas, embora a MED esteja emergindo como um desafio significativo em lavouras de tomateiro sob irrigação por pivô devido a sua alta resistência a determinados inseticidas (Libardi Miraldo et al. 2021).

Transmissão alternativa

Alguns begomovírus podem ser transmitidos experimentalmente por inoculação mecânica. Esse método envolve preparar uma solução com tecido infectado, que é macerado em um tampão de inoculação com o pH específico para manter a estabilidade da partícula viral. Em seguida, a solução contendo as partículas virais é friccionada no limbo foliar da planta com a ajuda de abrasivos, permitindo a infecção da planta pelo vírus (Ascencio-Ibañez and Settlage 2007).

A maioria dos begomovírus podem ser transferidas por meio da *Agrobacterium tumefaciens* (agroinoculação) usando uma construção contendo todo o DNA genômico (clones infecciosos). Esse DNA pode ser clonado de várias formas: na forma monomérica, que inclui somente uma cópia do vírus, em vetores; pode ser também como cópia e meia, que inclui o genoma completo mais uma parte adicional do vírus em vetores; ou como dímero, que consiste em duas cópias do genoma no mesmo vetor (Ferreira et al. 2008). Alternativamente, a entrega biolística de DNA genômico clonado é utilizada para a transmissão experimental desses vírus (López-López et al. 2013).

Begomoviroses no mundo

Alguns begomovírus causam grandes impactos econômicos em diversos continentes. Isolados de *Pepper yellow vein Mali virus (Begomovirus capsicummaliense)* causam grandes perdas econômicas em tomateiro e pimenteira em Burkina Faso, localizado na África (Ouattara et al. 2020). Isolados de *Bean golden mosaic virus (Begomovirus costai)* (Costa 1987) causam mosaico dourado em fabáceas no Brasil (Costa 1987). Isolados de *Bean golden yellow mosaic virus (Begomovirus birdi)* (Garrido-Ramirez et al. 2000) estão distribuídos na América Central (Garrido-Ramirez et al. 2000). Isolados de *Tomato yellow leaf curl virus (Begomovirus coheni)* (Glick et al. 2009) são importantes no Mediterrâneo, sul da Ásia, África e nas Américas do Sul, Central e do Norte (Glick et al. 2009). Isolados de *Tomato severe rugose virus (Begomovirus solanumseverugosi)* têm sido importantes na tomaticultura brasileira nos últimos anos (Mituti et al. 2019). Esses vírus exemplificam a vasta distribuição e os sérios prejuízos econômicos que podem ser causados pelos begomovírus em diferentes regiões do mundo.

Em geral, os sintomas provocados por esses begomovírus em plantas são semelhantes e incluem clareamento das nervuras, manchas cloróticas, mosaico, deformações foliares, epinastia e nanismo (Inoue-Nagata et al. 2016). No entanto, a natureza e a severidade desses sintomas podem variar dependendo da interação vírus-hospedeiro e das condições ambientais.

Begomoviroses no Brasil

No Brasil, os primeiros registros de detecção de begomovírus foram documentados em plantas não cultivadas (Costa and Bennett 1950; Costa and Carvalho 1955). Desde a entrada da mosca-branca até o presente, esse grupo de vírus é considerado um dos mais importantes para a cultura do tomateiro, devido à sua alta incidência e às

dificuldades encontradas para seu controle (Lourenção and Nagai 1994; Inoue-Nagata et al. 2016; Souza et al. 2022). No Brasil, as doenças causadas por begomovírus de maior importância incluem o Mosaico Dourado do Feijoeiro (BGM causada pelo begomovírus bean golden mosaic vírus e um complexo de vírus que afeta o tomate. Embora outras culturas, como soja, batata e batata-doce (Ribeiro et al. 2006; Coco et al. 2013) possam ser afetadas por begomovírus no Brasil (Ribeiro et al. 2006; Coco et al. 2013), as perdas econômicas geralmente não parecem ser substanciais ou generalizadas. As plantas daninhas no país são frequentemente infectadas por begomovírus, exibindo sintomas marcantes de mosaico verde claro, dourado ou amarelo, e podem servir como reservatórios para a disseminação desses vírus para culturas agrícolas (Rocha et al. 2013).

O Mosaico Dourado do Feijoeiro é uma das doenças mais prejudiciais ao feijão comum no Brasil, desde seu primeiro registro na década de 1960 (Costa 1965). Esta doença se caracteriza por um notável mosaico ou manchas amarelo-douradas nas folhas, acompanhadas de clorose e rugosidade (Wendland et al. 2018). As moscas-brancas das espécies de *B. tabaci* NW1 e *B. tabaci* NW2 são vetores eficazes do vírus do mosaico dourado do feijoeiro (BGM) e provavelmente de outros begomovírus, dado que plantas daninhas eram relatadas com infecção por begomovírus antes da introdução de moscas-brancas da espécie *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Inoue-Nagata et al. 2016).

Outras culturas hortícolas também podem ser impactadas por begomovírus no Brasil, incluindo a batata-inglesa (*Solanum tuberosum*). O primeiro registro de um begomovírus afetando batatas no Brasil foi documentado na década de 1980, no estado do Rio Grande do Sul, onde a doença foi descrita como mosaico deformante (Daniels and Castro 1985). Posteriormente, identificou-se que o agente causador era um isolado de begomovírus, o *Tomato yellow vein streak virus* (*Begomovirus solanumflavusvenae*), induzindo sintomas de mosaico amarelo e deformações nas folhas das batatas (Ribeiro et

al. 2006). Em 2015, os sintomas do mosaico amarelo ressurgiram como um desafio para as plantações de batata nas regiões produtoras do centro-sul do país, como os estados de Goiás, São Paulo, Minas Gerais e Distrito Federal, sendo associados ao tomato yellow vein streak virus (ToYVSV) e ao tomato severe rugose virus (ToSRV, Lima et al. 2011; Lima and Vieira 2015). Como o ToYVSV e o ToSRV afetam principalmente os tomateiros, acreditava-se que estes fossem as principais fontes de inóculo ou vírus para as batatas. Alguns estudos já demonstraram que o ToYVSV foi transmitido às plantas de batata por moscas-brancas após curtos períodos de alimentação em plantas de tomate infectadas (Souza-Dias et al. 1996).

Assim como a batata comum, a batata-doce (*Ipomoea batatas*) é uma hospedeira de begomovirus. No Brasil, oito espécies de begomovírus foram relatadas em batata-doce, incluindo *Sweet potato leaf curl virus (Begomovirus ipomoeae)*, *sweet potato golden vein virus*, *sweet potato leaf curl Spain virus*, *Sweet potato leaf curl Sao Paulo virus (Begomovirus ipomoeasaopauloense)*, *merremia leaf curl virus*, *sweet potato leaf curl Brazil virus*, *sweet potato Lanzarote virus* e *sweet potato Malaga virus* (Paprotka et al. 2010; Fiallo-Olivé et al. 2021).

A soja (*Glycine max*) pode ser suscetível a diversos begomovírus, incluindo membros das espécies *Bean golden mosaic virus*, *Sida micrantha mosaic virus (Begomovirus sidamicranthae)* e *Sida mottle virus (Begomovirus sidavariati)* (Fernandes et al. 2009). Os sintomas da infecção por begomovírus na soja incluem retardamento de crescimento, crescimento distorcido, bolhas, manchas cloróticas e mosaico ou manchas nas folhas, variando de verde claro a amarelo dourado (Inoue-Nagata et al. 2016). Portanto, sob uma alta pressão de doenças causadas por begomovírus, é possível ocorrer perdas de rendimento, justificando assim a implementação de um programa de controle de vírus e moscas-brancas. A soja é amplamente cultivada no Brasil e representa uma das

commodities agrícolas mais importantes. O plantio geralmente ocorre entre outubro e dezembro, com a colheita de janeiro a abril. A soja é um hospedeiro preferido de *B. tabaci*, e infestações intensas podem ser observadas nos campos de soja.

Begomoviroses em tomateiro

No Brasil, os primeiros indícios de begomovírus foram identificados em plantas silvestres (Costa and Bennett 1950; Costa and Carvalho 1955). O registro inicial de begomovírus em tomateiros data de 1960, quando plantas foram encontradas infectadas com o golden mosaic virus (Flores et al. 1960), causando distorção no crescimento e um padrão de mosaico nas folhas, variando de amarelo a verde claro (Matyis et al. 1975). Até meados da década de 1990, poucos vírus foram identificados e não havia relatos de danos econômicos significativos. Entretanto, essa situação mudou com a disseminação de *B. tabaci* MEAM1 por todo o país, levando à detecção dos vírus *Tomato yellow spot virus* (*Begomovirus solanumflavusmaculae*) (Calegario et al. 2007), *Tomato chlorotic mottle virus* (*Begomovirus solanumpallidivariati*) (Ribeiro et al. 2007), *Tomato rugose mosaic virus* (*Begomovirus solanumrugosi*) (Fernandes et al. 2006) e *Tomato yellow vein streak virus* (Firmino et al. 2009), entre outros, infectando tomateiros no Brasil.

O tomateiro é suscetível ao maior número de vírus do gênero *Begomovirus* em comparação com outras culturas, com aproximadamente 150 vírus descritos que infectam esta planta (Anexo 1), conforme reconhecido pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV, 2024) em todo o mundo. Esta diversidade de begomovírus em tomateiros é principalmente devido à altas taxas de mutações, recombinações e ajudada pela alta polifagia e adaptabilidade de MEAM1 à cultura do tomateiro. Esses fatores resultaram em um aumento significativo no número de espécies que infectam os tomateiros (Padidam

et al. 1999; Inoue-Nagata et al. 2016; Lima et al. 2017; Trindade et al. 2019). Destas, 29 são conhecidas por infectar tomateiros no Brasil (Flores et al. 1960; Faria et al. 1997; Jovel et al. 2004; Fernandes et al. 2006, 2008; Andrade et al. 2006; Ribeiro et al. 2007; Cotrim et al. 2007; Castillo-Urquiza et al. 2008; Tavares et al. 2012; Barreto et al. 2013; Adams et al. 2017; Quadros et al. 2019; Mituti et al. 2019; Rego-Machado et al. 2019; Duarte et al. 2021; National Center for Biotechnology Information, 2024) (Anexo 2). Os sintomas induzidos por esses vírus incluem crescimento atrofiado e distorcido, mosaico verde-amarelo a dourado, enrugamento, clorose entre nervuras, rugosidade, amarelecimento e manchas amarelas nas folhas (Inoue-Nagata et al. 2016). Devido à semelhança nos sintomas causados por esses vírus em tomateiros infectados, ferramentas moleculares como RCA, PCR e sequenciamento são necessárias para uma identificação precisa.

Foi observado que, entre os begomovírus que infectam o tomateiro no Brasil, dois são predominantes: o tomato severe rugose virus e o tomato mottle leaf curl virus (Souza et al. 2022). O ToSRV é amplamente encontrado nas regiões produtoras de tomate do centro ao sul do país, abrangendo o Distrito Federal e os estados de Minas Gerais, São Paulo e Goiás (Souza et al. 2022). Por outro lado, o ToMoLCV está se tornando cada vez mais relevante na infecção de tomateiros, sendo predominante nas regiões Nordeste, e pode ser encontrado nos estados do Ceará, Piauí e no norte de Minas Gerais (Inoue-Nagata et al. 2016; Souza et al. 2022).

Principais estratégias de manejo das begomoviroses

O manejo das doenças causadas por begomovírus que afetam o tomateiro e outras culturas no Brasil e no mundo exige estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Gilbertson et al. 2011). Ao contrário do feijoeiro comum, que possui uma cultivar transgênica resistente ao BGMV, há cultivares de tomateiro, moderadamente resistentes aos begomovírus, disponíveis comercialmente. Essas cultivares híbridas, podem possuir um ou mais genes de resistência, como *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4*, *Ty-5*, *ty-5*, *tcm-1* e o *tgr-1* (Zamir et al. 1994; Hanson et al. 2000; Giordano et al. 2005; Ji et al. 2007, 2009; Bian et al. 2007; Hutton et al. 2012; Kadirvel et al. 2013; Prabhandakavi et al. 2021). Geralmente, os híbridos disponíveis são moderadamente resistentes, infectando-se e apresentando sintomas leves de mosaico verde claro e rugosidade nas folhas, mas proporcionando rendimentos satisfatórios em áreas com alta pressão de begomovírus, como os estados de Goiás, Minas Gerais, Ceará e São Paulo (Boiteux et al. 2007).

No estado de Goiás, Brasil, a Instrução Normativa de Tomate nº 005, datada de 13 de novembro de 2007 (<https://goias.gov.br/agrodefesa/wp-content/uploads/sites/49/2016/07/2151399-40b.pdf>), foi instituída com o objetivo de implementar o vazio sanitário de tomateiro no estado de Goiás. Essa medida foi adotada com o objetivo de diminuir o inóculo de begomovirose. Estudos anteriores destacaram a eficiência do manejo da doença causada por begomovírus em tomateiro por meio da implementação de um período sem plantio de tomateiro e de outros hospedeiros de moscas-brancas na República Dominicana (Salati et al. 2002).

A pesquisa conduzida por Macedo et al. (2024) avaliou o impacto da implementação dessa norma durante o período de 2013 a 2016. Os resultados revelaram diferenças significativas na incidência de begomovirose em tomateiro. Em áreas onde o TFP foi aplicado, foi observada uma menor incidência da doença, enquanto em um local sem essa restrição, os níveis de infecção eram mais elevados. Esses resultados sugerem

que a adoção do TFP como medida de manejo integrado de doenças pode ser uma estratégia eficaz para reduzir a incidência de begomovírus em tomateiro no estado de Goiás.

No Brasil, além da implementação do vazio sanitário, o manejo dos vírus de plantas transmitidos pela mosca-branca, especialmente os begomovírus, é amplamente conduzido por meio da aplicação intensiva de inseticidas.

JUSTIFICATIVA

Atualmente, no Brasil, as doenças causadas por begomovírus representam uma das maiores preocupações para os produtores de tomate. Estas doenças resultam em perdas significativas nas lavouras de tomateiro em todo o mundo, sendo a sua disseminação realizada por espécies de *B. tabaci*.

No Brasil, já foram descritas 29 espécies de begomovírus aceitas pelo ICTV, e novas espécies continuam a surgir em todo o mundo. A infecção por esses vírus pode impactar diretamente a produção em campo, induzindo principalmente nanismo, deformação foliar e manchas cloróticas, causando prejuízos consideráveis em cultivos de tomate no Brasil.

Foi encontrada uma planta de tomateiro apresentando fortes sintomas característicos de infecção por begomovírus no município de Cristalina, Goiás. Os sintomas incluíam pontos cloróticos, clorose de nervuras, nanismo, redução da área foliar e um forte sintoma de deformação foliar, sendo que esse último é incomum dos sintomas típicos causados por outros begomovírus reportados no Brasil. Este conjunto de sintomas sugere a presença de um novo begomovírus, potencialmente capaz de causar sérios

prejuízos para a tomaticultura. Portanto, este estudo visou contribuir para a identificação e caracterização desse potencial novo begomovírus.

HIPÓTESES

1. O vírus presente na amostra de tomateiro coletada em Cristalina é uma nova espécie de begomovírus.
2. Essa nova espécie de begomovírus possui dois componentes genômicos com organização genômica típica dos begomovírus do Novo Mundo.
3. A nova espécie de begomovírus possui relação filogenética mais próxima com outras espécies já descritas na região.
4. O principal mecanismo responsável pelo surgimento dessa nova espécie de begomovírus é a mutação.

OBJETIVO GERAL

Identificar e caracterizar uma novo begomovírus infectando tomateiro coletado em Cristalina, Goiás.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar o vírus causador dos sintomas de deformação foliar em tomateiro coletado em uma lavoura no município de Cristalina, GO;
2. Caracterizar molecularmente o vírus encontrado infectando tomateiros coletados no município de Cristalina, GO;

3. Construir clones infecciosos e testar sua infectividade em plantas de tomateiro de três diferentes cultivares.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Coleta do material e testes moleculares

Durante uma visita de campo a um produtor de tomate em Cristalina-GO (16°18'26.0"S, 47°33'14.6"W), observou-se uma planta de tomate da cultivar H1301, conhecida por sua suscetibilidade a begomovírus, exibindo sintomas severos de deformação foliar. A planta estava sob condições de cultivo irrigado por pivô central, voltado para processamento. Os sintomas observados (Figura 4) sugeriram uma infecção por um begomovírus possivelmente distinto dos relatados anteriormente. Uma amostra foliar desta planta foi coletada e identificada como #23067.



FIGURA 4: Planta de tomate da cultivar H1301, exibindo sintomas característicos de infecção por begomovírus: clorose e forte deformação foliar coletada em campo no município de Cristalina, Goiás. Foto: Alice Nagata.

A amostra de tomateiro coletada foi levada ao Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Hortaliças, onde foi extraído o DNA utilizando o método CTAB (Doyle and Doyle 1990). Para a detecção do componente A do begomovírus, utilizou-se os primers universais PAL1v1978 (Forward) e PAR1c496 (Reverse) em uma reação de PCR. Uma PCR específica foi realizada para o componente B utilizando os primers PBL1v2040 (Forward) e PCRC1 (Reverse) (Rojas et al. 1993). Posteriormente, o produto da amplificação foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 1%.

TABELA 1: Lista de primers utilizados para a detecção do vírus e construção de clones infecciosos.

Primers	Sequências
PAL1v1978	GCA TCT GCA GGC CCA CAT YGT CTT YCC NGT
PAR1c496	AAT ACT GCA GGG CTT YCT RTA CAT RGG
PBL1v2040	GCC TCT GCA GCA RTG RTC KAT CTT CAT ACA
PCRC1	CTA GCT GCA GCA TAT TTA CRA RWA TGC CA
23067A_U1_For	AAC ATG GTG GAG CAC GAC ACC TCA GGA ACC ATA CGA ACA G
23067A_U1_Rev	ATG GTT CCT GAG CTT GAT GTT GTC ATC CAT
23067A_U2_For	CAA CAT CAA GCT CAG GAA CCA TAC GAA CAG
23067A_U2_Rev	GAA CGA TCG GGG AAA TTC GAT GAT GTT GTC ATC CAT CCA T
23067B_U1_For	AAC ATG GTG GAG CAC GAC ACA TGA ATG GGC GAA TAG AAT ATG
23067B_U1_Rev	ATT CAA AGT TCG GGC CCA CGT ATT GTA AAT AAG C
23067B_U2_For	TAC AAT ACG TGG GCC CGA ACT TTG AAT TAG TGT G
23067B_U2_Rev	GAA CGA TCG GGG AAA TTC GA GTT ATT TGA CCA CGT CAG CG
23067A_263Fo	GCC GCT CTC TCA ATT CTT CG
23067A_1144Re	CTT CAG TGA CAG CTT CTG GG
23067A_1231Re	TCT ACC ACG TCC AGA TAC GG

Legenda: As sequências em negrito indicam os locais de ligação com o vetor e a sobreposição entre as unidades virais. PAL1v1978, PAR1c496 PBL1v2040 e PCRC1 são primers degenerados (Rojas et al., 1993).

Após a confirmação de que o vírus era um begomovírus, realizou-se a amplificação do DNA viral utilizando a técnica de Rolling Circle Amplification RCA (Inoue-Nagata et al. 2004). A reação de RCA seguiu o protocolo da Thermo Scientific®, utilizando enzima *phi* 29 DNA polimerase. O produto de RCA foi digerido com a enzima MspI, que possui sítio de clivagem CCGG, seguindo o protocolo da Thermo Scientific® para a enzima Anza™ 65 MspI.

2. Sequenciamento e construção dos clones infecciosos

Após a amplificação por RCA, o DNA foi digerido com 8 enzimas de restrição para determinar a melhor enzima para a clonagem dos monômeros (ApaI, BglII, EcoRI, HindIII, NcoI, PstI, SalI e XhoI). A enzima de restrição ApaI, que reconhece os sítios de restrição GGGCCC, foi selecionada para a clonagem dos dois componentes genômicos, pois potencialmente clivou ambos os componentes em apenas um ponto. Os fragmentos (DNA-A e DNA-B) foram então ligados no vetor pBlueScript SK+ (Stratagene). Os fragmentos de DNA ligados foram introduzidos em células bacterianas da cepa DH10B de *Escherichia coli* por meio de eletroporação (Dower et al. 1988).

A purificação plasmidial foi realizada utilizando a técnica de lise alcalina (Green and Sambrook 2012). A seleção dos clones recombinantes foi efetuada por meio da digestão dos plasmídeos com a mesma enzima empregada na clonagem e avaliada por eletroforese, gel de agarose a 1%.

O sequenciamento dos clones foi realizado na MacroGen® com o uso de primers do vetor e internos. O processo de montagem das sequências dos DNAs A e B foi realizado manualmente utilizando o software Geneious 8 2020.1.1 (Biomatters®). Posteriormente, uma busca BLASTn foi conduzida para identificar sequências relacionadas aos clones provenientes da amostra #23067. Além disso, o Sequence Demarcation Tool (SDT) (Muhire et al. 2014) foi utilizado para comparar as sequências mais próximas.

Após o resultado do sequenciamento, clones infecciosos foram construídos utilizando a técnica de Gibson Assembly (Gibson et al. 2009; Blawid and Nagata 2015) (Figuras 5 e 6) e sequenciados. A partir da sequência dos clones monoméricos (23067_7 e 23067_5) e do vetor pJL89 (Lindbo 2007), foram desenhados primers iniciando nas posições 576 para o DNA-A e 2.225 para o DNA-B e fragmentos de DNA específicos foram amplificados por PCR, utilizando como molde produtos de RCA do DNA total da

amostra original para amplificar as unidades virais (U1/U2), que se sobrepõem nas extremidades dos componentes do vírus e do respectivo vetor. Essas unidades virais foram inseridas então, no vetor binário pJL89 (Lindbo 2007; Blawid and Nagata 2015). As construções foram montadas utilizando o Gibson Assembly Cloning Master Mix (New England BioLabs), conforme as instruções do fabricante.

Para o DNA-A, foi realizada uma construção dimérica (Figura 5), contendo duas cópias do vírus, enquanto para o DNA-B foi utilizada uma construção com 1,4 cópias (Figura 6), consistindo em uma unidade completa do vírus e um fragmento adicional do genoma. Os clones resultantes foram confirmados por digestão enzimática com as enzimas HindIII e KpnI, para o DNA-A e DNA-B, respectivamente, e transformados em células de *Agrobacterium tumefaciens*. As sequências foram alinhadas com CLUSTALW (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>) e comparadas com outras sequências.

A PCR para amplificação dos fragmentos 23067A_U1/U2 e 23067B_U1/U2 foi realizada seguindo protocolos específicos com primers correspondentes (Tabela 1) e a enzima Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (New England BioLabs). A reação de PCR para o vetor pJL89 também seguiu um protocolo específico com seus primers e a mesma enzima.

O clone obtido para o fragmento A, transformado, foi extraído de *E. coli* e enviado para sequenciamento na MacroGen® com primers do vetor e internos.

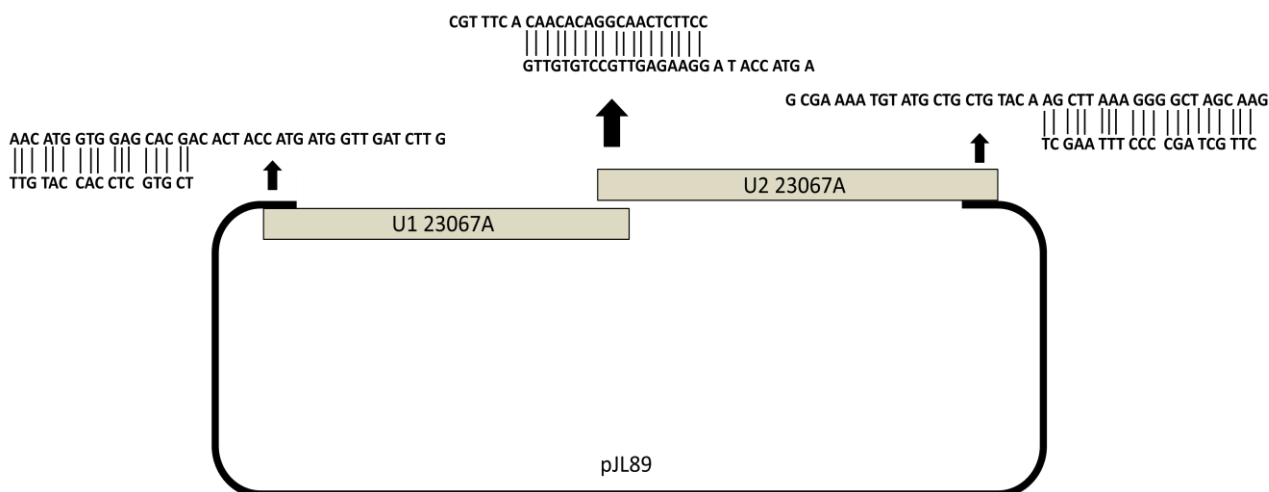


FIGURA 5: Esquema da construção do clone infeccioso do componente “A” utilizando a técnica de Gibson Assembly. A representação visual ilustra a construção que inclui o vetor pJL89 (linha preta) e as unidades virais (retângulos em cinza), formando um dímero com sobreposição nas extremidades das duas unidades. As regiões de sobreposição entre o vetor e as unidades, bem como as unidades díméricas, estão destacadas e indicadas por setas (adaptado de Gibson et al. 2009; Blawid and Nagata 2015).

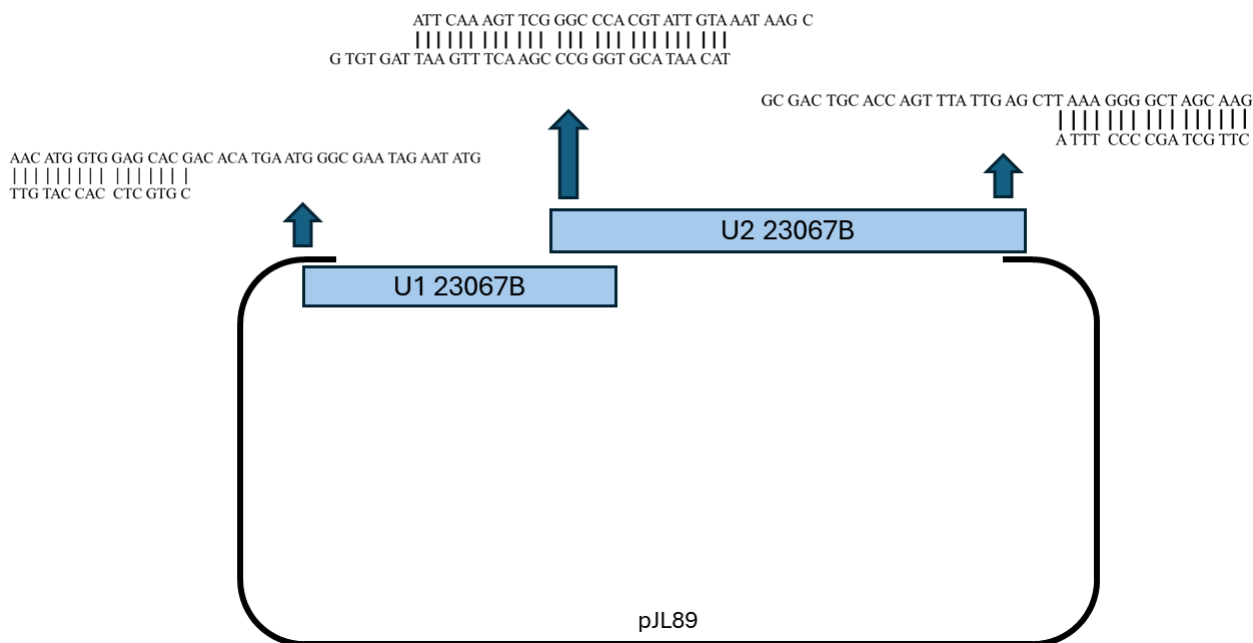


FIGURA 6: Esquema da construção do clone infeccioso do componente “B” utilizando a técnica de Gibson Assembly. A representação visual ilustra a construção que inclui o vetor pJL89 (linha preta) e as unidades virais de uma unidade viral completa e uma unidade viral de 600 bases (retângulos azuis), formando um esquema de 1,4 cópia com sobreposição nas extremidades das duas unidades. As regiões de sobreposição

entre o vetor e as unidades, bem como as unidades, estão destacadas e indicadas por setas (adaptado de (Gibson et al. 2009; Blawid and Nagata 2015)).

3. Análises Filogenéticas

As sequências do genoma foram alinhadas separadamente utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgar 2004) com um conjunto de 501 sequências (sequências de begomovírus descritas e aceitas pelo ICTV) de begomovírus para o componente A e outras 192 sequências para o componente B disponíveis e depositadas nos bancos de dados públicos de sequências. Após o alinhamento, foi realizada a Análise Discriminante de Componentes Principais (Discriminant Analysis of Principal Components, DAPC) utilizando o pacote Adegenet (Jombart 2008) no software R (2024). Todos os componentes principais foram retidos e o melhor número de grupos (k) foi definido utilizando o critério bayesiano (Bayesian Information Criterion, BIC). A intenção de analisar por DAPC foi reduzir o número inicial de genomas previamente a filogenia, de modo a facilitar a visualização da árvore filogenética. Usando a DAPC e o BIC como critério de divisão em grupos, somente o grupo de genomas que continham maior proximidade genética com o genoma do begomovírus isolado de #23067 foram usados posteriormente. O DAPC foi aplicado para o DNA-A e para o DNA-B, separadamente.

Com o grupo de maior proximidade genética identificado por DAPC, foi realizado um novo alinhamento por MUSCLE e a partir deste alinhamento foi construída uma árvore filogenética utilizando o método de Máxima Verossimilhança (Maximum Likelihood, ML) com 10.000 replicações de bootstrap, utilizando o software Iq-tree (Nguyen et al. 2015). O melhor modelo evolutivo para construção da árvore filogenética foi identificado previamente com o ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al. 2017).

Finalmente, as árvores foram visualizadas e editadas utilizando o programa disponível no site do itol (<https://itol.embl.de/>).

As comparações de sequências em pares foram realizadas utilizando o software SDT, versão 1.3 (Muhire et al. 2014). Além disso, a análise no programa RDP 4.43 (Martin et al. 2015), com todas as 501 sequências, foi conduzida para se buscar por possíveis eventos de recombinação presentes no genoma do vírus.

A partir das sequências dos DNAs A e B, foram identificadas as possíveis ORFs (Open Reading Frames) dos genomas utilizando a ferramenta ORF Finder disponível no site do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder>). Além disso, foram realizadas análises para identificar possíveis íterons nos componentes A e B juntamente com as sequências mais próximas a esses isolados virais. As sequências completas desses isolados foram alinhadas utilizando o CLUSTALW (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>) e foram identificados os possíveis íterons próximos à TATA box. Análises das proteínas do vírus foram feitas usando o BlastP (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome#).

4. Agroinoculação dos clones de #23067

Os clones gerados pelo método Gibson Assembly dos componentes A e B foram transformados na cepa de *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 utilizando o protocolo de choque térmico (Morais et al. 2024). Posteriormente, a solução bacteriana foi distribuída em placas de Petri contendo antibióticos específicos (rifampicina e canamicina), resultando no crescimento de colônias individuais. Para cada componente do vírus (A e

B), foram selecionadas três colônias transformadas e cultivadas em meio líquido para avaliar a eficiência da transformação. Após os testes, selecionou-se uma bactéria de cada componente, denominadas 23067_2A e 23067_16B.

As bactérias transformadas de *A. tumefaciens*, cultivadas em meio líquido, foram centrifugadas a 2.655 rcf por 15 minutos para formar um pellet. O pellet foi ressuspendido e diluído em tampão de inoculação contendo MgCl₂, MES, acetoseringona e água destilada, até atingir uma densidade óptica a 600nm de 1,0, conforme recomendado por Hou et al. (1998)

A infectividade dos clones foi avaliada por agroinfiltração em três cultivares de tomateiro: Compack, BRS Sena e Santa Clara, conforme descrito por Hou et al. (1998). As plantas foram semeadas em bandejas de isopor com substrato Carolina Soil® misturado com Basacote plus® 6M. Quando atingiram o estágio de quatro folhas verdadeiras, cerca de quatro semanas após a semeadura, 36 plantas de cada cultivar foram transplantadas para vasos de 0,5L com solo vermelho-amarelo distrófico autoclavado, suplementado com sulfato de amônio. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante todo o experimento.

A inoculação foi realizada em 101 plantas de tomateiro, utilizando uma seringa de 1mL para insulina sem agulha para introduzir aproximadamente 200 µl da solução contendo as agrobactérias com os clones 2A e 16B do vírus, ressuspendidas em tampão para agroinfiltração (MgCl₂, MES, acetoseringona e água destilada), na parte abaxial da segunda folha mais velha. Quatro plantas de tomateiro das três cultivares foram inoculadas com tampão inoculação para servir como controle negativo.

A avaliação das plantas agroinoculadas ocorreu no 30º dia pós-inoculação, quando folhas foram coletadas e seu DNA total extraído pelo método CTAB (Doyle and Doyle

1990). O DNA total foi submetido a um RCA seguido de digestão com a enzima MspI para verificar se o perfil obtido nas plantas agroinfiltradas era o mesmo que o visualizado na planta originalmente infectada na lavoura de tomate.

RESULTADOS

1. Identificação do begomovírus

O DNA extraído de uma planta de tomateiro com sintomas de forte deformação foliar e folhas reduzidas, nomeada de amostra #23067, foi submetido a PCR utilizando primers universais (PAL1v1978 e PAR1c496; e PBL1v2040 e PCRC1 (Rojas et al. 1993)) para detectar os componentes A e B, respectivamente, desse suposto begomovírus. A visualização em gel de agarose a 1% revelou amplicons nos tamanhos esperados para os dois componentes (~1,1 kb para DNA-A e ~0,6 kb para DNA-B), sugerindo que a planta de tomateiro estava infectada com um begomovírus bipartido.

Com base no resultado da PCR, uma reação de RCA foi realizada a partir do DNA total extraído, seguida por digestão com a enzima de restrição MspI. A análise da digestão revelou um padrão específico de bandas digeridas, conforme ilustrado na Figura 7. Em gel de agarose a 1%, foram observados segmentos de DNA com tamanhos aproximados de 1,8, 1,4, 1,0 e 0,7 kb. A soma dos fragmentos (~4,9 kb) sugere a presença de um begomovírus bipartido. Isso indicou que a planta estava infectada com um begomovírus potencialmente distinto, motivando a realização de testes moleculares e biológicos adicionais para a identificação do vírus.

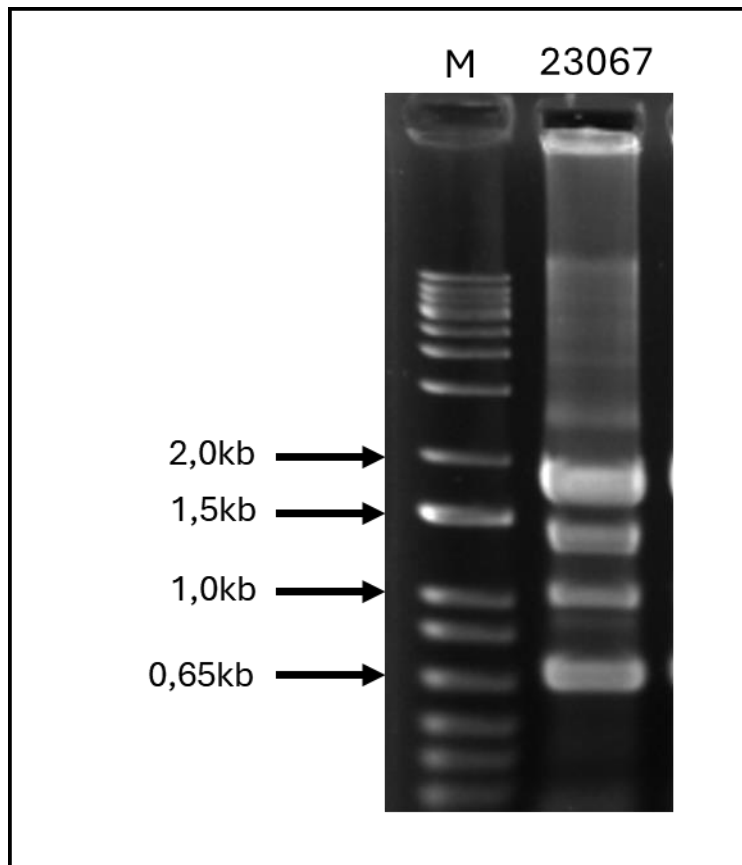


FIGURA 7: Eletroforese em gel de agarose a 1% com o perfil obtido a partir da digestão do produto do RCA da amostra #23067 com a enzima de restrição MspI. São observados fragmentos de DNA de tamanho aproximado a 1,8, 1,4, 1,0 e 0,7 kb. M = marcador 1 kb plus DNA Ladder (Invitrogen); 23067 = amostra de tomateiro infectado com begomovírus.

O RCA obtido a partir do DNA total extraído foi submetido à digestão com oito enzimas diferentes (ApaI, BglII, EcoRI, HindIII, NcoI, PstI, Sall e XhoI). Algumas enzimas apresentaram padrões de não digestão (HindIII, PstI, Sall e XhoI) ou digestão em um único fragmento (ApaI, BglII, EcoRI e NcoI). A enzima ApaI, com sítio de clivagem GGGCCC, foi escolhida para clonagem, pois clivou o genoma em um único ponto (2,6 kb) sem a detecção de moléculas não digeridas, sugerindo que os componentes DNA-A e DNA-B foram digeridos e permitindo a obtenção de fragmentos monoméricos e lineares.

Após a obtenção dos fragmentos de DNA digeridos com *ApaI*, estes foram ligados no plasmídeo pBlueScript SK+ (Stratagene) e eletroporados em *Escherichia coli* (cepa DH10B). Dez colônias brancas foram selecionadas, cultivadas em meio líquido (LB), contendo antibiótico. Das dez colônias, apenas cinco colônias se multiplicaram no meio de cultura. O DNA plasmidial foi extraído por lise alcalina e digerido com *ApaI* para confirmação da clonagem (Figura 8). Duas colônias foram selecionadas, devido ao perfil de digestão esperado, nomeadas como 23067_5 e 23067_7 e o DNA plasmidial foi sequenciado.

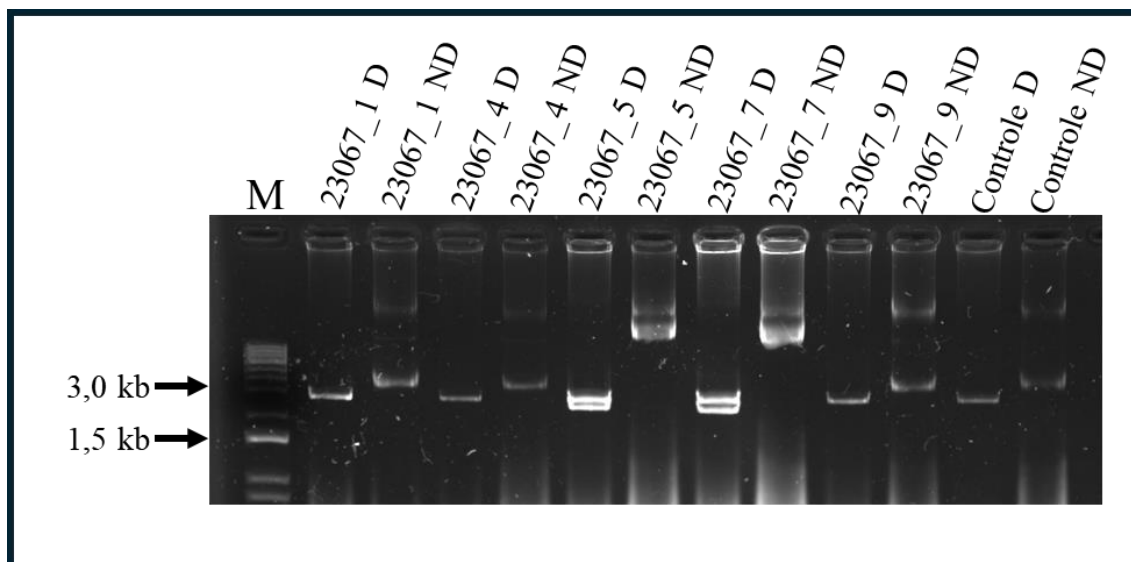


FIGURA 8: Eletroforese em gel de agarose a 1% mostrando o perfil obtido a partir da digestão do DNA plasmidial da clonagem do genoma viral de #23067 com a enzima de restrição *ApaI*. São observados fragmentos de DNA com tamanhos aproximados de 2,6 e 3,0 kb para os plasmídeos selecionados. M = marcador 1 kb plus DNA Ladder (Invitrogen); 23067_1, 23067_4, 23067_5, 23067_7 e 23067_9 = números das colônias selecionadas para crescimento em meio LB. Legenda: D = DNA plasmidial digerido; ND = não digerido.

Os clones 23067_7 e 23067_5, derivados da clonagem monomérica, foram sequenciados utilizando o método de Sanger. No entanto, a sequência do clone 23067_7 foi obtida de forma parcial, apresentando uma lacuna de 130 nucleotídeos na região

correspondente à sequência da CP, impedindo a obtenção da sequência genômica completa. A obtenção do clone infeccioso (dimérico; 2A; descrito abaixo) possibilitou a comparação e a complementação desse fragmento faltante. A avaliação dos genomas completos foi realizada por BLASTn. Para as análises do genoma e filogenéticas, foram utilizadas as sequências do clone 23067_5 e 23067-2A.

Para a produção dos clones infecciosos, as clonagens foram realizadas por Gibson Assembly (Gibson et al. 2009; Blawid and Nagata 2015). Os fragmentos (U1/U2 para os dois componentes virais) amplificados por PCR do RCA do vírus resultaram em clones infecciosos quando inseridos no vetor binário pJL89.

Para o clone dimérico do DNA-A, três colônias foram selecionadas em placas de Petri contendo meio com antibiótico. A clonagem foi confirmada por digestão enzimática com HindIII, que cliva o DNA do clone em dois fragmentos. O perfil da digestão enzimática mostra duas bandas de aproximadamente 2,8 kb e 7,0 kb, representando a soma do dímero viral (5,2 kb) com o vetor pJL89 (4,7 kb), totalizando aproximadamente 9,9 kb (Figura 9).

Para o clone 1,4 cópia do DNA-B, vinte colônias cresceram e foram selecionadas sob as mesmas condições. A clonagem foi confirmada por digestão com a enzima KpnI, que cliva em um ponto, resultando em uma banda de aproximadamente 7,9 kb (soma do clone 1,4 cópia e o vetor pJL89) (Figura 9). Das três colônias do clone dimérico, todas mostraram o perfil esperado de digestão enzimática. Na clonagem do clone 1,4 cópia, apenas duas colônias (15B e 16B) apresentaram o perfil esperado na digestão.

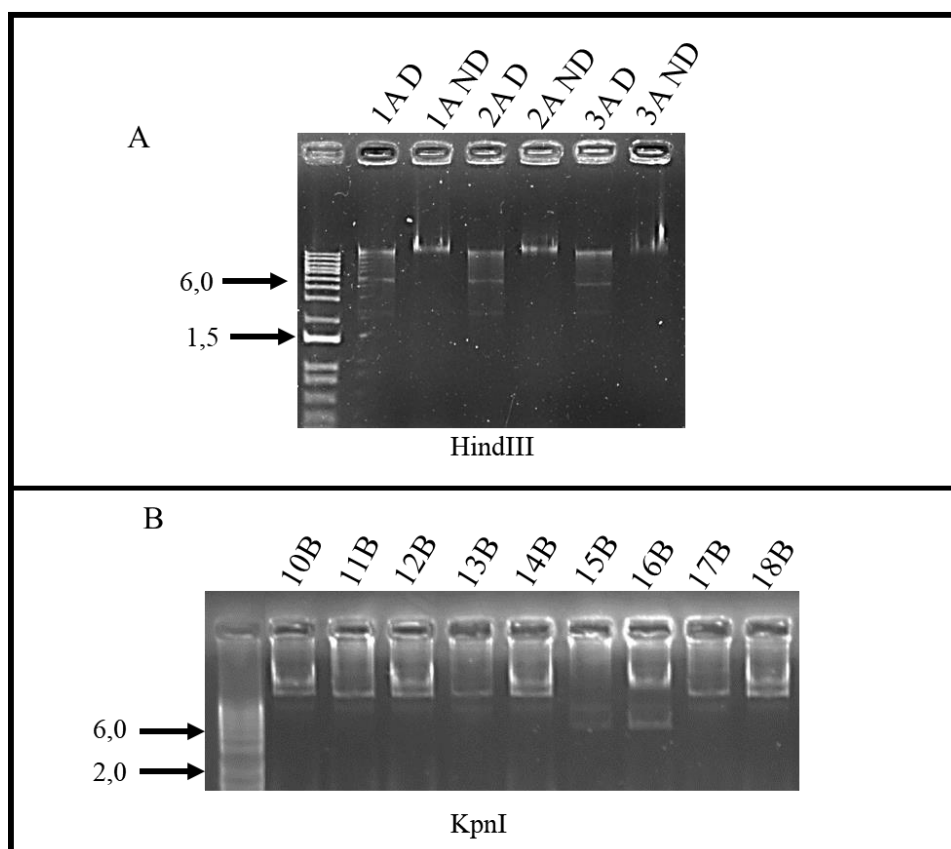


FIGURA 9: Eletroforese em gel de agarose a 1% mostrando o perfil obtido a partir da digestão do DNA plasmidial das clonagens do genoma viral de #23067 com enzimas HindIII (A) e KpnI (B). Na digestão com HindIII, são observadas bandas de aproximadamente 7,0 kb e 2,8 kb, indicando a clonagem do dímero (A). Na digestão com KpnI (B), as bandas de aproximadamente 7,9 kb indicam a clonagem do clone 1,4 cópia. O tamanho do vetor pJL89 é de 4,7 kb.

Os clones produzidos 2A e 3A foram sequenciados pelo método Sanger e alinhados e comparados com a sequência do 23067_7, que, inicialmente, suspeitávamos que apresentava uma lacuna de aproximadamente 130 nucleotídeos. A comparação confirmou nossa hipótese (Figura 10) e permitiu completar a sequência genômica do isolado para as análises filogenéticas. A comparação das duas sequências também revelou a presença de cinco mudanças de nucleotídeos pontuais ao longo de toda a sequência do 23067A.

```

23067_7      TGTGGAGAGTCCAGTTCTTTAGTGAACATTCTCTCTCTCTCCAAGAATGATTTATAAC 1560
23067_2A    TGTGGAGAGTCCAGTTCTTTAGTGAACATTCTCTCTCTCTCCAAGAATGATTTATAAC 1560
*****

23067_7      TGGAACCCCTCTCCTGGATTGCAAAGCACGATTGAGGGAATGCCTCCTTTAATTTGAACTG 1620
23067_2A    TGGAACCCCTCTCCTGGATTGCAAAGCACGATTGAGGGAATGCCTCCTTTAATTTGAACTG 1620
*****

23067_7      GCTTTCGGTATTTACAATTGGACTGCCAGTCCTTCTGGG----- 1659
23067_2A    GCTTTCGGTATTTACAATTGGACTGCCAGTCCTTCTGGGCCCAATCAGCTCTTTCCAGT 1680
*****

23067_7      ----- 1659
23067_2A    GCTTTTCTTTAAATAATCTGGAATGACGTCATCGATGACGTTATACTCCGCTTCATTG 1740

23067_7      -----CCCAGTGCAC 1669
23067_2A    AGTAAACCCTAGAATTTAAATCCAGGTGTCCGCTCAAATAATTATGTGGGCCAGTGCAC 1800
*****

23067_7      GTGCCACATCGTCTTCCCGTTCGACTATCGCCCTCGACGATTATACTAATAGGTCTCT 1729
23067_2A    GTGCCACATCGTCTTCCCGTTCGACTATCGCCCTCGACGATTATACTAATAGGTCTCT 1860
*****

23067_7      CCGGCCGCGCAGCGGCACCTCTACCAAATACTCATCAGCCATTCTTGCATGTCCACCG 1789
23067_2A    CCGGCCGCGCAGCGGCACCTCTACCAAATACTCATCAGCCATTCTTGCATGTCCACCG 1920
*****

```

FIGURA 10: Alinhamento de parte das sequências dos clones monoméricos 23067_7 e do clone dimérico 23067_2A no ClustalW. A imagem ilustra a comparação entre as duas sequências, destacando uma lacuna presente (em amarelo) no clone 23067_7.

Os resultados da análise por BLASTn revelaram que o inserto do clone 23067_2A possuía uma identidade de nucleotídeos de aproximadamente 86,41% com o componente A do begomovírus tomato interveinal chlorosis 2 - ToICV2 (pertencente à espécie *Begomovirus solanumintervenae*), sendo o mais próximo identificado. O clone 23067_5 exibiu uma identidade nucleotídica de 86,08% com o componente B do mesmo begomovírus. Ambas as sequências apresentaram valores de E-value de 0,0, com cobertura de 96% para o componente A (23067_2A) e 100% para o componente B (23067_5). Com base nessas informações, o clone dimérico (23067_2A) será referido como 23067A e o clone 1,4 cópia (23067_5) como 23067B, possuindo um tamanho genômico total de 2.639 nucleotídeos e 2.598 nucleotídeos, respectivamente.

A organização genômica foi analisada e considerada semelhante à dos begomovírus do Novo Mundo. As sequências foram analisadas pela ferramenta

ORFfinder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) para a identificação das ORFs e predição da organização genômica do 23067AB (Figura 11). Na sequência do componente 23067A, foram identificadas as principais ORFs, incluindo Rep (Replication-associated protein) com 1080 nucleotídeos codificando 359 aminoácidos, TrAP (Transcriptional Activator Protein) com 393 nucleotídeos codificando 130 aminoácidos, REn (Replication Enhancer Protein) com 399 nucleotídeos codificando 132 aminoácidos, AC4 com 294 nucleotídeos codificando 97 aminoácidos no sentido anti-viral, e CP (Coat Protein) com 786 nucleotídeos codificando 261 aminoácidos no sentido viral. No componente 23067B, foram identificadas as ORFs das sequências que codificam NSP (Nuclear Shuttle Protein) com 771 nucleotídeos codificando 256 aminoácidos no sentido viral e MP (Movement Protein) com 882 nucleotídeos codificando 293 aminoácidos no sentido anti-viral.

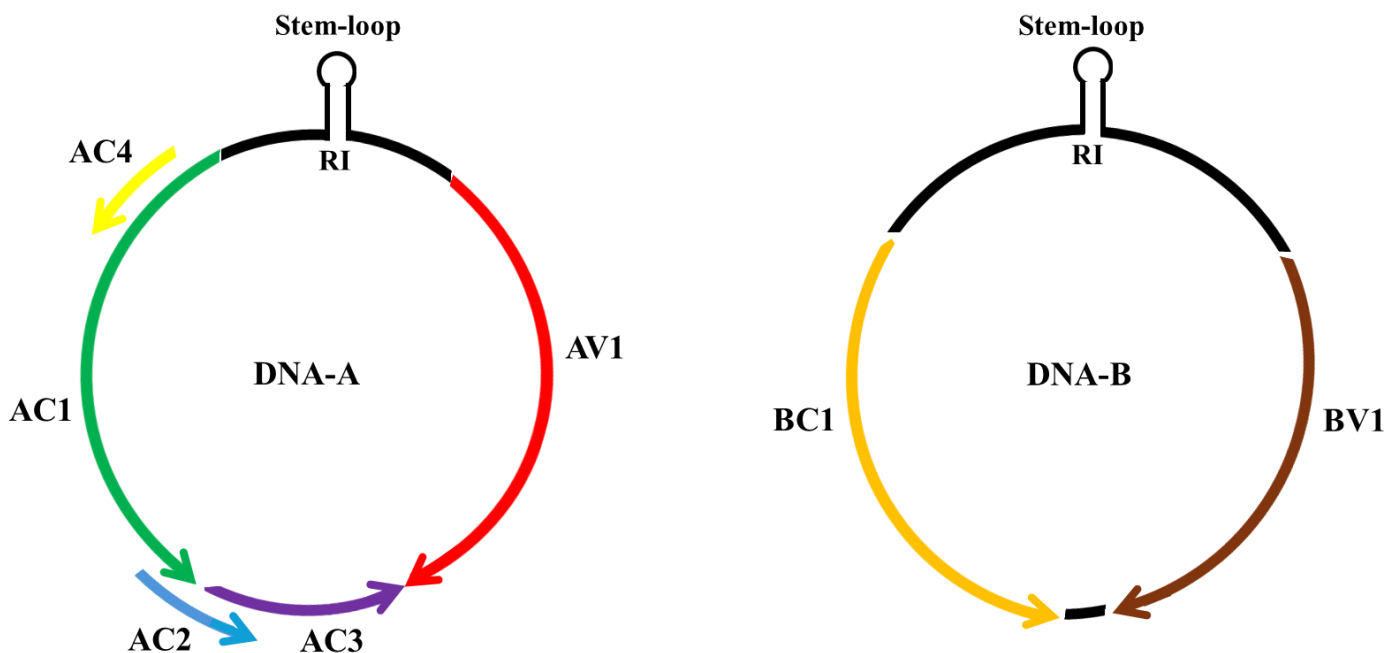


FIGURA 11: Representação esquemática das ORFs dos segmentos A e B do begomovírus 23067. No DNA-A, as ORFs estão distribuídas da seguinte forma: no sentido viral, AV1 (CP; vermelho), e no sentido complementar, AC1 (Rep; verde), AC2 (TrAP; azul), AC3 (REn; roxo) e AC4 (amarelo). No DNA-B, as ORFs são BV1 (NSP; marrom) no sentido viral e BC1 (MP;

dourado) no sentido complementar. As regiões intergênicas do vírus são ilustradas em preto e incluem a região intergênica (RI) e o stem-loop, que contém a origem de replicação (ORI).

A região comum dos dois componentes do 23067 (A e B) possui 191 nucleotídeos e uma identidade nucleotídica de 90,6% (Figura 12). A sequência conservada do nonanucleotídeo geminiviral (5'-TAATATTAC-3') foi identificada em ambos os componentes, localizada na estrutura estável conhecida como stem-loop, que marca o local de clivagem do DNA para o início da replicação. Além disso, os possíveis sítios de ligação da Rep (ítérons), situados próximos ao TATA box, foram encontrados em ambos os segmentos com as sequências GGTGA e GGTGT. Esses resultados sugerem fortemente que os dois componentes pertencem ao mesmo vírus.

```
23067_A      AAACGAAATCGTTTTGGTGG-----TGGCATATTTGTAAATAAAATGGATGTCACCAA
23067_B      TGGTAGGGGCATTGTTGTAAATAATAAAATGGCAGTCTTGTAAATAAAATGGATGTCACCAA
                *  *  *  *  *                *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

23067_A      TTGAGCTCTCTCAAACCTTGCTCTAGCAATCGGTGAATTGGTGTACAAATATACTAGAAC
23067_B      TTGAGCTCTCTCAAACCTTGCTCTGGCAATCGGTGAATTGGTGTACAAATATATAGTAGAAG
                *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

23067_A      CCTCAATAGAACTCTCAATCTGGGTCACACACGTGGCGGCCATCCGTTATAATATT
23067_B      GCTCAATAGAACTCTCAATCTTGGACACACACGTGGCGGCCATCCGTTATAATATT
                *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *
```

FIGURA 12: Alinhamento dos componentes A e B do genoma do begomovírus detectado na amostra #23067. Os asteriscos indicam a identidade nucleotídica da região comum entre as duas sequências. Em roxo: possível sequência invertida do possível íteron das duas sequências. Em verde: possível íteron das duas sequências. Em azul: Região TATA BOX.

Esses possíveis íterons não foram identificados nas sequências do tomato interveinal chlorosis virus 2. Além disso, outros isolados de begomovírus próximos ao isolado 23067 também apresentaram sequências diferentes (Figura 13).

```

23067A      CTAGCAATC SGTGAATT GGTGT ACAATA TATACTAGAACCTCAATAGAACTCTCAATCT
23067B      CTGGCAATC SGTGAATT GGTGT ACAAGA TATAGTAGAAGGCTCAATAGAACTCTCAATCT
ToICV2A_MK087038  GCTATGAAC GGTAGTAT GGTAG CTCGGT TATATAGTGAAG-----TTCCTTAAAGC
ToICV2B_MK087039  GTTATGAAC GGTAGTAT GGTAG CTCGGT TATATAGT-----GAAGTTCCTTAAAGC
ToMoLDiVA_MW561191  ACTGGCAAA TGTAACCT TGTACC ATTA TATAGAAGTCCC-----CTTAATCTT
ToMoLDiVB_MW650837  CTGGCAAAA TGTAACCT TGTACC --CAT TATAGAAG-----TCCCCTTAATCTT
ToGLDV_HM357456    CCTAGAATC GGTGTAAA GGGGT ACATTA TACTTGAACCCTCATTAGAACTTTCAATTT

```

FIGURA 13: Alinhamento das sequências genômicas parciais de vírus próximos ao #23067, destacando os potenciais íterons do 23067 (verde), íterons dos componentes A e B do tomato interveinal chlorosis virus 2 (azul), íterons dos componentes A e B do tomato mottle leaf distortion virus (cinza) e do componente A do tomato golden leaf distortion virus (roxo). As sequências do TATA box dos isolados virais estão destacadas em amarelo. Os números de acesso no GenBank® para os vírus estão indicados juntamente com o acrônimo viral, após o componente genômico.

Uma análise individual de cada ORF foi realizada com o SDT para avaliar a identidade de nucleotídeos e de amino ácidos entre as ORFs do #23067 e os 10 vírus mais próximos, baseado na análise de BLASTn (Tabela 2). Os resultados revelaram que a sequência completa do 23067A apresenta 86,24% de identidade nucleotídica com o DNA-A do tomato interveinal chlorosis virus 2, enquanto a sequência 23067B exibe 86,47% de identidade nucleotídica com o DNA-B do mesmo vírus, o begomovírus mais próximo aos componentes identificados.

Todos os vírus descritos na Tabela 2 foram encontrados infectando solanáceas. A identidade total de nucleotídeos do 23067 varia de 78% a 86% quando comparado com esses isolados. As maiores taxas de identidade de sequência de nucleotídeos (total, CP e REn) foram observadas com o ToICV2, confirmando a análise de BLASTn, em que esse vírus foi identificado como o vírus mais próximo desse isolado.

A Tabela 2 destaca que as sequências das ORFs Rep, TrAP e AC4 apresentaram altas taxas de identidade nucleotídica com os vírus tomato golden leaf distortion virus

(ToGLDV), tomato mosaic severe dwarf virus (ToMSDV) e pepper blistering leaf virus (PepBLV). Em termos de identidade de sequência de aminoácidos, as maiores taxas foram observadas com os vírus ToICV2, tomato vein clearing leaf deformation virus (ToVCLDV) e PepBLV. Curiosamente, o vírus ToGLDV apresentou baixas taxas de identidade de aminoácidos, apesar de sua alta taxa de identidade de nucleotídeos (Tabela 4). Essa análise revela que o vírus ToICV2 possui as maiores identidades em várias ORFs, indicando uma alta identidade genômica com o isolado 23067. As proteínas CP e Rep são particularmente conservadas, com alta identidade tanto em nucleotídeos quanto em aminoácidos. Em contrapartida a taxa de nucleotídeos e aminoácidos da orf AC4 é a menor se comparada as altas taxas de identidade com o ToICV2.

TABELA 2: Porcentagem de identidade nucleotídica e de aminoácidos do genoma completo e das ORFs AV1 (CP), AC1 (Rep), AC2 (TrAP), AC3 (REn) e AC4 do isolado 23067 com os begomovírus mais próximos ao componente A do vírus.

Begomovírus	Total nt	CP		Rep		TrAP		REn		AC4	
		nt	aa	nt	aa	nt	aa	nt	aa	nt	aa
Tomato interveinal chlorosis virus 2	86,24	91,69	95,23	81,86	81,03	89,23	80,62	92,23	88,63	77,13	54,11
Tomato golden leaf distortion virus	85,62	85,89	93,71	85,30	45,48	86,40	55,88	90,22	86,36	89,25	57,74
Tomato mottle leaf distortion virus	83,06	85,90	90,87	80,52	83,09	86,04	79,84	89,47	84,84	84,35	65,97
Pepper blistering leaf virus	82,28	84,92	91,63	81,77	82,71	84,10	73,64	88,97	84,09	92,15	77,64
Tomato vein clearing leaf deformation virus	82,20	82,93	86,45	83,23	84,83	84,35	89,76	87,71	84,09	89,00	73,19
Tomato mottle leaf curl virus	80,51	81,48	87,25	81,53	84,04	83,58	73,64	86,46	81,06	85,03	74,22
Solanum mosaic Bolivia virus	79,70	79,83	85,82	80,05	82,58	84,10	74,41	87,21	83,33	88,20	75,38
Tomato leaf curl purple vein virus	79,69	82,01	89,64	78,65	76,40	82,05	71,31	83,95	81,81	69,80	40,47
Tomato mosaic severe dwarf virus	78,75	87,61	94,44	69,44	64,97	90,25	83,72	90,72	86,36	56,29	23,95
Tomato golden vein virus	78,59	79,56	86,23	77,37	80,72	79,74	68,21	84,21	78,78	84,31	62,35

O gênero *Begomovirus* abriga mais de 500 espécies catalogadas no NCBI. Para realizar uma análise comparativa, foi criado um arquivo FASTA contendo a sequência genômica de begomovírus aceitos e depositados na plataforma. A partir desse arquivo, foi feita uma filtragem para selecionar as sequências de begomovírus mais próximas ao 23067A e 23067B, permitindo um estudo mais aprofundado. Para as análises, utilizou-se o critério bayesiano para determinar o número ideal de clusters (k) em que as amostras dos componentes do vírus (23067A e 23067B) poderiam ser divididas. Esse método permitiu agrupar as espécies virais mais próximas em clusters distintos, diferenciando-as das demais espécies. As análises por BIC (Figura 14A e 14B) revelaram que o número ideal de grupos para divisão do alinhamento completo do DNA-A ($N = 501$) no qual possui uma maior similaridade entre grupos e ao mesmo tempo uma maior dissimilaridade entre grupos foi de $k=9$. Para o DNA-B ($N = 193$), o melhor k foi de 4. Apenas o grupo contendo as sequências de DNA-A (Figura 14C) e DNA-B (Figura 14D) foram utilizadas para a análise genômica e filogenética, sendo a primeira contendo 101 sequências e a segunda 98 sequências para DNA-A e DNA-B, respectivamente.

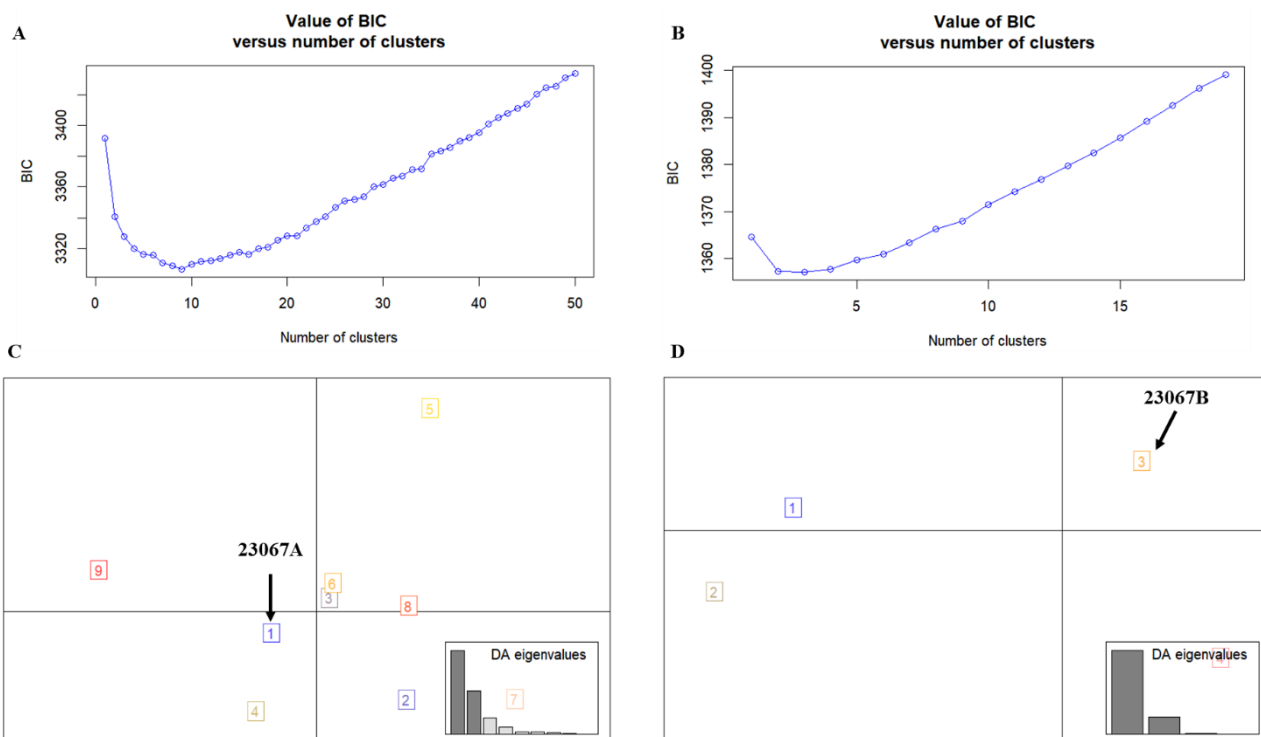


FIGURA 14: Análise do Critério de Informação Bayesiano (BIC) para os componentes A (A) e B (B) do vírus do isolado 23067, com divisão em quadrantes e clusters na análise discriminante de componentes principais para os componentes A (C) e B (D). As setas indicam o grupo em que os componentes do 23067 foram classificados.

Após a análise de BIC e a divisão dos clusters, o 23067A e o 23067B foram posicionados nos clusters 1 e 3, respectivamente. Para a construção da árvore filogenética, foram utilizadas as mesmas sequências que se agruparam com cada segmento. Nas análises filogenéticas realizadas pelo método de Máxima Verossimilhança, as árvores foram geradas com 10.000 repetições de bootstrap, empregando o modelo Akaike Information Criterion tanto para o DNA-A quanto para o DNA-B.

A sequência do DNA-A de 23067 (Figura 15) agrupou-se com a correspondente de ToICV2 e de ToGLDV com alta taxa de suporte e também com suporte mais baixo com outros begomovírus encontrados no Brasil, a maioria detectados em solanáceas, incluindo alguns vírus monopartidos.

O DNA-B do 23067 também se agrupou com o DNA-B do ToICV2, além do ToMSDV (Figura 16). O DNA-B do ToGLDV não foi incluído na árvore, pois não há sequência disponível do segmento B para esse vírus. O segmento A do ToMSDV foi agrupado em outro cluster segundo a análise de DAPC, por esse motivo não aparece na árvore do componente A do 23067.

Os resultados indicam que o 23067AB está intimamente relacionado aos begomovírus de tomateiro, como ToICV2, ToGLDV, ToLCPVV e ToMSDV. O ToICV2, em particular, foi descrito a partir de uma amostra coletada na mesma região em 2015 (Rego-Machado et al. 2019), indicando terem esses vírus evoluído a partir de um mesmo ancestral presente na região.

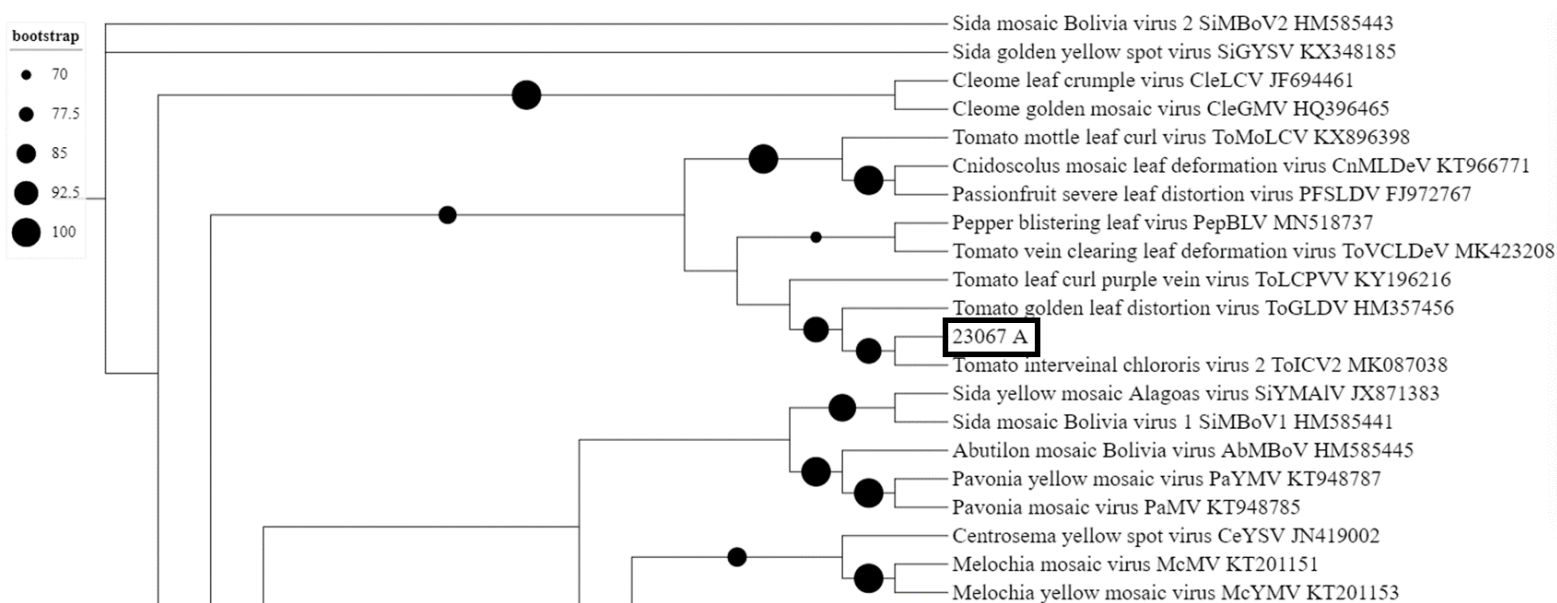


FIGURA 15: Representação de parte da árvore filogenética enraizada no midpoint do 23067A e dos begomovírus mais próximos, gerada pelo método de Máxima Verossimilhança (10.000 réplicas), utilizando o software IQ-TREE (Nguyen et al. 2015) com o modelo Akaike Information Criterion. Os valores de bootstrap estão incluídos na legenda e a sequência do 23067_A encontra-se destacada com retângulo preto. A árvore filogenética completa do 23067A está incluída nos anexos.

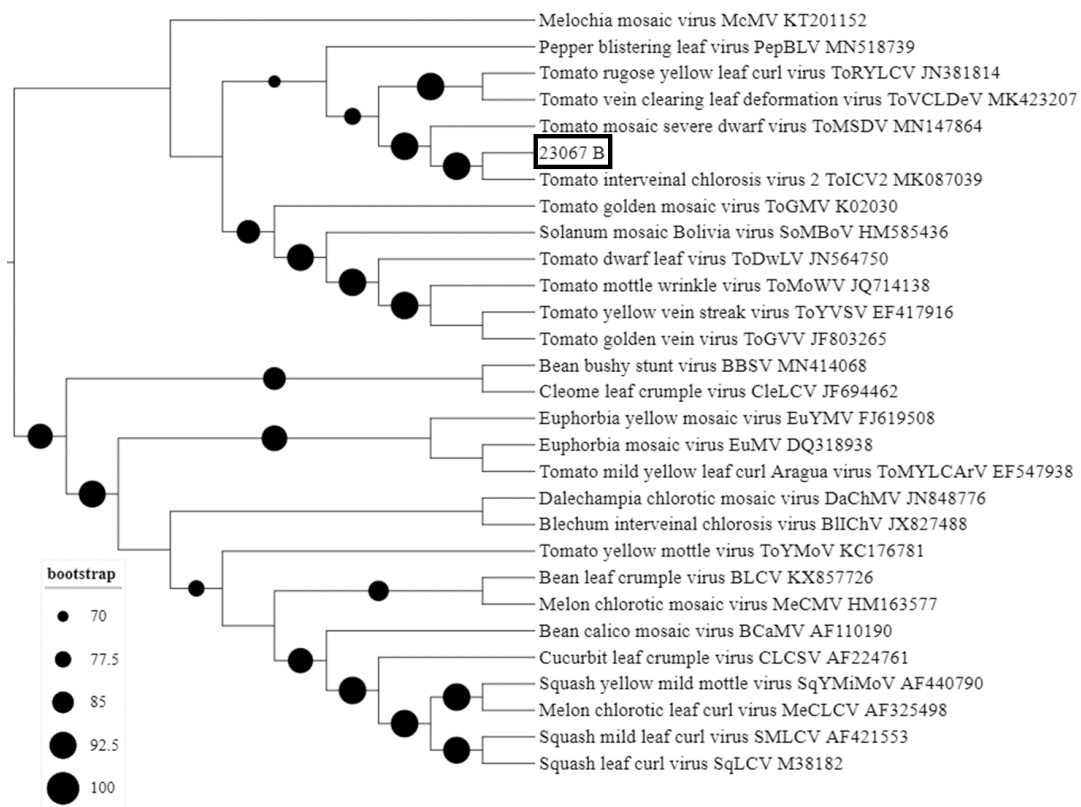


FIGURA 16: Representação de parte da árvore filogenética enraizada no midpoint do 23067B e dos begomovírus mais próximos, gerada pelo método de Máxima Verossimilhança (10.000 réplicas), utilizando o software IQ-TREE (Nguyen et al. 2015) com o modelo Akaike Information Criterion. Os valores de bootstrap estão incluídos na legenda. A árvore filogenética completa do 23067B está incluída nos anexos.

Uma análise no programa RDP 4.43 (Martin et al. 2015) foi realizada para detectar possíveis eventos de recombinação nos segmentos DNA-A e DNA-B do 23067, utilizando as 501 sequências encontradas no banco de dados (NCBI). Nenhuma evidência de recombinação foi observada.

2. Inoculação dos clones infecciosos

Os clones 2A e 16B foram inseridos em *Agrobacterium tumefaciens* por choque térmico e verificados por digestão enzimática. Após o crescimento das bactérias, estas foram centrifugadas separadamente e ressuspensas em tampão de inoculação, ajustadas para uma OD de 1,0.

Os clones infecciosos (A e B) foram combinados e inoculados em 101 plantas de tomateiro pertencentes a três cultivares: Santa Clara, BRS Sena e Compack. Para o controle negativo, quatro plantas de cada cultivar foram utilizadas e agroinfiltradas apenas com tampão de inoculação. Os primeiros sintomas, incluindo clorose de nervura e deformação foliar, foram observados 28 dias após a agroinoculação nas três cultivares (Figura 17). Este aparecimento tardio de sintomas é atípico para espécies de begomovírus, uma vez que é sabido que os sintomas geralmente começam a aparecer na segunda semana após a inoculação do vírus ou a exposição ao inseto vetor virulífero.

Durante o experimento, após trinta dpi, houve um ataque de oídio às plantas de tomateiro agroinfiltradas e algumas folhas foram removidas para ajudar no controle do fungo. Após a aplicação de uma solução à base de leite a 2% para controlar o oídio, as folhas cresceram novamente e desenvolveram sintomas mais fortes da infecção viral. Cinquenta dias após a agroinoculação, observamos sintomas nas plantas inoculadas semelhantes aos registrados em campo, incluindo pontos cloróticos, clorose de nervuras, bolhosidade, nanismo, folhas pequenas e forte deformação foliar (Figura 18).

Trinta dias após a inoculação, o DNA foi extraído pelo método CTAB, e a detecção do vírus foi realizada por RCA, seguida de digestão com a enzima MspI. Em 60% das plantas, o perfil típico de fragmentos de DNA (1,8; 1,4; 1,0; 0,7 kb) idêntico ao da amostra coletada no campo foi observado, enquanto no restante das plantas o perfil

foi ligeiramente distinto sugerindo a potencial ocorrência de mutações de ponto em algum dos sítios de restrição MspI e não semelhante a outros perfis de begomovírus já conhecidos. Do total de 101 plantas inoculadas, 88 foram infectadas, sendo 29 de 33 plantas da cultivar Santa Clara, 25 de 32 de BRS Sena e 34 de 36 de Compack (Figura 19) e os controles negativos não apresentaram presença de bandas ou amplicons durante as análises moleculares.



FIGURA 17: Tomateiro da cultivar Compack agroinfiltrado com os clones infecciosos do tomate severe deformation virus (2A e 16B), 28 dias pós inoculação, apresentando sintomas iniciais da infecção por begomovírus, como clorose de nervura e deformação foliar.

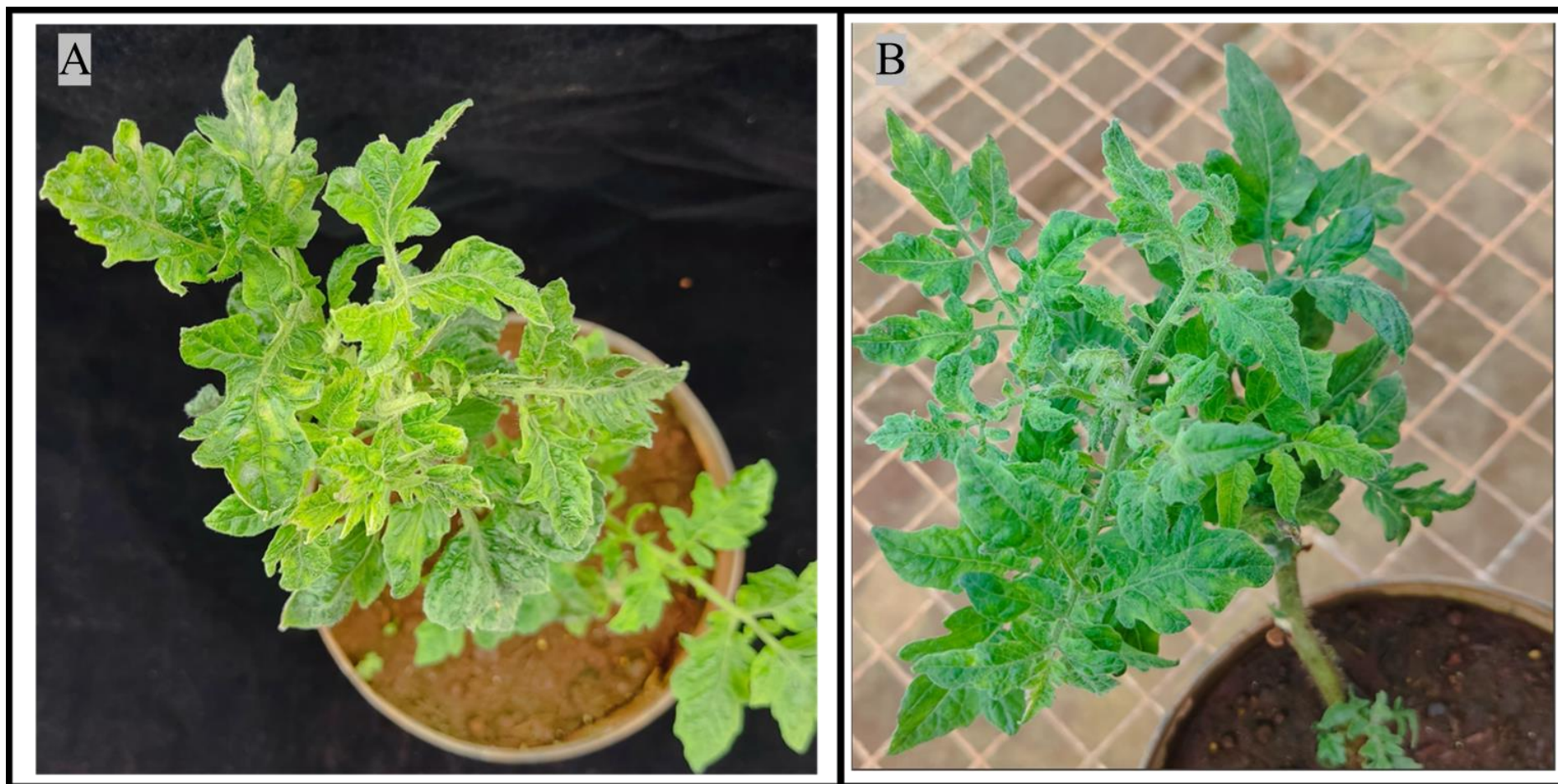


FIGURA 18: Tomateiros das cultivares Compack (A) e BRS Sena (B) agroinfiltrados com os clones infecciosos do tomate severe deformation virus (2A e 16B), 50 dias pós inoculação, apresentando sintomas típicos da infecção, como pontos cloróticos, clorose de nervuras, forte deformação foliar, bolhosidade, nanismo, folhas pequenas.



FIGURA 19: Tomateiro infectadas com os clones infecciosos do tomate severe deformation virus (2A e 16B). A Figura 19A mostra uma planta da cultivar BRS Sena 50 dias após a inoculação (dpi), apresentando sintomas de pontos cloróticos, clorose de nervuras, deformação foliar forte, bolhosidade, nanismo e folhas pequenas. A Figura 19B mostra uma planta da cultivar Santa Clara 40 dpi, exibindo sintomas de forte deformação foliar.

DISCUSSÃO

No Brasil, as begomoviroses tornaram-se uma séria ameaça ao cultivo do tomateiro após a introdução da mosca-branca MEAM1 na década de 1990 (Lourenção and Nagai 1994; Ribeiro et al. 1998). A partir disso, diversas espécies começaram a ser descritas em lavouras de tomateiro (Ribeiro et al. 2003, 2007; Fernandes et al. 2006; Andrade et al. 2006; Calegario et al. 2007; Castillo-Urquiza et al. 2008). Atualmente, as begomoviroses são uma das principais causadoras de prejuízos em plantas de tomateiro, resultando em consideráveis perdas econômicas no Brasil (Inoue-Nagata et al. 2016). Novas espécies de begomovírus estão surgindo continuamente em todo o mundo (Garrido-Ramirez et al. 2000; Glick et al. 2009; Inoue-Nagata et al. 2016; Macedo et al. 2018; Ouattara et al. 2020; Khadim Hussain et al. 2022). Alguns fatores podem estar associados à alta diversidade viral encontrada, por exemplo a alta capacidade desses vírus de mutar, recombinar e pseudorecombinar (Padidam et al. 1999; Seal et al. 2006; Lima et al. 2017).

Neste estudo, relatamos a descoberta de uma nova espécie de begomovírus em uma planta de tomateiro rasteiro em Cristalina, que apresentava sintomas como pontos cloróticos, clorose de nervura, bolhosidade, forte deformação foliar, nanismo e redução da área foliar, sintomas associados a uma infecção por begomovírus (Inoue-Nagata et al. 2016). A presença de sintomas típicos, combinados com um padrão de bandas distinto produzido pelo RCA-RFLP do DNA viral extraído dessa, sugeriu que o vírus em questão poderia pertencer a uma nova espécie, dado que begomovírus frequentemente causam deformações foliares (Melgarejo et al. 2013).

O sintoma mais característico dessa nova espécie viral é a forte deformação foliar. Esse sintoma é incomum entre as espécies de begomovírus observadas em campos de tomateiro, onde os sintomas mais comuns são clorose, clorose de nervura, redução da área foliar, nanismo e deformações foliares menos acentuadas. A planta originalmente infectada foi encontrada em uma lavoura de tomateiro para processamento com alta incidência do begomovírus ToSRV (dados não mostrados), que causa sintomas distintos desse novo vírus.

Essa descoberta acrescenta uma nova espécie ao catálogo de begomovírus brasileiros que infectam o tomateiro, atualmente composto por 29 espécies reconhecidas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) (Flores et al. 1960; Faria et al. 1997; Jovel et al. 2004; Fernandes et al. 2006, 2008; Andrade et al. 2006; Ribeiro et al. 2007; Cotrim et al. 2007; Castillo-Urquiza et al. 2008; Tavares et al. 2012; Barreto et al. 2013; Macedo et al. 2018; Quadros et al. 2019; Rego-Machado et al. 2019; Duarte et al. 2021; NCBI 2024). Essas espécies estão distribuídas em vários estados brasileiros, com destaque para o estado de Goiás, onde begomovírus como ToSRV, tomato interveinal chlorosis virus (ToICV) e ToICV2 foram identificadas (Cotrim et al. 2007; Albuquerque et al. 2012; Rego-Machado et al. 2019). O tomato mottle leaf curl virus (ToMoLCV), encontrado no Distrito Federal, fronteira com Goiás, é outro exemplo relevante (Souza et al. 2020). A identificação de uma nova espécie de begomovírus pode indicar a contínua emergência de novas espécies infectando tomateiros no estado de Goiás.

As análises de comparação da sequência do genoma (Tabela 4) e BLASTn revelaram ~86% de identidade nucleotídica para o DNA-A e ~86% para o DNA-B com o ToICV2. Além disso, o vírus agrupou-se em um clado na árvore filogenética com o ToICV2 (Figuras 15 e 16), juntamente com outros begomovírus brasileiros. Esses resultados sugerem a classificação do vírus identificado na amostra #23067 como

membro de uma nova espécie, conforme os critérios de demarcação de um novo begomovírus que estabelece identidade nucleotídica inferior a 91% (Brown et al. 2015)

A frequente emergência de novos begomovírus na região (Cotrim et al. 2007; Mituti et al. 2019; Rego-Machado et al. 2019; Souza et al. 2020) indica a alta ocorrência de mecanismos de variação genômica entre os begomovírus e um sistema de ambiente e hospedeiros permissivos para a riqueza da diversidade viral. No entanto, nenhuma evidência de evento de recombinação foi observada nas análises realizadas no RDP 4, sugerindo que a origem do novo begomovírus se deve a outro fenômeno, possivelmente mutações. Já a diferença nos íterons pode apontar que componentes desse novo vírus não pseudo-recombinam com os outros begomovírus mais próximos.

A análise estrutural e funcional das ORFs nos componentes A e B revelou a presença de genes essenciais para a replicação e encapsidação do vírus, como Rep, TrAP, REn, AC4 e CP no DNA-A (Figura 11), e genes cruciais para a movimentação intra e intercelular, como NSP e MP no DNA-B (Figura 11). Isso confirma a organização genômica típica de begomovírus bipartido do Novo Mundo, com a ausência da V2.

A comparação das sequências de aminoácidos das proteínas CP, MP, NSP, Rep, REn, TrAP e AC4 do vírus (Tabela 2) mostrou altas identidades com begomovírus relacionados, especialmente com os vírus descritos em tomateiro, como o ToICV2, que apresentou uma das maiores taxas de identidade nucleotídica e de aminoácidos. As taxas de identidade de nucleotídeos com o tomato golden leaf distortion virus (ToGLDV; acesso HM357456) são altas. Curiosamente, baixas taxas de identidade de aminoácidos foram observadas com esse mesmo vírus (Tabela 2). Especula-se que pode haver algum erro na determinação da sequência, que precisa ser confirmada. Outro ponto a considerar é que não há disponível a sequência do DNA-B do ToGLDV, portanto não se sabe se é

um begomovírus bipartido ou monopartido. Já o vírus que apresentou maior identidade com o vírus da amostra #23067, ToICV2, é um begomovírus descrito como bipartido.

A região comum entre os dois segmentos do vírus possui aproximadamente 191 nucleotídeos e uma identidade de 90,6% (Figura 11). Elementos estruturais conservados, como o nonanucleotídeo geminiviral e os possíveis íterons iguais (GGTGA e GGTGT), próximos ao TATA box nos segmentos A e B, reforçam a hipótese de que ambos pertencem à mesma espécie viral, já que são essenciais para a replicação eficiente do vírus (Laufs et al. 1995). Em comparação com vírus já relatados na mesma área (Rego-Machado et al. 2019; Souza et al. 2020), os íterons apresentaram divergência na identidade de sequência (Figura 12).

Os clones infecciosos (2A e 16B) foram agroinfiltrados em plantas de tomateiro, que após infectados exibiram sintomas semelhantes aos encontrados em campo (Figuras 17, 18 e 19), como pontos cloróticos, clorose de nervuras, forte deformação foliar, nanismo e redução da área foliar. Esse conjunto de técnicas possibilitou a conclusão dos postulados de Koch e confirma que o vírus encontrado na amostra é o responsável pelos sintomas observados na planta coletada. O nome tomato severe deformation virus, com acrônimo TSDV, é proposto para este vírus, membro da espécie sugerida como *Begomovirus solanumacutadeformationis*.

A detecção do vírus TSDV (A e B) em cultivares de tomate suscetíveis a begomovírus, como H1301, Santa Clara e Compack, evidenciou sua capacidade de infectar o tomateiro e causar sintomas severos, o que destaca a importância de monitorar continuamente as espécies de begomovírus que estão surgindo na agricultura.

A cultivar de tomate BRS Sena é conhecida por apresentar uma resistência moderada aos begomovírus (Quezado-Duval et al. 2014). Essa cultivar foi testada em

ensaios para verificar se o vírus é capaz de superar essa resistência. O ensaio indicou uma taxa de infecção de aproximadamente 75% (24/32 plantas) nas plantas de tomateiro da cultivar BRS Sena, sugerindo uma possível superação da resistência. No entanto, comparada às outras duas cultivares, Santa Clara e Compack, que são suscetíveis ao begomovírus, a BRS Sena apresentou a menor taxa de infecção. As cultivares Santa Clara e Compack mostraram taxas de infecção de cerca de 87% (29/33 plantas) e 95% (34/36 plantas), respectivamente, por esse vírus.

A resistência genética é a principal estratégia de controle para begomovírus. No entanto, a possível capacidade do TSDV, um begomovírus bipartido, de superar essa resistência na cultivar BRS Sena destaca a urgência de desenvolver novos materiais. É crucial determinar se esse vírus pode superar a resistência em diferentes híbridos de tomateiro a fim de evitar que ele se torne uma ameaça para os tomaticultores no futuro.

Ensaio de gama de hospedeiros precisam ser conduzidos para determinar a capacidade do TSDV de infectar outras espécies de plantas. Além disso, realizar ensaios de transmissão pelo inseto vetor *Bemisia tabaci* MEAM1 e MED é fundamental para determinar o inseto-vetor dessa espécie de begomovírus. O desenvolvimento de novas medidas de controle é indispensável para fortalecer a defesa contra esses vírus que afetam severamente as plantações de tomateiro.

CONCLUSÃO

Foi descoberta uma nova espécie de begomovírus com genoma bipartido infectando tomateiros da cultivar suscetível H1301 em uma lavoura de Cristalina, Goiás. O vírus foi denominado tomato severe deformation virus (TSDV) e proposto como pertencente à espécie *Begomovirus solanumacutadeformationis*. Embora na região do Goiás predomine o begomovírus ToSRV, nossas análises revelaram a presença dessa nova espécie de begomovírus, o que acende um alerta para a emergência de novos vírus na área. Além do TSDV, também foram identificadas outros begomovírus previamente descritos na região, como o tomato interveinal chlorosis virus 2 (ToICV2), intimamente relacionado ao TSDV (Rego-Machado et al., 2019), e o tomato mottle leaf distortion virus (ToMoLDiV), detectado em área próxima (Martins et al. 2021).

Os clones produzidos de TSDV foram infectivos, causando sintomas severos de clorose de nervuras, pontos cloróticos, forte deformação foliar, nanismo e redução da área foliar em plantas avaliadas após a agroinoculação dos clones infecciosos (2A e 16B).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams MJ, Adkins S, Bragard C, et al (2017) ICTV Virus Taxonomy Profile: Virgaviridae. *J Gen Virol* 98:1999–2000. <https://doi.org/10.1099/JGV.0.000884>
- Andrade EC, Manhani GG, Alfenas PF, et al (2006) Tomato yellow spot virus, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. *Journal of General Virology* 87:3687–3696. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82279-0>
- Ascencio-Ibañez JT, Settlage SB (2007) DNA abrasion onto plants is an effective method for geminivirus infection and virus-induced gene silencing. *J Virol Methods* 142:198–203. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.01.031>
- Bahder BW, Zalom FG, Jayanth M, Sudarshana MR (2016) Phylogeny of Geminivirus Coat Protein Sequences and Digital PCR Aid in Identifying *Spissistilus festinus* as a Vector of Grapevine red blotch-associated virus. *Phytopathology* 106:1223–1230. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-16-0125-FI>
- Barreto SS, Hallwass M, Aquino OM, Inoue-Nagata AK (2013) A Study of Weeds as Potential Inoculum Sources for a Tomato-Infecting Begomovirus in Central Brazil. *Phytopathology* 103:436–444. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-12-0174-R>
- Batista JG, Melo FL, Pereira-Carvalho RC, et al (2019) First Report of Tomato Apical Leaf Curl Virus Infecting Tomato in Brazil. *Plant Dis* 103:1443. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1636-PDN>
- BEDFORD ID, BRIDDON RW, BROWN JK, et al (1994) Geminivirus transmission and biological characterisation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. *Annals of Applied Biology* 125:311–325. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1994.tb04972.x>
- Bello VH, Watanabe LFM, Fusco LM, et al (2020) Outbreaks of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in vegetable crops in São Paulo and Paraná States, Brazil. *Bull Entomol Res* 110:487–496. <https://doi.org/10.1017/S0007485319000841>

- Bian X-Y, Thomas MR, Rasheed MS, et al (2007) A Recessive Allele (*tgr-1*) Conditioning Tomato Resistance to Geminivirus Infection Is Associated with Impaired Viral Movement. *Phytopathology* 97:930–937. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-8-0930>
- Blawid R, Nagata T (2015) Construction of an infectious clone of a plant RNA virus in a binary vector using one-step Gibson Assembly. *J Virol Methods* 222:11–15. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2015.05.003>
- Boiteux LS, Oliveira VR, Silva CH, et al (2007) Reaction of tomato hybrids carrying the Ty-1 locus to Brazilian bipartite Begomovirus species. *Hortic Bras* 25:20–23. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362007000100005>
- Bondar G (1928) Aleyrodideos do Brasil. Boletim do laboratório de patologia vegetal do estado da Bahia, Bahia
- Bosco D, Loria A, Sartor C, Cenis JL (2006) PCR-RFLP identification of *Bemisia tabaci* biotypes in the Mediterranean Basin. *Phytoparasitica* 34:243–251. <https://doi.org/10.1007/BF02980951>
- Boteon M, Deleo JPB, Moreira MM (2020) HORTIFRUTI/CEPEA: Tomaticultura em números
- Brandão Filho JUT, Freitas PSL de, Berian LOS, Goto R (eds) (2018) Hortaliças-fruto. EDUEM
- Briddon RW, Ghabrial S, Lin NS, et al (2012) Satellites and other virus-dependent nucleic acids. ” in *Virus Taxonomy - Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, New York
- Briddon RW, Mansoor S, Bedford ID, et al (2001) Identification of DNA Components Required for Induction of Cotton Leaf Curl Disease. *Virology* 285:234–243. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.0949>
- Briddon RW, Martin DP, Roumagnac P, et al (2018) Alphasatellitidae: a new family with two subfamilies for the classification of geminivirus- and nanovirus-associated

alphasatellites. *Arch Virol* 163:2587–2600. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3854-2>

Briddon RW, Stanley J (2006) Subviral agents associated with plant single-stranded DNA viruses. *Virology* 344:198–210. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.042>

Brown JK, Zerbini FM, Navas-Castillo J, et al (2015) Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Arch Virol* 160:1593–1619. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2398-y>

Calegario RF, Ferreira S de S, Andrade EC de, Zerbini FM (2007) Characterization of Tomato yellow spot virus, a novel tomato-infecting begomovirus in Brazil. *Pesqui Agropecu Bras* 42:1335–1343. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000900016>

Candresse T, Lanneau M, Revers F, et al (2000) PCR-BASED TECHNIQUES FOR THE DETECTION OF PLANT VIRUSES AND VIROIDS. *Acta Hortic* 61–67. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.530.5>

Castillo-Urquiza GP, Beserra JEA, Bruckner FP, et al (2008) Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Arch Virol* 153:1985–1989. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0172-0>

Coco D, Calil IP, Brustolini OJB, et al (2013) Soybean chlorotic spot virus, a novel begomovirus infecting soybean in Brazil. *Arch Virol* 158:457–462. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1499-0>

Costa A. S. (1965) Three whitefly-transmitted virus diseases of beans in São Paulo, Brazil FAO. *Plant Protection Bulletin* 13:121–130

Costa AS (1987) Beans phytoviruses in Brazil. *Beans: Production and Quality Factors*, Campinas: Fundação Cargil

Costa AS, Bennett CW (1950) Whitefly transmitted mosaic of *Euphorbia prunifolia*. *Phytopathology* 40:266–283

- Costa AS, Carvalho AM (1955) Comparative studies between Abutilon and Euphorbia mosaic viruses. *Phytopathology* 38:129–132
- Cotrim MA de A, Krause-Sakate R, Narita N, et al (2007) Diversidade genética de begomovírus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. *Summa Phytopathol* 33:300–303. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052007000300017>
- da Costa CA, Lourenço V, Santiago MF, et al (2022) Molecular phylogenetic, morphological, and pathogenic analyses reveal a single clonal population of *Septoria lycopersici* with a narrower host range in Brazil. *Plant Pathol* 71:621–633. <https://doi.org/10.1111/ppa.13492>
- da Fonseca Barbosa L, Yuki VA, Marubayashi JM, et al (2015) First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. *Pest Manag Sci* 71:501–504. <https://doi.org/10.1002/ps.3909>
- DANIELS J;, CASTRO LAS (1985) Ocorrência do vírus do mosaico deformante da batata no Rio Grande do Sul. *Fitopatol Bras* 10:306
- De Barro PJ, Driver F, Trueman JWH, Curran J (2000) Phylogenetic Relationships of World Populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) Using Ribosomal ITS1. *Mol Phylogenet Evol* 16:29–36. <https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0768>
- Dinsdale A, Cook L, Riginos C, et al (2010) Refined Global Analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) Mitochondrial Cytochrome Oxidase 1 to Identify Species Level Genetic Boundaries. *Ann Entomol Soc Am* 103:196–208. <https://doi.org/10.1603/AN09061>
- Domingo E, Sheldon J, Perales C (2012) Viral Quasispecies Evolution. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 76:159–216. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05023-11>
- Dower WJ, Miller JF, Ragsdale CW (1988) High efficiency transformation of E.coli by high voltage electroporation. *Nucleic Acids Res* 16:6127–6145. <https://doi.org/10.1093/nar/16.13.6127>
- Doyle JJ, Doyle LH (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus (Madison)* 12:13–15

- Dry IB, Krake LR, Rigden JE, Rezaian MA (1997) A novel subviral agent associated with a geminivirus: The first report of a DNA satellite. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94:7088–7093. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.13.7088>
- Duarte MF, Fonseca MEN, Costa H, et al (2021) Diversity of tomato-infecting begomoviruses and spatiotemporal dynamics of an endemic viral species of the Brazilian Atlantic rain forest biome. *Virus Genes* 57:83–93. <https://doi.org/10.1007/s11262-020-01812-x>
- Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res* 32:1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Faria JC, Souza-Dias JAC, Slack SA, Maxwell DP (1997) A New Geminivirus Associated with Tomato in the State of São Paulo, Brazil. *Plant Dis* 81:423–423. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.4.423B>
- Fernandes DS, Okuma D, Pantoja-Gomez LM, et al (2024) Bemisia tabaci MEAM1 still remains the dominant species in open field crops in Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 84:. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.256949>
- Fernandes FR, Cruz ARR, Faria JC, et al (2009) Three distinct begomoviruses associated with soybean in central Brazil. *Arch Virol* 154:1567–1570. <https://doi.org/10.1007/s00705-009-0463-0>
- Fernandes FR, de Albuquerque LC, de Britto Giordano L, et al (2008) Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus Genes* 36:251–258. <https://doi.org/10.1007/s11262-007-0184-y>
- Fernandes JJ, Carvalho MG, Andrade EC, et al (2006) Biological and molecular properties of *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. *Plant Pathol* 55:513–522. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01395.x>
- Ferreira P de T de O, Lemos TO, Nagata T, Inoue-Nagata AK (2008) One-step cloning approach for construction of agroinfectious begomovirus clones. *J Virol Methods* 147:351–354. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.10.001>

- Fiallo-Olivé E, Lett J-M, Martin DP, et al (2021) ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae 2021. *Journal of General Virology* 102:. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001696>
- Fiallo-Olivé E, Pan L-L, Liu S-S, Navas-Castillo J (2020) Transmission of Begomoviruses and Other Whitefly-Borne Viruses: Dependence on the Vector Species. *Phytopathology* 110:10–17. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0273-FI>
- Firmino AC, Yuki VA, Moreira AG, Rezende JAM (2009) Tomato yellow vein streak virus: relationship with *Bemisia tabaci* biotype B and host range. *Sci Agric* 66:793–799. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162009000600011>
- Flores E, Silberschmidt K, Kramer MR (1960) Observações de “clorose infecciosa” das malváceas em tomateiros do campo. *Biol* 26:65–69
- Fontenele R, Abreu R, Lamas N, et al (2018a) Passion Fruit Chlorotic Mottle Virus: Molecular Characterization of a New Divergent Geminivirus in Brazil. *Viruses* 10:169. <https://doi.org/10.3390/v10040169>
- Fontenele RS, Alves-Freitas DMT, Silva PIT, et al (2018b) Discovery of the first maize-infecting mastrevirus in the Americas using a vector-enabled metagenomics approach. *Arch Virol* 163:263–267. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3571-2>
- Fontenele RS, Lamas NS, Lacorte C, et al (2017) A novel geminivirus identified in tomato and cleome plants sampled in Brazil. *Virus Res* 240:175–179. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.08.007>
- Frohlich DR, Torres-Jerez I, Bedford ID, et al (1999) A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Mol Ecol* 8:1683–1691. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00754.x>
- Gabriel M, Kulczynski SM, Santos MFA, et al (2022) A novel virulent Brazilian pathotype of *Meloidogyne javanica* towards the tomato Mi-1.2 gene and pathogenicity to resistant rootstock. *Journal of Plant Diseases and Protection* 129:1269–1276. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00618-3>

- Gafni Y, Epel BL (2002) The role of host and viral proteins in intra- and inter-cellular trafficking of geminiviruses. *Physiol Mol Plant Pathol* 60:231–241. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2002.0402>
- Garrido-Ramirez ER, Sudarshana MR, Gilbertson RL (2000) *Bean golden yellow mosaic virus* from Chiapas, Mexico: Characterization, Pseudorecombination with Other Bean-Infecting Geminiviruses and Germ Plasm Screening. *Phytopathology* 90:1224–1232. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.11.1224>
- Ghanim M, Morin S, Czosnek H (2001) Rate of *Tomato yellow leaf curl virus* Translocation in the Circulative Transmission Pathway of its Vector, the Whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytopathology* 91:188–196. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.2.188>
- Gibson DG, Young L, Chuang R-Y, et al (2009) Enzymatic assembly of DNA molecules up to several hundred kilobases. *Nat Methods* 6:343–345. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1318>
- Gilardón E, Pocovi M, Hernández C, Olsen A (2001) Papel dos tricomas glandulares da folha do tomateiro na oviposição de *Tuta absoluta*. *Pesqui Agropecu Bras* 36:585–588. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001000300025>
- Gilbertson RL, Batuman O, Webster CG, Adkins S (2015) Role of the Insect Supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the Emergence and Global Spread of Plant Viruses. *Annu Rev Virol* 2:67–93. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-031413-085410>
- Gilbertson RL, Rojas M, Natwick E (2011) The whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) interaction with geminivirus-infected host plants
- Giordano LB, Silva-Lobo VL, Santana FM, et al (2005) Inheritance of resistance to the bipartite Tomato chlorotic mottle begomovirus derived from *Lycopersicon esculentum* cv. ‘Tyking.’ *Euphytica* 143:27–33. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-1685-1>
- Glick E, Levy Y, Gafni Y (2009) The viral etiology of tomato yellow leaf curl disease - a review. *Plant Protection Science* 45:81–97. <https://doi.org/10.17221/26/2009-PPS>

- Gnanasekaran P, KishoreKumar R, Bhattacharyya D, et al (2019) Multifaceted role of geminivirus associated betasatellite in pathogenesis. *Mol Plant Pathol* 20:1019–1033. <https://doi.org/10.1111/mpp.12800>
- Gopal P, Pravin Kumar P, Sinilal B, et al (2007) Differential roles of C4 and β C1 in mediating suppression of post-transcriptional gene silencing: Evidence for transactivation by the C2 of Bendi yellow vein mosaic virus, a monopartite begomovirus. *Virus Res* 123:9–18. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.07.014>
- Green MR, Sambrook J (2012) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press
- Grille G, Gauthier N, Buenahora J, et al (2011) First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Argentina and Uruguay. *Phytoparasitica* 39:235–238. <https://doi.org/10.1007/s12600-011-0155-7>
- Haible D, Kober S, Jeske H (2006) Rolling circle amplification revolutionizes diagnosis and genomics of geminiviruses. *J Virol Methods* 135:9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.01.017>
- Hanley-Bowdoin L, Settlege SB, Orozco BM, et al (2000) Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 35:105–40
- Hanson PM, Bernacchi D, Green S, et al (2000) Mapping a Wild Tomato Introgression Associated with Tomato Yellow Leaf Curl Virus Resistance in a Cultivated Tomato Line. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125:15–20. <https://doi.org/10.21273/JASHS.125.1.15>
- Hassan I, Orílio AF, Fiallo-Olivé E, et al (2016) Infectivity, effects on helper viruses and whitefly transmission of the deltasatellites associated with sweepviruses (genus Begomovirus, family Geminiviridae). *Sci Rep* 6:30204. <https://doi.org/10.1038/srep30204>
- Heydarnejad J, Keyvani N, Razavinejad S, et al (2013) Fulfilling Koch's postulates for beet curly top Iran virus and proposal for consideration of new genus in the family

Geminiviridae. Arch Virol 158:435–443. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1485-6>

Hou YM, Paplomatas EJ, Gilbertson RL (1998) Host adaptation and replication properties of two bipartite geminiviruses and their pseudorecombinants. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11:208–217

Hutton SF, Scott JW, Schuster DJ (2012) Recessive Resistance to Tomato yellow leaf curl virus from the Tomato Cultivar Tyking Is Located in the Same Region as Ty-5 on Chromosome 4. *HortScience* 47:324–327. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.3.324>

IBGE (2021) INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. In: INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA

Inoue-Nagata AK (2013) Doenças viróticas. Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia, Lavras - MG

Inoue-Nagata AK, Albuquerque LC, Rocha WB, Nagata T (2004) A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage ϕ 29 DNA polymerase. *J Virol Methods* 116:209–211. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2003.11.015>

Inoue-Nagata AK, Jordan R, Kreuze J, et al (2022) ICTV Virus Taxonomy Profile: Potyviridae 2022. *Journal of General Virology* 103:. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001738>

Inoue-Nagata AK, Lima MF (2021) Doenças causadas por vírus. In: Lopes CA (ed) Doenças do tomateiro. Brasília, pp 103–138

Inoue-Nagata AK, Lima MF, Gilbertson RL (2016) A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. *Hortic Bras* 34:8–18. <https://doi.org/10.1590/S0102-053620160000100002>

Ji Y, Scott JW, Hanson P, et al (2007) Sources of Resistance, Inheritance, and Location of Genetic Loci Conferring Resistance to Members of the Tomato-Infecting

Begomoviruses. In: Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 343–362

Ji Y, Scott JW, Schuster DJ, Maxwell DP (2009) Molecular Mapping of Ty-4, a New Tomato Yellow Leaf Curl Virus Resistance Locus on Chromosome 3 of Tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134:281–288. <https://doi.org/10.21273/JASHS.134.2.281>

Johne R, Müller H, Rector A, et al (2009) Rolling-circle amplification of viral DNA genomes using phi29 polymerase. *Trends Microbiol* 17:205–211. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.02.004>

Jombart T (2008) *adegenet* : a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24:1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>

Jovel J, Reski G, Rothenstein D, et al (2004) *Sida micrantha* mosaic is associated with a complex infection of begomoviruses different from *Abutilon* mosaic virus. *Arch Virol* 149:829–841. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0235-1>

Kadirvel P, de la Peña R, Schafleitner R, et al (2013) Mapping of QTLs in tomato line FLA456 associated with resistance to a virus causing yellow leaf curl disease. *Euphytica* 190:297–308. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0848-0>

Kalyaanamoorthy S, Minh BQ, Wong TKF, et al (2017) ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat Methods* 14:587–589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>

Khadim Hussain, Zaheer Khalid, Mahmoud A Amer, et al (2022) Identification and molecular characterization of cotton leaf curl Gezira betasatellite and two distinct begomoviruses infecting papaya trees in the Kingdom of Saudi Arabia. *Cell Mol Biol* 68:129–134. <https://doi.org/10.14715/cmb/2022.68.9.20>

Laufs J, Traut W, Heyraud F, et al (1995) In vitro cleavage and joining at the viral origin of replication by the replication initiator protein of tomato yellow leaf curl virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92:3879–3883. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.9.3879>

- LAZAROWITZ SG (1992) Geminiviruses: Genome structure and gene function. *CRC Crit Rev Plant Sci* 11:327–349
- Leke WN, Mignouna DB, Brown JK, Kvarnheden A (2015) Begomovirus disease complex: emerging threat to vegetable production systems of West and Central Africa. *Agric Food Secur* 4:1. <https://doi.org/10.1186/s40066-014-0020-2>
- Libardi Miraldo L, Malaquias JB, Oliveira de Freitas Bueno RC (2021) Interactive effects of host plant and insecticide foliar application on oviposition and performance of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) cryptic species Mediterranean (MED) and Middle East-Asia minor 1 (MEAM1) in Brazil. *Phytoparasitica* 49:675–688. <https://doi.org/10.1007/s12600-021-00890-3>
- Lima ATM, Silva JCF, Silva FN, et al (2017) The diversification of begomovirus populations is predominantly driven by mutational dynamics. *Virus Evol* 3:. <https://doi.org/10.1093/ve/vex005>
- LIMA MF, INOUE-NAGATA AK, RIBEIRO SG, et al (2011) Begomovirus infection in potato fields in central Brazil. Atibaia
- LIMA MF, VIEIRA DC (2015) Whitefly-transmitted geminiviruses: potential threat to potato crop in Brazil. São Pedro
- Lindbo JA (2007) TRBO: A High-Efficiency Tobacco Mosaic Virus RNA-Based Overexpression Vector. *Plant Physiol* 145:1232–1240. <https://doi.org/10.1104/pp.107.106377>
- Lopes CA (2021) Doenças do tomateiro . Brasília
- LOPES CA (2009) Murcha Bacteriana ou Murchadeira - Uma Inimiga do Tomateiro em Climas Quentes. Brasília
- Lopes CA (2001) Manejo integrado de bactérias fitopatogênicas. In: SILVA LHCP, CAMPOS JR, NOJOSA GBA (eds) Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças. pp 105–123

- López-López K, Rodríguez-Mora DM, Vaca-Vaca JC (2013) Optimización de las condiciones de inoculación por biobalística de un Begomovirus en tomate y tabaco. *Rev Colomb Biotecnol* 15:8. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.41261>
- Lourenção AL, Nagai H (1994) Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo. *Bragantia* 53:53–59. <https://doi.org/10.1590/S0006-87051994000100006>
- Lozano G, Trenado HP, Fiallo-Olivé E, et al (2016) Characterization of Non-coding DNA Satellites Associated with Sweepoviruses (Genus Begomovirus, Geminiviridae) – Definition of a Distinct Class of Begomovirus-Associated Satellites. *Front Microbiol* 7:. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00162>
- Lü Z-C, Gao Q-L, Wan F-H, et al (2014) Increased Survival and Prolonged Longevity Mainly Contribute to the Temperature-Adaptive Evolutionary Strategy in Invasive *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Middle East Asia Minor 1. *Journal of Insect Science* 14:. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu005>
- Macedo MA, Albuquerque LC, Maliano MR, et al (2018) Characterization of tomato leaf curl purple vein virus, a new monopartite New World begomovirus infecting tomato in Northeast Brazil. *Arch Virol* 163:737–743. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3662-0>
- Macedo MA, Gilbertson RL, Rojas MR, et al (2024) A Tomato-Free Period Delays and Reduces Begomovirus Disease in Processing Tomato Fields in a Complex Agroecosystem in Central Brazil. *Plant Dis* 108:887–898. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-23-1154-RE>
- Macedo MA, Inoue-Nagata AK, Silva TNZ, et al (2019) Temporal and spatial progress of the diseases caused by the crinivirus tomato chlorosis virus and the begomovirus tomato severe rugose virus in tomatoes in Brazil. *Plant Pathol* 68:72–84. <https://doi.org/10.1111/ppa.12920>
- Mansoor S (2003) Geminivirus disease complexes: an emerging threat. *Trends Plant Sci* 8:128–134. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00007-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00007-4)

- Martin DP, Murrell B, Golden M, et al (2015) RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evol* 1:. <https://doi.org/10.1093/ve/vev003>
- Martínez RT, de Almeida MMS, Rodriguez R, et al (2019) Analyses of orthospovirus populations and dispersion under different environmental conditions in Brazil and in the Dominican Republic. *Trop Plant Pathol* 44:511–518. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00307-x>
- Martins TP, Souza TA, da Silva PS, et al (2021) Nanopore sequencing of tomato mottle leaf distortion virus, a new bipartite begomovirus infecting tomato in Brazil. *Arch Virol* 166:3217–3220. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05220-w>
- Marubayashi JM, Yuki VA, Rocha KCG, et al (2013) At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 137:113–121. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2012.01714.x>
- Matyis JC, Silva DM, Oliveira AR, Costa AS (1975) Purificação e morfologia do vírus do mosaico dourado do tomateiro. *Summa Phytopathol* 1:267–275
- Maule AJ, Hull R, Donson J (1983) The application of spot hybridization to the detection of DNA and RNA viruses in plant tissues. *J Virol Methods* 6:215–224. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(83\)90048-4](https://doi.org/10.1016/0166-0934(83)90048-4)
- Melgarejo TA, Kon T, Rojas MR, et al (2013) Characterization of a New World Monopartite Begomovirus Causing Leaf Curl Disease of Tomato in Ecuador and Peru Reveals a New Direction in Geminivirus Evolution. *J Virol* 87:5397–5413. <https://doi.org/10.1128/JVI.00234-13>
- Mituti T, Moura MF, Macedo MA, et al (2019) Survey of begomoviruses and the crinivirus, tomato chlorosis virus, in solanaceous in Southeast/Midwest of Brazil. *Trop Plant Pathol* 44:468–472. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00294-z>
- Moraes LA, Marubayashi JM, Yuki VA, et al (2017) New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. *Phytoparasitica* 45:517–525. <https://doi.org/10.1007/s12600-017-0607-9>

- Morais IJ, Inoue-Nagata AK, Nakasu EYT (2024) Construction of Geminivirus Infectious Clones for Agroinoculation into Plants. pp 47–64
- Muhire BM, Varsani A, Martin DP (2014) SDT: A Virus Classification Tool Based on Pairwise Sequence Alignment and Identity Calculation. *PLoS One* 9:e108277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108277>
- Nagata T, Almeida ACL, Resende RO, DeÁvila AC (2004) The competence of four thrips species to transmit and replicate four tospoviruses. *Plant Pathol* 53:136–140. <https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.00984.x>
- Nguyen L-T, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ (2015) IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Mol Biol Evol* 32:268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
- Oliveira MRV, Henneberry TJ, Anderson P (2001) History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20:709–723. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00108-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00108-9)
- Orozco BM, Hanley-Bowdoin L (1998) Conserved Sequence and Structural Motifs Contribute to the DNA Binding and Cleavage Activities of a Geminivirus Replication Protein. *Journal of Biological Chemistry* 273:24448–24456. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.38.24448>
- Ouattara A, Tiendrébéogo F, Lefeuvre P, et al (2020) Diversity, distribution and prevalence of vegetable-infecting geminiviruses in Burkina Faso. *Plant Pathol* 69:379–392. <https://doi.org/10.1111/ppa.13120>
- Padidam M, Beachy RN, Fauquet CM (1996) The Role of AV2 (“Precoat”) and Coat Protein in Viral Replication and Movement in Tomato Leaf Curl Geminivirus. *Virology* 224:390–404. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0546>
- Padidam M, Sawyer S, Fauquet CM (1999) Possible Emergence of New Geminiviruses by Frequent Recombination. *Virology* 265:218–225. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.0056>

- Paprotka T, Metzler V, Jeske H (2010) The first DNA 1-like α satellites in association with New World begomoviruses in natural infections. *Virology* 404:148–157. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.05.003>
- Prabhandakavi P, Kumar R, Acharya S, et al (2021) Evaluation of Tomato Inbred Lines Harboring Ty Gene(s) for Resistance Against Monopartite and Bipartite Begomoviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* 91:45–52. <https://doi.org/10.1007/s40011-020-01197-9>
- Preiss W, Jeske H (2003) Multitasking in Replication Is Common among Geminiviruses. *J Virol* 77:2972–2980. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.5.2972-2980.2003>
- Price JA, Smith J, Simmons A, et al (2010) Multiplex real-time RT-PCR for detection of Wheat streak mosaic virus and Triticum mosaic virus. *J Virol Methods* 165:198–201. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.01.019>
- Quadros AFF, Silva JP, Xavier CAD, et al (2019) Two new begomoviruses infecting tomato and Hibiscus sp. in the Amazon region of Brazil. *Arch Virol* 164:1897–1901. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04245-6>
- Quezado-Duval AM, Camargo LEA (2004) Raças de Xanthomonas spp. associadas à mancha-bacteriana em tomate para processamento industrial no Brasil. *Hortic Bras* 22:80–86. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362004000100016>
- Quezado-Duval AM, Nascimento AR, Pontes NC, et al (2014) Desempenho de híbridos de tomate para processamento industrial em pressão de begomovirose e de mancha-bacteriana. *Hortic Bras* 32:446–452. <https://doi.org/10.1590/S0102-053620140000400012>
- Rashid TS, Sijam K, Awla HK, et al (2016) Pathogenicity Assay and Molecular Identification of Fungi and Bacteria Associated with Diseases of Tomato in Malaysia. *Am J Plant Sci* 07:949–957. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.76090>
- Rego-Machado CM, Nakasu EYT, Blawid R, et al (2019) Complete genome sequence of a new bipartite begomovirus infecting tomato in Brazil. *Arch Virol* 164:2873–2875. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04380-0>

- Reis A, Lopes CA (2012) Doenças bacterianas. In: Boiteux L, Clemente FMVT (eds) Produção de tomate para processamento industrial. Brasília, p 344
- Ribeiro SG, Ambrozevicius LP, Ávila AC, et al (2003) Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil *. Arch Virol 148:281–295. <https://doi.org/10.1007/s00705-002-0917-0>
- Ribeiro SG, de Ávila AC, Bezerra IC, et al (1998) Widespread Occurrence of Tomato Geminiviruses in Brazil, Associated with the New Biotype of the Whitefly Vector. Plant Dis 82:830–830. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.7.830C>
- Ribeiro SG, Inoue-Nagata AK, Daniels J, DeÁvila AC (2006) Potato deforming mosaic disease is caused by an isolate of Tomato yellow vein streak virus. Plant Pathol 55:569–569. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01432.x>
- Ribeiro SG, Martin DP, Lacorte C, et al (2007) Molecular and Biological Characterization of *Tomato chlorotic mottle virus* Suggests that Recombination Underlies the Evolution and Diversity of Brazilian Tomato Begomoviruses. Phytopathology 97:702–711. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-6-0702>
- Rick CM (1974) The Tomato. In: King RC (ed) Handbook of Genetics. Springer, Boston, MA
- Rocha CS, Castillo-Urquiza GP, Lima ATM, et al (2013) Brazilian Begomovirus Populations Are Highly Recombinant, Rapidly Evolving, and Segregated Based on Geographical Location. J Virol 87:5784–5799. <https://doi.org/10.1128/JVI.00155-13>
- Rojas MR (1993) Use of Degenerate Primers in the Polymerase Chain Reaction to Detect Whitefly-Transmitted Geminiviruses. Plant Dis 77:340. <https://doi.org/10.1094/PD-77-0340>
- Rojas MR, Jiang H, Salati R, et al (2001) Functional Analysis of Proteins Involved in Movement of the Monopartite Begomovirus, Tomato Yellow Leaf Curl Virus. Virology 291:110–125. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1194>

- Romay G, Chirinos D, Geraud-Pouey F, Desbiez C (2010) Association of an atypical alphasatellite with a bipartite New World begomovirus. *Arch Virol* 155:1843–1847. <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0760-7>
- Rosario K, Marr C, Varsani A, et al (2016) Begomovirus-Associated Satellite DNA Diversity Captured Through Vector-Enabled Metagenomic (VEM) Surveys Using Whiteflies (Aleyrodidae). *Viruses* 8:36. <https://doi.org/10.3390/v8020036>
- Ryckebusch F, Sauvion N, Granier M, et al (2020) Alfalfa leaf curl virus is transmitted by *Aphis craccivora* in a highly specific circulative manner. *Virology* 546:98–108. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.04.004>
- Salati R, Nahkla MK, Rojas MR, et al (2002) *Tomato yellow leaf curl virus* in the Dominican Republic: Characterization of an Infectious Clone, Virus Monitoring in Whiteflies, and Identification of Reservoir Hosts. *Phytopathology* 92:487–496. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.5.487>
- Sánchez-Campos S, Domínguez-Huerta G, Díaz-Martínez L, et al (2018) Differential Shape of Geminivirus Mutant Spectra Across Cultivated and Wild Hosts With Invariant Viral Consensus Sequences. *Front Plant Sci* 9:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00932>
- Saunders K, Bedford ID, Briddon RW, et al (2000) A unique virus complex causes *Ageratum* yellow vein disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:6890–6895. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.12.6890>
- Saunders K, Lucy A, Stanley J (1991) DNA forms of the geminivirus African cassava mosaic virus consistent with a rolling circle mechanism of replication. *Nucleic Acids Res* 19:2325–2330. <https://doi.org/10.1093/nar/19.9.2325>
- SCHOLTHOF KG, ADKINS S, CZOSNEK H, et al (2011) Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 12:938–954. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x>
- Seal SE, vandenBosch F, Jeger MJ (2006) Factors Influencing Begomovirus Evolution and Their Increasing Global Significance: Implications for Sustainable Control. *CRC Crit Rev Plant Sci* 25:23–46. <https://doi.org/10.1080/07352680500365257>

- Silberschmidt K (1956) A tomato-disease from Piedade, caused by Potato-virus Y. Instituto biológico de São Paulo 23:125–150
- Simon AE, Roossinck MJ, Havelda Z (2004) PLANT VIRUS SATELLITE AND DEFECTIVE INTERFERING RNAS: New Paradigms for a New Century. Annu Rev Phytopathol 42:415–437. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140402>
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al (1994) Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. Ann Entomol Soc Am 87:651–701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>
- Sohrab SS, Mandal B, Pant RP, Varma A (2003) First Report of Association of *Tomato leaf curl virus-New Delhi* with Yellow Mosaic Disease of *Luffa cylindrica* in India. Plant Dis 87:1148–1148. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.9.1148A>
- Souza JO, Melgarejo TA, Vu S, et al (2022) How To Be a Successful Monopartite Begomovirus in a Bipartite-Dominated World: Emergence and Spread of Tomato Mottle Leaf Curl Virus in Brazil. J Virol 96:. <https://doi.org/10.1128/jvi.00725-22>
- Souza TA, Silva JMF, Nagata T, et al (2020) A Temporal Diversity Analysis of Brazilian Begomoviruses in Tomato Reveals a Decrease in Species Richness between 2003 and 2016. Front Plant Sci 11:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01201>
- SOUZA-DIAS JAC, YUKI VA, RIBEIRO SG, RAVAGNANE VA (1996) Risca amarela da nervura do tomateiro é causada por geminivírus que infecta batata. Summa Phytopathologica 22:57
- Tavares SS, Ramos-Sobrinho R, González-Aguilera J, et al (2012) Further molecular characterization of weed-associated begomoviruses in Brazil with an emphasis on *Sida* spp. Planta Daninha 30:305–315. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582012000200009>
- Trindade TD, Trevisan H, Carvalho AG de (2019) Incidence of *Bemisia tabaci* Gennadius (Aleyrodidae, Aleyrodinae) in four Atlantic Forest fragments. Arq Inst Biol (Sao Paulo) 86:. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000942017>

- Ward BM, Medville R, Lazarowitz SG, Turgeon R (1997) The geminivirus BL1 movement protein is associated with endoplasmic reticulum-derived tubules in developing phloem cells. *J Virol* 71:3726–3733. <https://doi.org/10.1128/jvi.71.5.3726-3733.1997>
- WARNOCK SJ (1991) Natural habitats of *Lycopersicon* species. *Hortascience* 26:466–471
- Wendland A, Lobo Junior M, Faria JC de. (2018) Manual de Identificação das Principais Doenças do Feijoeiro-Comum. Brasília, DF
- Wyant PS, Strohmeier S, Schäfer B, et al (2012) Circular DNA genomics (circomics) exemplified for geminiviruses in bean crops and weeds of northeastern Brazil. *Virology* 427:151–157. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.02.007>
- Zamir D, Ekstein-Michelson I, Zakay Y, et al (1994) Mapping and introgression of a tomato yellow leaf curl virus tolerance gene, TY-1. *Theoretical and Applied Genetics* 88:141–146. <https://doi.org/10.1007/BF00225889>
- Zerbini FM, Bridson RW, Idris A, et al (2017) ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae. *Journal of General Virology* 98:131–133. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000738>
- Zhang W, Olson NH, Baker TS, et al (2001) Structure of the Maize Streak Virus Geminiate Particle. *Virology* 279:471–477. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0739>
- Zhou X (2013) Advances in Understanding Begomovirus Satellites. *Annu Rev Phytopathol* 51:357–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102234>
- (2019) Food and Agriculture Organization of the United Nations. In: *The State of Food Security and Nutrition in the World 2019: Safeguarding Against Economic Slowdowns and Downturns*.
- NCBI. 2024. National Center for Biotechnology Information. GenBank. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

(2024) R Core Team (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing,

ANEXOS:

Anexo 1: Espécies de begomovírus descritos infectando tomateiro na sua nomenclatura relatadas e descritas em todo o mundo. As espécies são listadas conforme a nova nomenclatura de vírus (binomial), acompanhadas de informações sobre o nome comum do vírus, país onde foi caracterizado, número de acesso na plataforma GenBank® e acrônimo correspondente (Adaptado de Fiallo-Olivé. 26/06/2024)

Espécie	Nome do vírus	País	Acesso GenBank	Abreviação
<i>Begomovirus solanumamazonasense</i>	Chino del tomate Amazonas virus	Brasil	DNA-A: HM357461	CdTAV
<i>Begomovirus solanumanjouanense</i>	Tomato leaf curl Anjouan virus	Comores	DNA-A: AM701758	ToLCAnV
<i>Begomovirus solanumaraguaense</i>	Tomato mild yellow leaf curl Aragua virus	Venezuela	DNA-A: AY927277;	ToMYLCAV
			DNA-B: EF547938	
<i>Begomovirus solanumargentinaense</i>	Tomato mottle wrinkle virus	Argentina	DNA-A: JQ714137;	ToMoWV
			DNA-B: JQ714138	
<i>Begomovirus solanumarushaense</i>	Tomato leaf curl Arusha virus	Tanzânia	DNA-A: EF194760	ToLCArV
<i>Begomovirus solanumaureicontorsionis</i>	Tomato golden leaf distortion virus	Brasil	DNA-A: HM357456	ToGLDV
<i>Begomovirus solanumaureimaculae</i>	Tomato golden leaf spot virus	Uruguai	DNA-A: KC626021	ToGLSV
<i>Begomovirus solanumaureimusivi</i>	Tomato golden mosaic virus	Brasil	DNA-A: K02029;	TGMV
			DNA-B: K02030	
<i>Begomovirus solanumaureivariati</i>	Tomato golden mottle virus	México	DNA-A: DQ520943;	ToGMoV
			DNA-B: DQ406674	
<i>Begomovirus solanumaureivenae</i>	Tomato golden vein virus	Brasil	DNA-A: JF803254;	TGVV
			DNA-B: JF803265	

<i>Begomovirus solanumaustraliaense</i>	Tomato leaf curl virus	Austrália	DNA-A: S53251	ToLCV
<i>Begomovirus solanumbangaloreense</i>	Tomato leaf curl Bangalore virus	Índia	DNA-A: Z48182	ToLCBaV
<i>Begomovirus solanumbangladeshense</i>	Tomato leaf curl Bangladesh virus	Bangladesh	DNA-A: AF188481	ToLCBV
<i>Begomovirus solanumboliviense</i>	Solanum mosaic Bolivia virus	Bolívia	DNA-A: HM585435;	SoMBoV
			DNA-B: HM585436	
<i>Begomovirus solanumburkinafasoense</i>	Tomato leaf curl Burkina Faso virus	Burkina Faso	DNA-A: KX853168	TLCBFV
<i>Begomovirus solanumcebuense</i>	Tomato leaf curl Cebu virus	Filipinas	DNA-A: EU487042	ToLCCeV
<i>Begomovirus solanumchinaense</i>	Tomato leaf curl China virus	China	DNA-A: AJ558118	ToLCCNV
<i>Begomovirus solanumcomorosense</i>	Tomato leaf curl Comoros virus	Mayotte	DNA-A: AJ865340	ToLCKMV
<i>Begomovirus solanumcontorsionis</i>	Tomato leaf distortion virus	Brasil	DNA-A: EU710749	ToLDV
<i>Begomovirus solanumcrispi</i>	Tomato wrinkled mosaic virus	Venezuela	DNA-A: KY449275;	ToWMV
			DNA-B: KY449276	
<i>Begomovirus solanumdelhiense</i>	Tomato leaf curl New Delhi virus	Índia	DNA-A: U15015;	ToLCNDV
			DNA-B: U15017	
<i>Begomovirus solanumdelhiquarti</i>	Tomato leaf curl New Delhi virus 4	Índia	DNA-A: KF551592	ToLCNDV4
<i>Begomovirus solanumdelhiquinti</i>	Tomato leaf curl New Delhi virus 5	Bangladesh	DNA-A: EF450316	ToLCNDV5
<i>Begomovirus solanumdelhisecondi</i>	Tomato leaf curl New Delhi virus 2	Índia	DNA-A: JQ897969	ToLCNDV2
<i>Begomovirus solanumdepravationis</i>	Tomato leaf deformation virus	Peru	DNA-A: GQ334472	ToLDeV
<i>Begomovirus solanumdianaense</i>	Tomato leaf curl Diana virus	Madagascar	DNA-A: AM701765	ToLCDiV

<i>Begomovirus solanumflavariati</i>	Tomato bright yellow mottle virus	Brasil	DNA-A: KC791691	ToBYMoV
<i>Begomovirus solanumflavi</i>	Chino del tomate virus	México	DNA-A: AF101476;	CdTV/To
			DNA-B: AF101478	
<i>Begomovirus solanumflavusardiniaense</i>	Tomato yellow leaf curl Sardinia virus	Itália	DNA-A: X61153	TYLCSaV
<i>Begomovirus solanumflavusaxarquiaense</i>	Tomato yellow leaf curl Axarquia virus	Itália	DNA-A: EU734831	TYLCAxV
<i>Begomovirus solanumflavuschinaense</i>	Tomato yellow leaf curl China virus	China	DNA-A: AF311734	TYLCCNV
<i>Begomovirus solanumflavuscontorsionis</i>	Tomato yellow leaf distortion virus	Cuba	DNA-A: FJ174698;	ToYLDV
			DNA-B: FJ999999	
<i>Begomovirus solanumflavusdepravationis</i>	Tomato yellow leaf deformation dwarf virus	Brasil	DNA-A: MN145942;	ToYLDeDV
			DNA-B: MN145943	
<i>Begomovirus solanumflavusguangdongense</i>	Tomato yellow leaf curl Guangdong virus	China	DNA-A: AY602166	TYLCGdV
<i>Begomovirus solanumflavushuangbaiense</i>	Tomato yellow leaf curl Shuangbai virus	China	DNA-A: KT962229	TYLCSbV
<i>Begomovirus solanumflavusindonesiaense</i>	Tomato yellow leaf curl Indonesia virus	Indonésia	DNA-A: AF189018	TYLCIDV
<i>Begomovirus solanumflavuskanchanaburiense</i>	Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus	Tailândia	DNA-A: AF511529;	TYLCKaV
			DNA-B: AF511528	
<i>Begomovirus solanumflavusmaculae</i>	Tomato yellow spot virus	Brasil	DNA-A: DQ336350;	ToYSV
			DNA-B: DQ336351	
<i>Begomovirus solanumflavusmalacitanum</i>	Tomato yellow leaf curl Malaga virus	Espanha	DNA-A: AF271234	TYLCMaV
<i>Begomovirus solanumflavusmaliense</i>	Tomato yellow leaf curl Mali virus	Burkina Faso	DNA-A: LM651400	TYLCMLV

<i>Begomovirus solanumflavusmarginis</i>	Tomato yellow margin leaf curl virus	Venezuela	DNA-A: AY508993;	ToYMLCV
			DNA-B: AY508994	
<i>Begomovirus solanumflavusthailandense</i>	Tomato yellow leaf curl Thailand virus	Tailândia	DNA-A: AF141922;	TYLCTHV
			DNA-B: AF141897	
<i>Begomovirus solanumflavusvariati</i>	Tomato yellow mottle virus	Costa Rica	DNA-A: KC176780;	ToYMoV
			DNA-B: KC176781	
<i>Begomovirus solanumflavusvenae</i>	Tomato yellow vein streak virus	Brasil	DNA-A: EF417915;	ToYVSV
			DNA-B: EF417916	
<i>Begomovirus solanumflavusvietnamense</i>	Tomato yellow leaf curl Vietnam virus	Vietnã	DNA-A: DQ641697	TYLCVV
<i>Begomovirus solanumflavusyunnanense</i>	Tomato yellow leaf curl Yunnan virus	China	DNA-A: KC686705	TYLCYnV
<i>Begomovirus solanumghanaense</i>	Tomato leaf curl Ghana virus	Gana	DNA-A: EU350585	ToLCGV
<i>Begomovirus solanumguangdongense</i>	Tomato leaf curl Guangdong virus	China	DNA-A: AY602165	ToLCGdV
<i>Begomovirus solanumguangxiense</i>	Tomato leaf curl Guangxi virus	China	DNA-A: AM236784	ToLCGxV
<i>Begomovirus solanumgujaratense</i>	Tomato leaf curl Gujarat virus	Índia	DNA-A: AY190290;	ToLCGUV
			DNA-B: AY190291	
<i>Begomovirus solanumhainanense</i>	Tomato leaf curl Hainan virus	China	DNA-A: KF150142	ToLCHaV
<i>Begomovirus solanumhanoiense</i>	Tomato leaf curl Hanoi virus	Vietnã	DNA-A: HQ162270	ToLCHaV
<i>Begomovirus solanumhavanaense</i>	Tomato mosaic Havana virus	Cuba	DNA-A: Y14874;	ToMHaV
			DNA-B: Y14875	

<i>Begomovirus solanumhsinchuense</i>	Tomato leaf curl Hsinchu virus	China	DNA-A: EU596959;	ToLCHsV
			DNA-B: EU596960	
<i>Begomovirus solanumintervenae</i>	Tomato interveinal chlorosis virus	Brasil	DNA-A: JF803252	ToICV
<i>Begomovirus solanumiranense</i>	Tomato leaf curl Iran virus	Irã	DNA-A: AY297924	ToLCIRV
<i>Begomovirus solanumjapanense</i>	Tomato leaf curl Japan virus	Japão	DNA-A: AB236323	ToLCJV
<i>Begomovirus solanumjavaense</i>	Tomato leaf curl Java virus	Indonésia	DNA-A: AB100304	ToLCJaV
<i>Begomovirus solanumjoydebpureense</i>	Tomato leaf curl Joydebpur virus	Índia	DNA-A: HM991146	ToLCJV
<i>Begomovirus solanumkalakadaense</i>	Tomato severe leaf curl Kalakada virus	Índia	DNA-A: KP195267	ToSLCKV
<i>Begomovirus solanumkarnatakaense</i>	Tomato leaf curl Karnataka virus	Índia	DNA-A: U38239	ToLCKaV
<i>Begomovirus solanumkarnatakasecundi</i>	Tomato leaf curl Karnataka virus 2	Índia	DNA-A: KF551578	ToLCKV2
<i>Begomovirus solanumkarnatakatertii</i>	Tomato leaf curl Karnataka virus 3	Índia	DNA-A: KF551585	ToLCKV3
<i>Begomovirus solanumkeralaense</i>	Tomato leaf curl Kerala virus	Índia	DNA-A: EU910141	ToLCKeV
<i>Begomovirus solanumkuneneense</i>	Tomato leaf curl Kunene virus	Namibia	DNA-A: MT045996	ToLCKunV
<i>Begomovirus solanumlaosense</i>	Tomato leaf curl Laos virus	Laos	DNA-A: AF195782	ToLCLV
<i>Begomovirus solanumlapazense</i>	Tomato chino La Paz virus	México	DNA-A: AY339618	ToChLPV
<i>Begomovirus solanumlatentis</i>	Tomato latent virus	Cuba	DNA-A: KM926624	ToLV
<i>Begomovirus solanumliwaense</i>	Tomato leaf curl Liwa virus	Omã	DNA-A: HF912280	ToLCLwV
<i>Begomovirus solanummadagascareense</i>	Tomato leaf curl Madagascar virus	Madagascar	DNA-A: AJ865338	ToLCMGV
<i>Begomovirus solanummahense</i>	Tomato leaf curl Mahé virus	Seichelles	DNA-A: MH410152	ToLCMahV

<i>Begomovirus solanummalaysiaense</i>	Tomato leaf curl Malaysia virus	Malásia	DNA-A: AF327436	ToLCMYV
<i>Begomovirus solanummaliense</i>	Tomato leaf curl Mali virus	Mali	DNA-A: AY502936	ToLCMLV
<i>Begomovirus solanummindanaoense</i>	Tomato leaf curl Mindanao virus	Filipinas	DNA-A: EU487046	ToLCMiV
<i>Begomovirus solanummoheliense</i>	Tomato leaf curl Moheli virus	Comores	DNA-A: AM701763	ToLCMohV
<i>Begomovirus solanummusivi</i>	Tomato bright yellow mosaic virus	Brasil	DNA-A: KC791690	ToBYMV
<i>Begomovirus solanumnamakelyense</i>	Tomato leaf curl Namakely virus	Madagascar	DNA-A: AM701764	ToLCNaV
<i>Begomovirus solanumnigeriaense</i>	Tomato leaf curl Nigeria virus	Nigéria	DNA-A: FJ685621	ToLCNGV
<i>Begomovirus solanumpalampurens</i>	Tomato leaf curl Palampur virus	Índia	DNA-A: AM884015;	ToLCPaV
			DNA-B: AM992534	
<i>Begomovirus solanumpallidi</i>	Tomato chlorotic leaf curl virus	Brasil	DNA-A: MK558058;	ToCLCV
			DNA-B: MK558059	
<i>Begomovirus solanumpallidicontorsionis</i>	Tomato chlorotic leaf distortion virus	Venezuela	DNA-A: HQ201952;	ToCILDV
			DNA-B: HQ201953	
<i>Begomovirus solanumpallidiguyanense</i>	Tomato chlorotic mottle Guyane virus	França	DNA-A: KR263181;	ToCMoGV
			DNA-B: KR263172	
<i>Begomovirus solanumpallidivariati</i>	Tomato chlorotic mottle virus	Brasil	DNA-A: AF490004;	ToCMoV
			DNA-B: AF491306	
<i>Begomovirus solanumparvi</i>	Tomato dwarf leaf virus	Argentina	DNA-A: JN564749;	ToDfLV
			DNA-B: JN564750	

<i>Begomovirus solanumpatnaense</i>	Tomato leaf curl Patna virus	Índia	DNA-A: EU862323	ToLCPatV
<i>Begomovirus solanumphilippinense</i>	Tomato leaf curl Philippines virus	Filipinas	DNA-A: AB050597	ToLCPV
<i>Begomovirus solanumpunense</i>	Tomato leaf curl Pune virus	Índia	DNA-A: AY754814	ToLCPuV
<i>Begomovirus solanumrajasthanense</i>	Tomato leaf curl Rajasthan virus	Índia	DNA-A: DQ339117	ToLCRaV
<i>Begomovirus solanumretorridi</i>	Tomato curly stunt virus	África do Sul	DNA-A: AF261885	ToCSV
<i>Begomovirus solanumrugosi</i>	Tomato rugose mosaic virus	Brasil	DNA-A: AF291705;	ToRMV
			DNA-B: AF291706	
<i>Begomovirus solanumrugosiflavi</i>	Tomato rugose yellow leaf curl virus	Uruguai	DNA-A: JN381819;	TRYLCV
			DNA-B: JN381814	
<i>Begomovirus solanumseveri</i>	Tomato severe leaf curl virus	Guatemala	DNA-A: AF130415	ToSLCV
<i>Begomovirus solanumseverparvi</i>	Tomato mosaic severe dwarf virus	Brasil	DNA-A: MN147863;	ToMSDV
			DNA-B: MN147864	
<i>Begomovirus solanumseverugosi</i>	Tomato severe rugose virus	Brasil	DNA-A: DQ207749;	ToSRV
			DNA-B: EF534708	
<i>Begomovirus solanumseychellesense</i>	Tomato leaf curl Seychelles virus	Seichelles	DNA-A: AM491778	ToLCSCV
<i>Begomovirus solanumsinaloaense</i>	Tomato leaf curl Sinaloa virus	Nicarágua	DNA-A: AJ608286;	ToLCSiV
			DNA-B: AJ508783	
<i>Begomovirus solanumsrilankaense</i>	Tomato leaf curl Sri Lanka virus	Sri Lanka	DNA-A: AF274349	ToLCLKV

<i>Begomovirus solanumsudanense</i>	Tomato leaf curl Sudan virus	Sudão	DNA-A: AY044137	ToLCSDV
<i>Begomovirus solanumsulawesiense</i>	Tomato leaf curl Sulawesi virus	Indonésia	DNA-A: FJ237617	ToLCSuV
<i>Begomovirus solanumtainoense</i>	Tomato mottle Taino virus	Cuba	DNA-A: AF012300;	ToMoTaV
			DNA-B: AF012301	
<i>Begomovirus solanumtaiwanense</i>	Tomato leaf curl Taiwan virus	Taiwan	DNA-A: U88692	ToLCTV
<i>Begomovirus solanumtanzaniaense</i>	Tomato leaf curl Tanzania virus	Tanzânia	DNA-A: DQ519575	ToLCTZV
<i>Begomovirus solanumtenuimusivi</i>	Tomato mild mosaic virus	Brasil	DNA-A: EU710752;	ToMMV
			DNA-B: EU710753	
<i>Begomovirus solanumtoliaraense</i>	Tomato leaf curl Toliara virus	Madagascar	DNA-A: AM701768	ToLCToV
<i>Begomovirus solanumtortilis</i>	Tomato twisted leaf virus	Venezuela	DNA-A: MK440292	ToTLV
<i>Begomovirus solanumtumoris</i>	Tomato enation leaf curl virus	Índia	DNA-A: KP195260	ToELCV
<i>Begomovirus solanumugandaense</i>	Tomato leaf curl Uganda virus	Uganda	DNA-A: DQ127170	ToLCUV
<i>Begomovirus solanumvariati</i>	Tomato mottle virus	EUA	DNA-A: L14460;	ToMoV
			DNA-B: L14461	
<i>Begomovirus solanumvariatuminvolutionis</i>	Tomato mottle leaf curl virus	Brasil	DNA-A: KC706615	ToMoLCV
<i>Begomovirus solanumvenadepravationis</i>	Tomato vein clearing leaf deformation virus	Argentina	DNA-A: MK423208;	ToVCLDeV
			DNA-B: MK423207	
<i>Begomovirus solanumvietnamense</i>	Tomato leaf curl Vietnam virus	Vietnã	DNA-A: AF264063	ToLCVV

<i>Begomovirus solanumviolavenae</i>	Tomato leaf curl purple vein virus	Brasil	DNA-A: KY196216	ToLCPVV
<i>Begomovirus solanumvulgarismusivi</i>	Tomato common mosaic virus	Brasil	DNA-A: EU710754;	ToCmMV
			DNA-B: EU710755	
<i>Begomovirus coheni</i>	Tomato yellow leaf curl virus	Espanha	DNA-A: AJ489258	TYLCV

Anexo 2: Begomovírus descritos em infectando lavouras de tomateiros no Brasil. Os vírus estão listados com seus nomes, números de acesso no GenBank®, abreviações correspondentes e referências onde foram relatados.

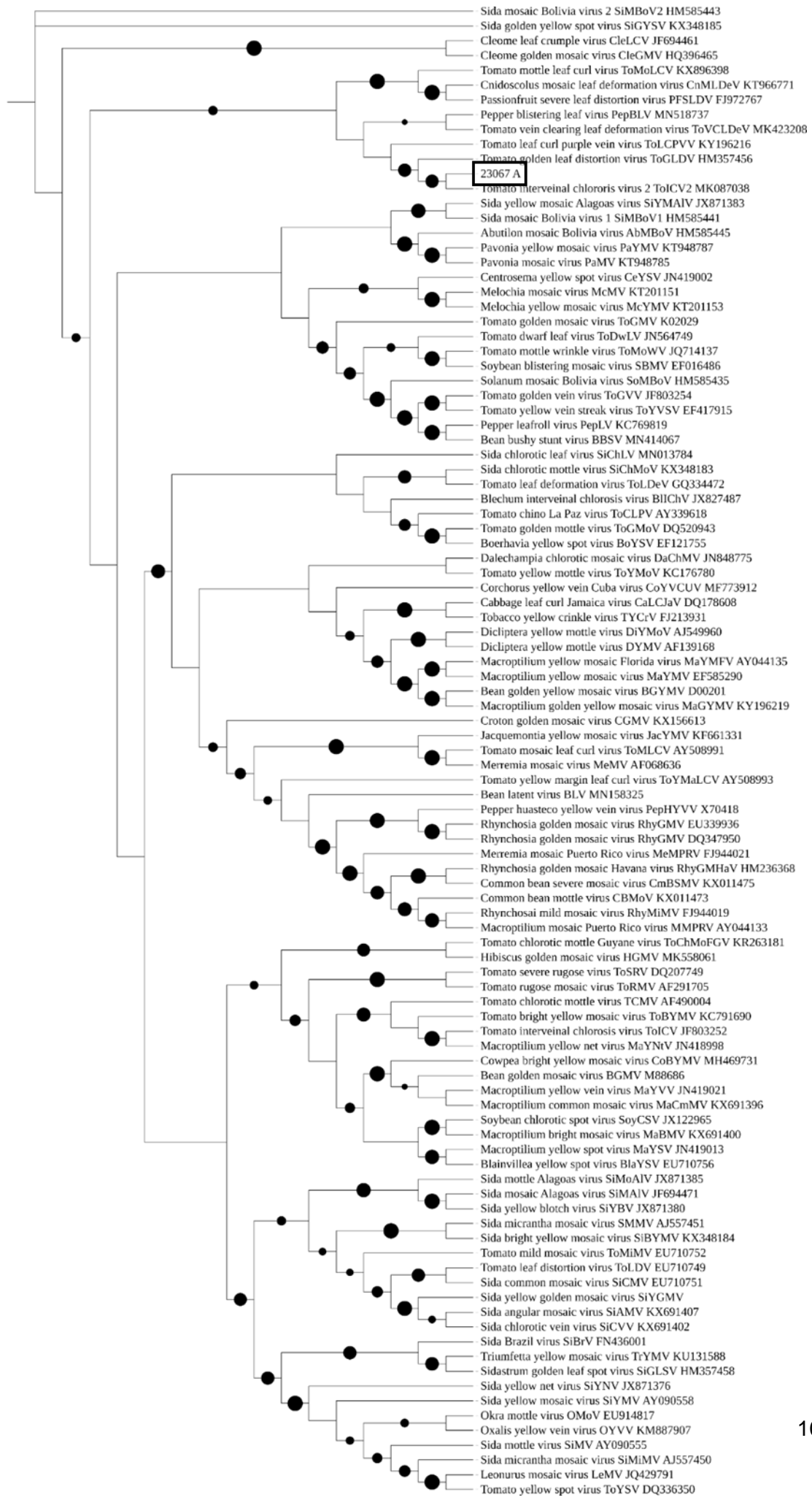
Nome do vírus	Acesso no GenBank	Abreviação	Referência
Tomato golden mosaic virus	DNA-A: K02029;	TGMV	(Flores et al. 1960)
	DNA-B: K02030		
Tomato yellow vein streak virus	DNA-A: EF417915;	ToYVSV	(Faria et al. 1997)
	DNA-B: EF417916		
Sida micrantha mosaic virus	DNA-A: AJ557451;	SiMMV	(Jovel et al. 2004)
	DNA-B: AJ557453		
Tomato rugose mosaic virus	DNA-A: AF291705;	ToRMV	(Fernandes et al. 2006)
	DNA-B: AF291706		
Tomato yellow spot virus	DNA-A: DQ336350;	ToYSV	(Andrade et al. 2006)
	DNA-B: DQ336351		
Tomato chlorotic mottle virus	DNA-A: AF490004;	ToCMoV	(Ribeiro et al. 2007)
	DNA-B: AF491306		
Sida mottle virus	DNA-A: AJ557450;	SiMoV	(Cotrim et al. 2007)
	DNA-B: AJ557454		
Tomato severe rugose virus	DNA-A: DQ207749;	ToSRV	
	DNA-B: EF534708		
Tomato leaf distortion virus	DNA-A: EU710749	ToLDV	
Tomato mild mosaic virus	DNA-A: EU710752;	ToMMV	(Castillo-Urquiza et al. 2008)
	DNA-B: EU710753		
Tomato common mosaic virus	DNA-A: EU710754;	ToCmMV	
	DNA-B: EU710755		
Tomato mottle leaf curl virus	DNA-A: KC706615	ToMoLCV	(Fernandes et al. 2008)
Sida yellow net virus	DNA-A: JX871376	SiYNV	(Tavares et al. 2012)
Tomato interveinal chlorosis virus	DNA-A: JF803252	ToICV	
Tomato golden vein virus	DNA-A: JF803254;	TGVV	Albuquerque <i>et al.</i> 2012
	DNA-B: JF803265		
Tomato leaf deformation virus	DNA-A: GQ334472	ToLDeV	(Melgarejo et al. 2013)
Euphorbia yellow mosaic virus	DNA-A: FJ619507;	EuYMV	(Barreto et al. 2013)
	DNA-B: FJ619508		
Chino del tomate Amazonas virus	DNA-A: HM357461	CdTAV	
	DNA-A: JN381819;		(NCBI 2024)

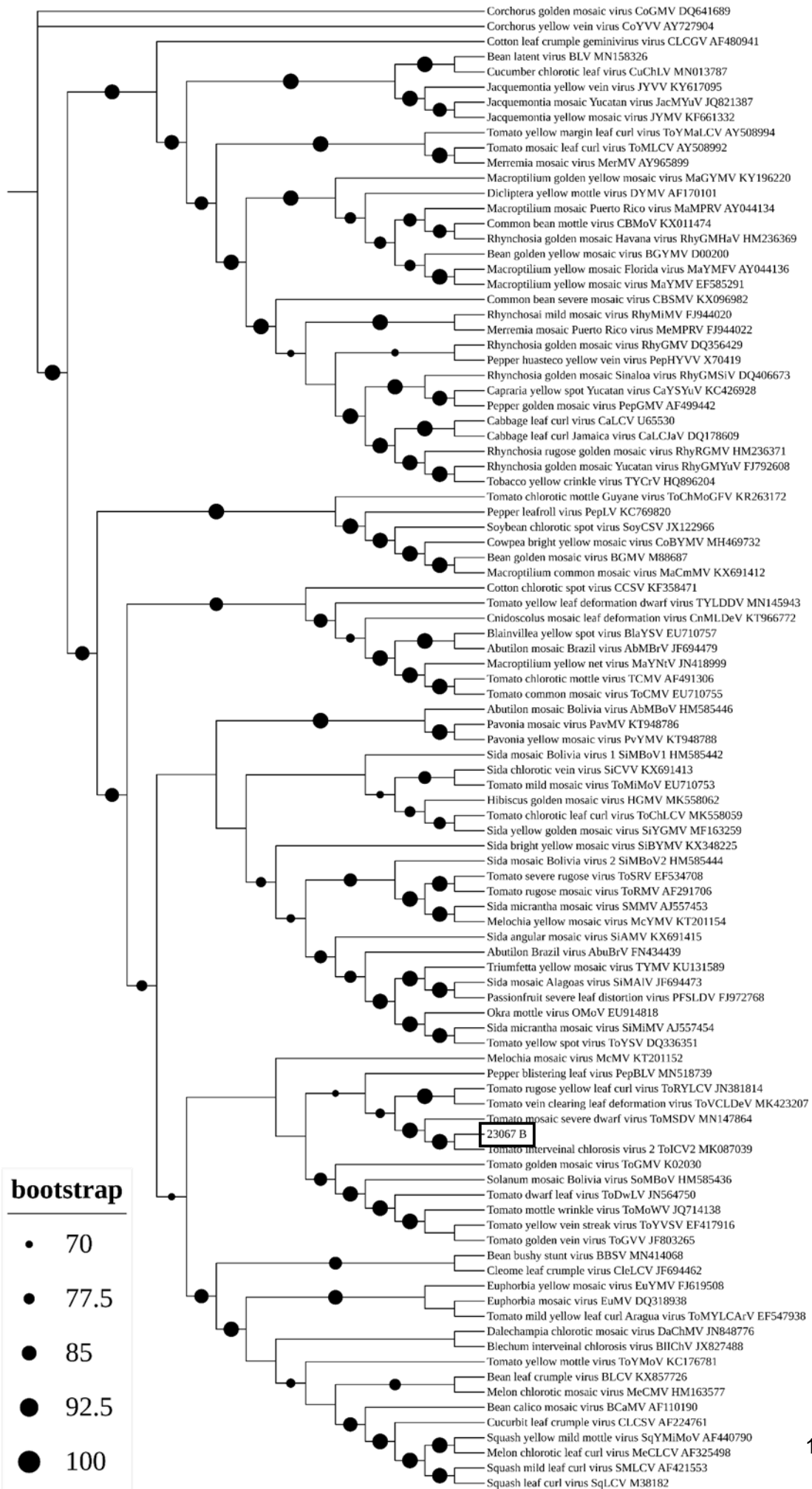
Tomato rugose yellow leaf curl virus	DNA-B: JN381814	TRYLCV	
Tomato leaf curl purple vein virus	DNA-A: KY196216	ToLCPVV	(Macedo et al. 2018)
Tomato chlorotic leaf curl virus	DNA-A: MK558058;	ToCLCV	(Quadros et al. 2019)
	DNA-B: MK558059		
Tomato interveinal chlorosis virus 2	DNA-A: MK087038;	ToICV2	(Rego-Machado et al. 2019)
	DNA-B: MK087039		
Sida common mosaic virus	DNA-A: EU710751	SiCMV	(Duarte et al. 2021)
Tomato golden leaf spot virus	DNA-A: KC626021	ToGLSV	
Tomato mosaic severe dwarf virus	DNA-A: MN147863;	ToMSDV	(NCBI 2024)
	DNA-B: MN147864		
Tomato yellow leaf deformation dwarf virus	DNA-A: MN145942;	ToYLDeDV	
	DNA-B: MN145943		
Tomato bright yellow mottle virus	DNA-A: KC791691	ToBYMoV	
Tomato bright yellow mosaic virus	DNA-A: KC791690	ToBYMV	
Tomato golden leaf distortion virus	DNA-A: HM357456	ToGLDV	

Anexo 3: Representação da árvore filogenética enraizada no midpoint do 23067A e 23067B junto com as sequências dos begomovírus mais próximos, gerada pelo método de Máxima Verossimilhança (10.000 réplicas), utilizando o software IQ-TREE (Nguyen et al. 2015) com o modelo Akaike Information Criterion. Os valores de bootstrap estão incluídos na legenda e a dos componentes estão destacadas com retângulo preto.

bootstrap

- 70
- 77.5
- 85
- 92.5
- 100





Anexo 4: Sequência completa de nucleotídeos dos componentes A e B, correspondentes aos clones 23067_2A e 23067_5.

DNA_A: Clone 23067_2A

ACCGGATGGCCGCGCGATTTTTGGTCCCCGACCCGCTCCCGCATTTGGTGCCGCATTGTCTG
CTGGTGTGGGTCCCACATATGAAAGATCTTCCTATGATAATGCAGCCTGAAAGCTTAGTTAT
TTGAAAAGACTTGGTGGCTAAGTTTGACTGGTTCGTATAAATTTGAACGTATAATATGTGGG
CTCTACATAATTTAATTCAAATGTCTAAGCGGGCTGCCCCCTCGTGGCGCTCGATGGCGGGA
ATCTCGAAGGTTAGCCGCTCTCTCAATTCTTCGCCTCGTGGAGGTATTAATCCCAAATTTGAT
AGGGCCTCAGCCTGCGTTAATAGGCCATGTACAGGAAGCCCAGGATATATCGGGCCTACC
GATCTCCCGATGTTCTAAGGGGTGTGAAGGGCCGTGTAAGGTCCAGTCGTATGAACAGCGC
CACGACATCTCTCACACGGGTAAGGTTCTGTGTATATCTGATGTCACACGGGGCAGTGGTAT
TACCCACCGCGTCGGTAAACGTTTCTGTGTGAAGTCTGTCTATATATTAGGGAAGATATGGA
TGGATGACAACATCAAGCTCAGGAACCATACGAACAGCGTCATGTTCTGGCTGGTTAGAGA
CAGGAGACCGTATGGCACGCCGATGGATTTCCGACAGGTGTTTAACTGTTTCGACAATGAGC
CCAGTACTGCGACCGTCAAGAACGATCTTCGTGATCGTTTCCAAGTTCTGCACAGATTCAAC
TCGCAAGTTACGGGTGGACAGTACGCGAGCAAGGAGCAAGCTCTGGTGAGGCGTTTCTGGA
AGGTCAACACTCACGTCACCTTACAACCATCAAGAGGCGGCGAAGTATGAGAACCACACGGA
GAACGCCCTGTTATTGTATATGGCATGTACGCATGCCTCTAATCCCGTGTATGCAACCCTCAA
GATACGGATCTATTTTTATGATTCGGTATCAAATTAATAAATTTTGAATTTTATTGAATGATT
TTCGAGTACAGAAGTTACATACGATCTGTCTGTTGCGAATCGAACAGCTCTGATTACATTGTT
AATGGAAATAACGCCTAATCTATCTAAATACAATAAACTAAATGTCTAAACCTATCTAAAT
ATGTTCGTCACAGAAGCTGTCACTGAAGTCGTCCAGATTTGGAAGTTCAGGAAGGCCCTGTGG
AGATCCAACGCTCTCCTGATGTTGTGGTTGAACCGTATCTGGACGTGGTAGATCCTGGTGTT
GGTGTAGAGTGGTCCCTCGACCCTGGTTATCTTGAAATATAGGGGATTTGGTACCTCCAGAA
TATACGCGCCATGCTCTGCTTGAGGTGCAGTGATGAGTTCCCCTGTGCGTGAATCCATGGCC
TACGCAGTTGATGTGGATGTATACTGAGCAGCCGCACTCGAGGTCTACCCGTCTACGGCGAA
TCGCACGCTTGCCTTTGGCTACTCTGTGCTGGACTTTGATAGAGGGGGGATTTCGAGGAAGAT
GAATTTTGCATTGTGGAGAGTCCAGTTCCTTAGTGAAACATTCTCTTCTCTCCAAGAATGA
TTTATAACTGGAACCTCTCCTGGATTGCAAAGCACGATTGAGGGAATGCCTCCTTTAATTTG
AACTGGCTTTCCGTATTTACAATTGGACTGCCAGTCCTTCTGGGCCCAATCAGCTCTTTCCA
GTGCTTTTTCTTTAAATAATCTGGAATGACGTCATCGATGACGTTATACTCCGCTTCATTTGA
GTA AACCTAGAAATTTAAATCCAGGTGTCCGCTCAAATAATTATGTGGGCCAGTGCACGTG
CCCACATCGTCTCCCCGTTTCGACTATCGCCCTCGACGATTATACTAATAGGTCTCTCCGGCC
GCGCAGCGGCACCTCTACCAAATACTCATCAGCCATTCTTGCATGTCCACCGGCACGTGA
GTGAATGATGAGAGGGGAAACGGAGGAACCCACGGTTCAGGCGCCTTGGCGAAGATGCGTT
CTAGATTGGAACGTATATTGTGGTGTGGAGGACGAAGTCCCTTCGGTTGTTCTCCCTCAATA
TAATGAGGGCCTCGGAGACGGAGGAAGCGTTGAGGACCTTGGCATATGTGTCGTTGGCAGA
TTGGCAACATCCTCTAGCTGATCTTCCATCGATCTGGA AAACTCCAAAATCAATGAAGTCTC

CGTCTTTCTCCACGTATGACTTAACGTCTGAGCTCGATTTAGCTCCCTGAATGTTCCGGATGGA
AATGTGCTGACCTGGTTGGGGATACCAGGTCAAGAATCTGCTATTTGTGCAGACGTATTTCC
CCCTCGAACTGGATGAGCACGTGGAGATGAGGCTCCCCATTCTCGTGGAACTCTCTAGAAAC
TCGAATGAATAGTTTTTTGGTAGGAGTGTTAATGCTTGTAATTGGGAAAGGGCCTCTCTTTT
ATTAAGAGAACAGTGAGGATATGTGAGAAAATAGTTTTTGGCATTAAACGAAATCGTTTTG
GTGGTGGCATATTTGTAAATAAATGGATGTCACCAATTGAGCTCTCTCAAACCTGCTCTAGC
AATCGGTGAATTGGTGTACAATATATACTAGAACCCTCAATAGAACTCTCAATCTGGGTAC
ACACGTGGCGGCCATCCGTTATAATATT

DNA_B: Clone 23067_5

ACCGGATGGCCGCCGATTTTTTTGTCCCGGGTCCGCTCTCGCGTAGTTGAGCGCGTTTTTTGA
AGTCCCGCAAATGAGTTTATTATGTGATTTGAGTTCGCTGACGTGGTCAAATAACTTTAATT
TGAAATGAAGTGGAGTAATTTTATTTGTCCAATCATTTTCGCGTTGGCCGAGCTTATTTACAA
TACGTGGGCCCGAACTTTGAATTAGTGTGGCTTGTCTGTAAAGTATGGCCATAATGAGCAG
TGTATAATATTTTTGACGTGGACCAGTTAAATAATTTATAAGGAGTCTAATTAAGCCATATAT
GTAATGAGCAATTTTGTATTTAAATACACTAGTGATTGAATTTGAATTTTGTGTGACAAAATGT
ATTCTACTAAATATAGACGTGGGTTGATGTCTTCTCAACGACGAGGTGCTTCACGATATCCC
GTATTC AAGCGTTCGATTTCTGCGAAACGTAACGATGGGAAACGTCGATCGAGTAAATATAA
CAATCCCCATGAAGAGAGCAAGATGTCATCTCAGCGGATACATGAGAACCAATACGGGACA
GAATTTGTTATGGCCATAATTCCGCCATATCAACGTTTCATCACTTTCCCTAGTCGTGGTAAG
ATGGAATCGAACCGCTCCCGATCATATATTAAGTTAAAACGTTTACGTTTTAAAGGTAAGT
CAAACCTGAGCGTGTTC AAGCTGATGTGAATATGGACTGTTCAACGCCAAAAACCGAAGGA
GTTTTTCTTTGGTTATAGTTGTTGATCGTAAACCTCATCTGAGTGCATCGGGAACCTCTTAC
ACATTTGACGAGTTATTTGGTGAAGGATTCATAGTCATGGCAACTTAGCCATTTCTCCCGCT
TTGAAAGATCGCTTTTACATACGACATGTGTTGAAACGTGTTGTGTCCGTTGAGAAGGATAC
CATGATGGTTGATCTTGAAGGGACGACATCGTTTTCTACCAGGCGTTTTAATTGCTGGTGC
GTTTAGGGATCTGGATAGAGATTCATGTAATGGGGTTTATGCTAATATAAGCAAGAACGCCC
TTTTAGTGTATTATTGCTGGATGTCGGATGTTACGTCCAAGGCGTCCACATTTGTATCTTTTG
ATCTTGATTATGTCGGTTGAATATTAAGTGTATCTCCGCAAATTCATTAAGGGATTGAATTTT
ATACAAGATGTATGCTAATTGTATAAAACATTACAGTAAAATATAATCAGGCATTCTAATAA
TAATTGATTTTTGTAAAATATATATTATAGTAACTCAATATTTATTTCAACGATTTAGGCTGCG
AAGGAGTACAATTTGTGTTAATACACTCTTGGACGGTTGTCCTAACAATGTCGTTTAATTGG
GCCAATGACATTGTTATGTTGGATTGTGTCCTTTGTGCCCAACTATAGAAGCAGACTCACC
GGGATCTAAAATGGCAGTTCCTAATCTATTTAGTTCCTTATATGGATGTAGTGCGTCTCCGAA
GTCCGATTCACCTCTGAATGGCTTGGGCCAATCGTACTCCTTGCAGCCCATGACTCACCGG
GTTTTAGTTCAATTGGGCCGGGAAGCCCAAATCTAGATGTGGATGCGGATCTGATCAGCTTT
CTCTCCCATCTCCCATAGCCGACGTGGCAGAAATCGATATCCTTCTCCGTAAACTGTTTGGAC
AATATTTTTACAGTAGGTGCCCTGAAAGGTATATCGACAGAGTGTAGCCGTCGACAGTTT
GAGCTTTCCCTTGAACCTGGCGAAATGCGTCTCTGATGTACGTTTCGTGTGCGAAACTTTGTA
ATATAGCTTCCATGGAATTGGATCTTTGAGGGAAAAGAATGAAGATGAAAAATAATGGAGA
TCTATGTTACACCTTATCGGAAATGTCATGACGCCTGTAAGGATTCATTGTCTGTCATCCTC
TTGTCATGAATTTGACGATCACAGACCCTGTAGCGTTGATCGGTACCTGTTGCCGTGATTCT
ATGACGCAGTGGTCGATCTTCATACAGCTACGGCTGAGTCTGGCGCTTAATTGAGCTGTCGT
CGACGGAAATTGTAGGATGATCTCGGTTAGGTCATGAGAAAGCTGATATTCGTCACGATGAG
ACTCTATATAATTGAAGGCGTTTGGTGGGTTTACTAGCTGAGCTTCCATTTGATGAATTATAT

TAATGAGAATTGGTCGCGCAGCGAGAGTGTTTTCTGAAATGAATGGGCGAATAGAATATGT
GAGAAATATCTTGTTGGTATGTTTCAGTGAGAGAAAATATGATATGAGGCTATTGCTATTGG
TAATAGGTTTAACTAATAACTCGTTATATAGACAGTGAAGTGTGTTATTTAAACATTTAAAC
GTTAGTGTGAGGTGTACATGGCTCTTATTTACATTTAATTTTAAACCCTTTGGTAGGGGCATT
GTTGTAAATAATAAATGGCAGTCTTGTAATAAATGGATGTCACCAATTGAGCTCTCTCAA
CTTGCTCTGGCAATCGGTGAATTGGTGTACAATATATAGTAGAAGGCTCAATAGAAGTCTCA
ATCTTGGACACACACGTGGCGGCCATCCGTTATAATATT