



UFAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**



CECA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BEGOMOVÍRUS NA CULTURA DO
TOMATEIRO NO MUNICÍPIO DE ARAPIRACA-AL**

ÉRIKA CRISTINA SOUZA DA SILVA CORREIA

**RIO LARGO,
Estado de Alagoas
2011**

ÉRIKA CRISTINA SOUZA DA SILVA CORREIA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BEGOMOVÍRUS NA CULTURA DO
TOMATEIRO NO MUNICÍPIO DE ARAPIRACA-AL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Centro de Ciências Agrárias como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Engenheira Agrônoma.

Orientadora: Iraildes Pereira Assunção.

**RIO LARGO,
Estado de Alagoas
2011**



ATA DE REUNIÃO DE BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE TRABALHO
DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 28 (vinte e oito) dias do mês de Junho do ano de 2011, às 12h00min (Doze) horas, sob a Presidência do (a) Professor (a) Dr^a. **Iraíldes Pereira Assunção**, em sessão pública na sala do mestrado do Centro de Ciências Agrárias, km 85 da BR 104 Norte, Rio Largo-AL, reuniu-se a Banca Examinadora de defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado "**Caracterização molecular de begomovirus na cultura do tomateiro no município de Arapiraca-AL**" do (a) aluno (a) **Érika Cristina Souza da Silva Correia**, sob matrícula **2007G0103**, requisito obrigatório para conclusão do Curso de Agronomia, assim constituída: Prof^a. Dr^a. **Iraíldes Pereira Assunção**, CECA/UFAL (orientador); Prof. Dr. **Gaus Silvestre de Andrade Lima**, CECA/UFAL e Dr^a. **Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva**, Bolsista PRODOC/CAPES/UFAL. Iniciados os trabalhos, foi dado a cada examinador um período máximo de 30 (trinta) minutos para a arguição ao candidato. Terminada a defesa do trabalho, procedeu-se o julgamento final, cujo resultado foi o seguinte, observada a ordem de arguição: Prof^a. Dr^a. **Iraíldes Pereira Assunção**, nota 9,5 (Nove e meio), Prof. Dr. **Gaus Silvestre de Andrade Lima**, nota 9,5 (Nove e meio) e Dr^a. **Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva**, nota 9,5 (Nove e meio). Apuradas as notas, o candidato foi considerado **APROVADO**, com média geral **9,5 (Nove e meio)**. Na oportunidade o candidato foi notificado do prazo de máximo de 30 (trinta) dias, a partir desta data, para entregar a Coordenação do Trabalho de Conclusão de Curso, devidamente protocolada, da versão definitiva do trabalho defendido, em 4 (quatro) vias, impressas e encadernadas e uma cópia digitalizada em CD com as correções sugeridas pela Banca, sem o que esta avaliação se tornará sem efeito, passando o aluno a ser considerado reprovado. Nada mais havendo a tratar, os trabalhos foram encerrados para a lavratura da presente ATA, que depois de lida e achada conforme, vai assinada por todos os membros da Banca Examinadora, pelo coordenador (a) do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) e pelo coordenador (a) do Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo/AL, 28 de Junho de 2011.

1º Examinador


Prof^a. Dr^a. **Iraíldes Pereira Assunção** (Orientador)

2º Examinador


Prof. Dr. **Gaus Silvestre de Andrade Lima**

3º Examinador


Dr^a. **Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva**

Coordenador do TCC


Prof^a Dr^a **Roseane Cristina Prêdes Trindade**

Prof^a Dr^a **Roseane Cristina Prêdes Trindade**
Coordenadora de TCC
do Curso de Agronomia

Coordenador do Curso de Agronomia


Prof^a Dr^a **Leila de Paula Rezende**

Prof^a Dr^a **Leila de Paula Rezende**
Coordenadora do Curso de Agronomia

Esta conquista a minha amada mãe, Josefa Souza da Silva meu porto seguro, pelo inestimável amor, incentivo e apoio em todos os momentos desta importante etapa em minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A minha imensa gratidão a Deus, real em minha vida e guia das pessoas que amo, por iluminar meus passos, dando-me, sobretudo sabedoria, força e coragem para chegar ao fim dessa jornada;

A minha mãe e amiga, Josefa Souza da Silva responsável pela minha formação, pela dedicação, apoio e incentivo para continuar e nunca desistir diante das dificuldades;

Aos meus queridos avós maternos, verdadeiras bênçãos de Deus, José Francisco da Silva (in memoriam) e Eudália de Souza Silva, pela presença marcante em minha vida e pelas inesquecíveis recordações da minha infância;

A minha irmã, Elisiane Carla que torna a minha vida mais alegre e feliz, pela incessante demonstração de amor, carinho e confiança;

Aos meus tios, Joelson Souza, Antônio Francisco e Eliza Mathias, que desde os primeiros passos ajudaram-me a trilhar o caminho e sempre estiveram presente nas horas difíceis, além dos incentivos para que eu sempre me dedicasse aos meus estudos;

Aos meus primos, Eritan Mathias, Erivan Mathias e Erilane Mathias pela amizade, incentivo e apoio e, particularmente a Elayne Mathias, pois, além de ter me acolhido durante todo o curso, compartilhou comigo os momentos de tristezas e também de alegrias, nesta etapa, em que, com a graça de Deus, está sendo vencida;

Ao companheiro de tantos anos de minha mãe, José Antônio (in memoriam), por todo apoio e incentivo;

A Universidade Federal de Alagoas - UFAL e ao Centro de Ciências Agrárias - CECA, pela oportunidade de execução deste curso;

A minha orientadora Prof^a. Iraildes Pereira Assunção e ao prof. Gaus Silvestre de Andrade pela oportunidade que me foi dada no Laboratório, pela orientação, pelas condições de trabalho oferecidas e por todo o aprendizado durante minha jornada científica;

A Dr^a. Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva, por todos os ensinamentos, pela amizade e pelo enorme empenho na elaboração deste trabalho;

A todos os professores do curso de graduação em Agronomia pelos conhecimentos, experiências e ensinamentos transmitidos, em especial, as professoras Maria de Fátima Muniz e Edna Peixoto exemplos de profissionalismo, pela amizade, incentivo e por estarem sempre disponíveis para ajudar;

A coordenadora do curso de Agronomia, Prof^a. Leila de Paula Rezende pela amizade, prontidão e dedicação.

Aos meus queridos amigos de turma Bruno França, Daniel Borges, Djison Silvestre, Igor Tenório e Rafael Balbino, pelos momentos inesquecíveis, amizade e ajuda, sentirei saudade;

Aos meus amigos do Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal, Arthur Tenorio, Liliane Dias, Marília Barros, Mayra Ferro e Sheila Tavares, pelos bons momentos de descontração, pela ajuda dispensa e acima de tudo pela amizade construída.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	VIII
RESUMO.....	IX
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Origem, classificação e importância econômica da cultura do tomateiro.....	12
2.2. Família <i>Geminiviridae</i>	14
2.2.1. Taxonomia da família <i>Geminiviridae</i>	14
2.2.2. Organização genômica dos begomovírus.....	15
2.2.3. Replicação viral.....	17
2.2.4 Transmissão dos begomovírus.....	18
2.2.5. Movimento célula-a-célula e a longa distância.....	20
2.3. Begomovírus em tomateiro no Brasil.....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1. Local do experimento.....	25
3.2. Origem dos isolados e extração do DNA total.....	25
3.3. Detecção de geminivírus por meio da reação da polimerase em cadeia (PCR)....	26
3.4. Sequenciamento parcial e análise filogenética dos isolados virais.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5. CONCLUSÃO.....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

LISTA DE FIGURAS

Página

- Figura 1.** Representação esquemática do genoma do *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV), espécie-tipo do gênero *Begomovirus*. Os círculos representam o genoma viral, com dois componentes (DNA-A e DNA-B) de aproximadamente 2.600 nucleotídeos cada. Uma sequência de aproximadamente 200 nucleotídeos, denominada região comum (CR), contém a origem de replicação viral, com uma estrutura em forma de grampo e uma sequência invariável de nove nucleotídeos (TAATATT↓AC), conservada em todos os membros da família *Geminiviridae*. A seta (↓) indica o sítio de início da replicação do DNA viral por círculo rolante. As setas azuis e vermelhas indicam os genes virais e a direção em que ocorre a transcrição (viral e complementar, respectivamente). Reproduzido de (GUTIERREZ et al., 2004)..... 16
- Figura 2.** Moscas-brancas (*Bemisia tabaci*) na fase adulta..... 19
- Figura 3.** Planta de tomate exibindo amarelecimento de nervura, coletada no município de Arapiraca-AL..... 25
- Figura 4.** Produtos de PCR amplificados a partir do DNA-A de begomovirus de plantas de tomate. M = Marcador de peso molecular (1 kb DNA Plus Ladder); 1-23 = Produtos de PCR amplificados a partir da DNA-A de plantas de tomate. Controle positivo (+) e controle negativo (-)..... 29
- Figura 5.** Árvore Neighbor-joining baseada na sequência parcial e nucleotídeos do DNA-A de begomovírus que infectam tomateiro (Arapiraca –AL) e outros begomovírus brasileiros..... 34

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Oligonucleotídeos utilizados na amplificação de fragmentos do componente A do genoma viral.....	26
Tabela 2. Begomovírus usados nas comparações de sequências par-a-par e análises filogenéticas.....	28
Tabela 3. Porcentagem de identidade entre sequências parciais de nucleotídeos do DNA-A dos vírus detectados em tomateiro no estado de Alagoas e outras seis espécies de begomovírus brasileiros que infectam essa cultura.....	31

CORREIA, E. C. S. S. **Caracterização molecular de begomovírus na cultura do tomateiro no município de Arapiraca-AL.** Rio Largo: Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Alagoas, 2011. 46p. (Trabalho de Conclusão de Curso).

O tomateiro (*Solanum Lycopersicon* L.) é cultivado em diversas regiões durante todo o ano, propiciando assim condições favoráveis ao surgimento de inúmeras doenças incluindo as causadas por vírus. Dentre as viroses consideradas como limitantes a esta cultura destacam-se as causadas por begomovírus, que pertencem à família *Geminiviridae*. Os begomovírus brasileiros, em sua maioria, possuem dois componentes genômicos (DNA-A e DNA-B), são transmitidos por moscas-brancas (*Bemisia tabaci*) e infectam plantas dicotiledôneas. A alta incidência de begomovírus em tomateiros deve-se principalmente à introdução e dispersão de um novo biótipo (biótipo B) do inseto vetor. Este biótipo é polífago e com maior capacidade de multiplicação do que o biótipo A, antes predominante no país. O presente trabalho teve como objetivos a caracterização molecular de isolados de begomovírus que infectam plantas de tomate no município de Arapiraca, estado de Alagoas. A detecção foi realizada pela técnica de PCR utilizando como molde o DNA extraído de plantas com sintomas de infecção por begomovírus, coletadas no município de Arapiraca-AL. Foi detectada a presença de begomovírus nas 23 amostras coletadas. As análises de comparação de sequências e filogenéticas sugerem a presença de duas prováveis novas espécies e dois novos isolados indicando uma alta diversidade genética dos begomovírus desse trabalho. A espécie representada pelas amostras EC01, EC02, EC03, EC06-E23 foi predominante sobre a espécie EC04, indicando prevalência deste begomovírus no campo.

Palavras-chave: *Geminivirus*, *Solanum lycopersicon*, Diversidade genética.

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicon* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.) pertence à família Solanaceae, gênero *Solanum* seção *Lycopersicon* (PERALTA et al., 2005). Além de possuir propriedades benéficas para a saúde humana, a cultura é reconhecida como poderosa fonte geradora de emprego e renda em todos os segmentos de sua cadeia produtiva (SILVA; GIORDANO, 2000), o que tornou a tomaticultura uma atividade agrícola de grande importância socioeconômica, amplamente difundida no mundo (LOPES; AVILA, 2005).

A cultura do tomateiro apresenta grande importância econômica no Brasil pelo volume e valor da produção a qual é destinada ao consumo in natura e ao processamento industrial (SANTOS et al, 2009). Atualmente o maior produtor mundial de tomate é a China (FAOSTAT, 2011). O Brasil ocupa o nono lugar no ranking da produção mundial, com uma produção de 4.049.881 toneladas, plantados numa área de 65.070 mil hectares. No Nordeste, a cultura é explorada principalmente por pequenos agricultores rurais sendo os maiores produtores os estados de Pernambuco, Bahia e Ceará (IBGE, 2010). A produção de tomate no estado de Alagoas em 2006 foi de 2.400 toneladas, mostrando-se pouco representativa (PAM, 2006), concentrada principalmente em Arapiraca e municípios vizinhos e tendo se mostrado uma opção para substituir a cultura do fumo, se consolidando como ótima oportunidade para geração de renda, principalmente para pequenos agricultores (SEPLAN, 2011). Muitas doenças são responsáveis por perdas severas na produção, mas, recentemente as geminiviroses causadas por espécies do gênero *Begomovirus*, tem proporcionado elevados prejuízos econômicos aos produtores de tomate (INOUE-NAGATA et al., 2009).

O gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) inclui vírus com genoma composto por DNA circular fita simples (ssDNA), composto por um ou dois componentes genômicos, transmitidos pela mosca-branca *Bemisia tabaci* a espécies dicotiledôneas (FAUQUET et al., 2008). Os begomovírus que ocorrem no Brasil apresentam dois componentes genômicos denominados DNA-A e DNA-B. O DNA-A contém os genes envolvidos na replicação e encapsidação do genoma viral. No DNA-B encontram-se os genes requeridos para o movimento intra e intercelular na planta (LAZAROWITZ, 1992). Dentre os begomovírus de maior importância econômica estão o *Bean golden mosaic virus* (BGMV), o *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) e o

African cassava mosaic virus (ACMV).

No Brasil, a introdução do biótipo B de *B. tabaci* no início da década de 1990 contribuiu para o aumento na incidência e severidade das viroses causadas por begomovírus em tomateiro, bem como para a diversidade de suas espécies (RIBEIRO et al., 2003). Atualmente um complexo de espécies de begomovírus, isoladas de tomateiro no país, foi identificada com base em sequências parciais ou completas do genoma do DNA-A. As espécies *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), *Tomato severe rugose virus* (ToSRV), *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) e *Tomato yellow spot virus* (ToYSV) são aceitas como espécies definitivas (FAUQUET et al., 2008) e cerca de dez outras esperam por uma definição taxonômica.

A caracterização molecular e biológica das espécies de begomovírus que infectam tomateiro é de grande importância para aumentar o conhecimento sobre a variabilidade genética dessas espécies. O entendimento da variabilidade de populações de vírus é necessário para entender como esses evoluem, além de fornecer informações fundamentais para o desenvolvimento de estratégias eficientes e duráveis de controle de viroses (SEAL; JEGER; VAN DEN BOSCH, 2006).

O primeiro relato de infecção do tomateiro por um begomovírus no estado de Alagoas foi feito no município de Novo Lino, sendo a espécie provisoriamente denominada *Tomato mottle leaf curl virus* (SILVA et al., 2004). Diante da importância do cultivo de hortaliças para os pequenos produtores do Agreste Alagoano, o presente trabalho teve como principais objetivos a detecção e caracterização molecular dos begomovírus que infectam tomateiro no município de Arapiraca-AL, visando à obtenção de informações para o desenvolvimento de estratégias para controlar as viroses causadas pelas espécies desse gênero.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Origem, classificação e importância econômica da cultura do tomateiro*

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.) é originário da América do Sul e encontra-se amplamente cultivado e consumido em todo o mundo (PERALTA et al., 2005; LOPES; ÁVILA, 2005). As espécies selvagens do tomateiro são nativas da região Andina que abrange parte do Chile, Colômbia, Equador, Bolívia e Peru. Embora as formas ancestrais sejam originárias dessa área, sua ampla domesticação se deu no México, chamado de centro de origem secundário (SANTOS, 2009). Inicialmente, era cultivado apenas como planta ornamental, pois seus frutos eram considerados nocivos, devido a sua coloração avermelhada, intimamente relacionada, à época, com perigo e morte. Há evidências de que foram os italianos os primeiros a cultivarem o tomate, por volta de 1550, a princípio pela curiosidade e valor ornamental de seus frutos. No Brasil, seu hábito de consumo foi introduzido por imigrantes europeus no final do século XIX (FILGUEIRA, 2003).

Quanto à sua classificação, tomateiro é uma planta dicotiledônea, autógama pertencente à família Solanaceae, gênero *Solanum* seção *Lycopersicon*. O gênero *Solanum* apresenta 13 espécies agrupadas em dois complexos: o complexo *Esculentum* engloba as espécies *Solanum lycopersicum*, *S. cheesmanieae*, *S. pimpinelifolium*, *S. chmielewskii*, *S. neorickii*, *S. habrochaintes* e *S. pennelli*. Já o complexo *Peruvianum* inclui as espécies *Solanum chilense*, *S. peruvianum*, *S. arcanum*, *S. corneliomuelleri* e *S. hauylasense*. (PERALTA et al., 2005). A maioria das espécies presentes nos dois complexos são silvestres sendo exploradas em programas de melhoramento para introgressão de genes de resistência a patógenos, insetos e melhoria da qualidade nutritiva do fruto (LOURENÇÃO et al., 1999; SILVA; GIORDANO, 2000; ARAGÃO et al., 2002).

A planta de tomate é herbácea, de caule flexível, piloso, cuja arquitetura natural lembra uma moita, com abundante ramificação lateral. Suas flores são hermafroditas, pequenas e amarelas, com formato de cachos ou racemo (SILVA; GIORDANO, 2000). O fruto é do tipo baga, com formato e tamanhos distintos, constituindo-se de película, polpa, placenta e sementes. Internamente, é dividido em lóculos onde as sementes

encontram-se imersas na mucilagem placentária (MELO, 1989).

A cultura é encontrada em clima relativamente fresco, árido, contudo, adapta-se a um amplo leque de condições climáticas, variando entre temperada a quente e úmida tropical, permitindo o seu cultivo em diversas regiões do mundo (SILVA; GIORDANO, 2000). No entanto, para que os rendimentos sejam ótimos, esta cultura tem requerimentos específicos como variação de temperatura de 20 a 25°C no dia e de 11 a 18°C à noite; acima de 35°C há prejuízo na frutificação, temperaturas baixas retardam a germinação e o desenvolvimento, produzindo frutos mal-formados, ocos e leves. A planta também requer solos permeáveis, profundos, bem drenados, com bom teor de Ca e Mg, com pH variando de 6 a 6,5, areno-argilosos (NAIKA et al., 2006).

O tomate é uma hortaliça de grande aceitação entre diferentes mercados consumidores. Além de possuir propriedades alimentícias benéficas para a saúde humana, a cultura é reconhecida como poderosa fonte geradora de emprego e renda em todos os segmentos de sua cadeia produtiva, o que tornou a tomaticultura uma atividade agrícola de grande importância socioeconômica, amplamente difundida no mundo (SILVA; GIORDANO, 2000; LOPES; ÁVILA, 2005).

A cultura constitui duas cadeias produtivas distintas, caracterizadas pelos segmentos de mesa, destinado ao consumo *in natura*, e de indústria, destinado ao processamento (SANTOS, 2009). Por se tratar de uma cultura com um ciclo relativamente curto e de altos rendimentos, a produção global do tomate duplicou nas últimas três décadas com maior contribuição da produtividade do tomate industrial devido à utilização de cultivares mais produtivas, enquanto que na produção de tomate para consumo *in natura* a expansão acompanhou apenas o crescimento populacional. (FAOSTAT, 2011). Atualmente o maior produtor mundial de tomate é a China, seguida pelos Estados Unidos, Turquia e Índia. O Brasil ocupa o nono lugar no ranking da produção mundial, com uma produção de pouco mais de quatro milhões de toneladas plantadas numa área de 65.070 mil hectares. Na safra 2009/2010, a produção de tomate no Brasil, alcançou a marca de 4.049.881 toneladas, com a região Centro-Oeste destacando-se como a maior produtora, contribuindo para isso os estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal. Somente o estado de Goiás, considerado o estado maior produtor do país, produziu nessa safra cerca de 1.423.629 ton, de acordo com os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010). Em 2006 foram produzidas 2.400 ton de tomate no estado Alagoas (PAM, 2006).

O município de Arapiraca apresenta atualmente uma área plantada de 20 hectares com as variedades IPA-6, Supera, CM-16 e TY, com uma produção de aproximadamente 37,12 ton/ha, (SEAGRI, 2011).

Dentre os diversos fatores que afetam a produtividade dessa cultura destacam-se os problemas fitossanitários causados pelo ataque de pragas e patógenos. Muitas doenças são responsáveis por perdas severas na produção, mas, recentemente as geminivirose causadas por espécies do gênero *Begomovirus*, tem proporcionado elevados prejuízos econômicos aos produtores de tomate (INOUE-NAGATA et al., 2009).

2.2. Família *Geminiviridae*

2.2.1. Taxonomia da família *Geminiviridae*

Os vírus pertencentes à família *Geminiviridae* apresentam genoma composto de DNA de fita simples (ssDNA) circular encapsidado em partículas icosaédricas geminadas. A família é dividida em quatro gêneros: *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus* e *Begomovirus*, com base no tipo de inseto vetor, gama de hospedeiros, organização genômica e relacionamento filogenético (STANLEY et al., 2005). O gênero *Mastrevirus* inclui os geminivírus com um componente genômico, transmitidos por diversas cigarrinhas (Homoptera: Cicadellidae) a plantas monocotiledôneas. A espécie-tipo é o *Maize streak virus* (MSV), um vírus economicamente importante para a cultura do milho (*Zea mays*). No gênero *Curtovirus* estão os geminivírus com um componente genômico, transmitidos por diversas cigarrinhas (Homoptera: Cicadellidae) a plantas dicotiledôneas. O *Beet severe curly top virus* (BSCTV) é a espécie-tipo mais importante economicamente. O gênero *Topocuvirus* possui uma única espécie, o *Tomato pseudo-curly top virus* (TPCTV), com um componente genômico, transmitida pela cigarrinha *Micrutalis malleifera* (Homoptera: Auchenorrhyncha) a plantas dicotiledôneas. O gênero *Begomovirus* engloba espécies com um ou dois componentes genômicos, transmitidas pela mosca-branca *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) a plantas dicotiledôneas (STANLEY et al., 2005). A espécie-tipo é o *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV) (FAUQUET et al., 2008).

Os begomovírus do “Velho Mundo” (Europa, Ásia e África) possuem em sua

maioria um componente genômico (monossegmentados), e estão frequentemente associados a moléculas de ssDNA circular conhecidas como DNA β (betassatélites) e DNA-1 (alfassatélites) (BRIDDON, 2003; BRIDDON; STANLEY, 2005). Os begomovírus do “Novo Mundo” possuem dois componentes genômicos (bissegmentados), denominados DNA-A e DNA-B.

No entanto, alfassatélites foram recentemente identificados no Brasil e na Venezuela, associados aos begomovírus bissegmentados *Cleome leaf crumple virus* (CILCrV), *Euphorbia mosaic virus 1* (EuMV) e Melon chlorotic mosaic virus (MeCMV) (PAPROTKA; METZLER; JESKE, 2010a; ROMAY et al., 2010). Além dos alfassatélites foi relatada a presença de dois begomovírus monossegmentados, *Sweet potato leaf curl São Paulo virus* (SPLCSPV) e *Sweet potato leaf curl virus - São Paulo* (SPLCV-SP) infectando batata-doce no estado de São Paulo, sendo esses os primeiros relato de alfassatélites e begomovírus monossegmentados ocorrendo naturalmente no “Novo Mundo” (Américas).

2.2.2. Organização genômica dos begomovírus

O genoma dos *Begomovirus* é composto por duas moléculas de DNA circular de fita simples, denominados DNA-A e DNA-B, cada um com aproximadamente 2,6 kb (figura 1). O DNA-A contém os genes envolvidos na replicação e encapsidação do genoma viral. No DNA-B encontram-se os genes requeridos para o movimento intra e intercelular na planta. Ambos os componentes são essenciais para a infecção sistêmica eficiente do vírus na planta (LAZAROWITZ, 1992). Os dois componentes genômicos de uma mesma espécie viral não possuem identidade entre as suas sequências, exceto por uma região com aproximadamente 200 nucleotídeos denominada região comum (RC), que inclui a origem de replicação (HANLEY-BOWDOIN et al., 1999).

O DNA-A dos begomovírus bissegmentados tem o potencial de codificar de quatro a seis proteínas: uma proteína associada à replicação, Rep (“replication-associated protein”), iniciadora do mecanismo de replicação por círculo rolante, com propriedade de ligação a ácidos nucleicos, endonuclease e ATPase (FONTES; LUCKOW; HANLEY-BOWDOIN, 1992; OROZCO et al., 1997); uma proteína transativadora, TrAP (“trans-activating protein”), fator transcricional dos genes *CP* e *NS* e que também atua como supressora do silenciamento gênico (SUNTER; BISARO,

1992; VOINNET; PINTO; BAUCOMBE, 1999; WANG et al., 2005); a proteína Ren (“replication-enhancer protein”), fator acessório da replicação viral (SUNTER et al., 1990; PEDERSEN; HANLEY-BOWDOIN, 1994); e a proteína capsial (“coat protein”, CP), que além de formar o capsídeo viral é essencial para a transmissão do vírus pelo inseto vetor (BRIDDON et al., 1990; HÖFER et al., 1997a). O gene AV2 (“pre-coat”) está presente apenas nos begomovírus do “Velho Mundo”, e atua no movimento do vírus na planta (PADIDAM; BEACHY; FAUQUET, 1996). O gene AC4 codifica uma proteína supressora de silenciamento gênico (VANITHARANI et al., 2004). O DNA B codifica a proteína MP (“movement protein”), envolvida no movimento célula-a-célula do vírus por meio do aumento do limite de exclusão dos plasmodesmas (NOUEIRY; LUCAS; GILBERTSON, 1994), e a proteína NSP (“nuclear shuttle protein”), responsável pelo transporte do DNA através do envelope nuclear (NOUEIRY; LUCAS; GILBERTSON, 1994; SANDERFOOT; INGHAM; LAZAROWITZ, 1996)

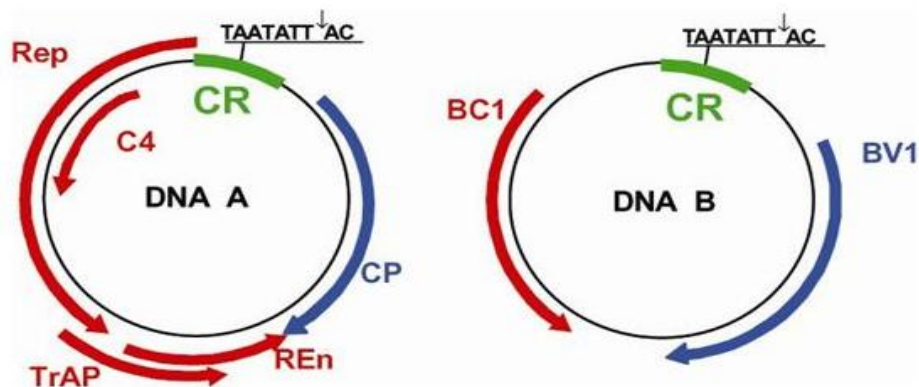


Figura 1. Representação esquemática do genoma do *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV), espécie-tipo do gênero *Begomovirus*. Os círculos representam o genoma viral, com dois componentes (DNA-A e DNA-B) de aproximadamente 2.600 nucleotídeos cada. Uma sequência de aproximadamente 200 nucleotídeos, denominada região comum (CR), contém a origem de replicação viral, com uma estrutura em forma de grampo e uma sequência invariável de nove nucleotídeos (TAATATT↓AC), conservada em todos os membros da família *Geminiviridae*. A seta (↓) indica o sítio de início da replicação do DNA viral por círculo rolante. As setas azuis e vermelhas indicam os genes virais e a direção em que ocorre a transcrição (viral e complementar, respectivamente). Reproduzido de GUTIERREZ et al., (2004).

2.2.3. *Replicação viral*

No processo de infecção dos geminivírus, as partículas virais são inoculadas na planta pelo inseto vetor e o genoma viral (ssDNA) se desassocia de forma espontânea do capsídeo (LAZAROWITZ, 1992; PALMER; RYBICKI, 1998). No interior da célula o ssDNA viral é transportado para o núcleo, onde é convertido em um intermediário de fita dupla (dsDNA) denominado forma replicativa (RF). A RF serve como molde para síntese dos novos componentes genômicos via mecanismo de círculo rolante e também para a transcrição dos genes virais (STANLEY, 2005).

A origem de replicação (*ori*) está localizada na região intergênica comum entre os dois componentes genômicos. A sequência da *ori* é conservada entre componentes de um mesmo vírus, porém variável entre espécies, com exceção de uma região de aproximadamente 30 nucleotídeos conservada entre todas as espécies (DAVIES et al., 1987; LAZAROWITZ, 1992). Nesta região se localiza uma sequência repetida e invertida composta predominantemente por guanina e citosina, formando uma estrutura conservada em forma de grampo (“structurally-conserved element”, SCE), com uma sequência invariável (5'-TAATATTAC-3') encontrada em todos geminivírus, que constitui o domínio funcional da origem de replicação (HEYRAUD-NITSCHKE et al., 1995; OROZCO; HANLEY-BOWDOIN, 1998). É nesse nonanucleotídeo que ocorre a clivagem (TAATATT↓AC) que inicia o processo de replicação por círculo rolante (FONTES et al., 1994; LAUFS et al., 1995). A clivagem é realizada pela proteína Rep, que atua como endonuclease sítio-específica com requerimento de estrutura e sequência (LAUFS et al., 1995; OROZCO; HANLEY-BOWDOIN, 1998). Na região comum encontram-se as sequências específicas para ligação da proteína Rep (FONTES; LUCKOW; HANLEY-BOWDOIN, 1992; FONTES et al., 1994) e regiões promotoras da RNA polimerase tipo II de plantas, responsável pela transcrição dos genes virais (HANLEY-BOWDOIN et al., 1999). O sítio de ligação de REP ao DNA viral está localizado entre a caixa TATA do gene *Rep* e a SCE (OROZCO; HANLEY-BOWDOIN, 1998), sendo constituído por duas sequências em repetição direta e pelo menos uma repetição invertida denominadas “iterons” (ARGÜELLO-ASTORGA et al., 1994). A ligação de Rep aos iterons é essencial para o início da replicação. Após a ligação de Rep ao DNA viral e estabilização do complexo formado por Rep, Ren e

fatores do hospedeiro, a proteína Rep cliva o nonanucleotídeo localizado na SCE, dando início à replicação por círculo rolante (GUTIERREZ, 1999). O reconhecimento pela proteína Rep é considerado vírus-específico (ARGÜELLO-ASTORGA et al., 1994; HARRISON; ROBINSON, 1999; RAMOS et al., 2003), de modo que só inicia a replicação de DNAs cognatos. O domínio funcional de Rep foi mapeado na sua região N-terminal, e este inclui o domínio de ligação a DNA, conservado em todas as proteínas Rep (JUPIN, 1995; GLADFELTER et al., 1997; CHATTERJI et al., 1999). Uma vez que o reconhecimento e ligação aos iterons por Rep é específico, foi proposto que esta depende da sequência de nucleotídeos dos iterons e dos aminoácidos de um motivo conservado na proteína Rep denominado domínio relacionado aos iterons (“iteron-related domain”, IRD) (ARGUELLO-ASTORGA; RUIZ-MEDRANO, 2001). Porém, a replicação do DNA-B do *Tomato yellow spot virus* (ToYSV) pela Rep do *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) indica que a interação entre os aminoácidos do IRD e os iterons não é a única forma de reconhecimento da origem de replicação, uma vez que tanto os iterons quanto os IRDs são diferentes entre esses dois vírus (ANDRADE et al., 2006b). Além disso, a ausência de iterons nos DNAs satélites associados a begomovírus é uma evidência adicional de que outros fatores afetam o reconhecimento da origem de replicação pela proteína Rep (LIN et al., 2003; STANLEY, 2004).

2.2.4. Transmissão dos begomovírus

Os begomovírus não são transmitidos via semente ou por contato entre plantas infectadas e sadias (SANTOS et al., 2003). Sua forma de introdução ou dispersão no campo ocorre pela ação da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Figura 2) a partir de fontes de vírus de áreas próximas, podendo ser de cultivos antigos como também de fontes alternativas no campo (TOSCANO, 2002). A mosca-branca é uma espécie cosmopolita, pertencente à ordem Hemiptera, subordem Homoptera, família *Aleyrodidae*, com 126 gêneros e 1156 espécies, cujo centro de origem acredita-se ser o Oriente, tendo sido introduzida na Europa, África e Américas, pelo homem, através de material vegetal. Sua distribuição está estreitamente relacionada à expansão da monocultura da maioria das espécies cultivadas, às condições dos sistemas agrícolas moderno, ao aumento da utilização de agrotóxicos e, principalmente, à grande facilidade em se adaptar aos diversos hospedeiros (SALGUERO, 1993; BROWN et al., 1993).



Figura 2. *Bemisia tabaci*, fase adulta. (Fonte: <http://agroecologiamt.blogspot.com>).

Moscas-brancas são insetos muito pequenos, medindo em torno de 1 a 2 mm, sendo as fêmeas maior que os machos. Os adultos possuem dois pares de asas brancas membranosas e o dorso de coloração amarelo pálido. Como suas asas cobrem quase todo o corpo, a cor predominante é o branco, daí ser erroneamente denominada de mosca-branca (TOSCANO et al., 2002). Seu ciclo de vida compreende quatro fases (ovo, ninfa, pupa e adulto), e está ligado diretamente com a temperatura ambiente e espécie de hospedeiro, sendo que em baixas temperaturas seu ciclo de vida diminui bastante (VILLAS-BÔAS, 2002). As fêmeas podem ovipositar de 130 a 300 ovos durante o seu ciclo de vida. A reprodução é sexuada ou por partenogênese arrenótoca, na qual fêmeas não fecundadas resultam em ovos que darão machos estéreis e, dependendo das condições climáticas, poderá ocorrer de 11 a 15 gerações por ano, em uma ou mais espécies hospedeiras. Tanto as ninfas como os adultos tem aparelho do tipo sugador (TOSCANO et al., 2002; VILLAS-BÔAS, 2002).

A mosca-branca apresenta alta variabilidade biológica intra-específica e genética e pode ser considerado um complexo de espécies, existindo 41 biótipos, sendo apenas, dois destes biótipos (A e B) encontrados no Brasil (RABELLO et al., 2008). No país, até por volta de 1991 era conhecido apenas o biótipo A quando então ocorreu a introdução do biótipo B, provavelmente via plantas ornamentais dos EUA (FRANÇA et al., 1996). Inicialmente acreditou-se que esse biótipo representasse uma nova espécie, que foi denominada de *B. argentifolli*. Posteriormente, análises morfológicas e moleculares, complementadas por ensaios de cruzamento e comportamento de acasalamento intra e interespecífico demonstraram que as diferenças existentes entre essas duas espécies não eram claras o bastante para uma distinção precisa (FRANÇA et al., 1996).

Apesar da introdução dessa variante do inseto no Brasil ser recente, o biótipo B tem se dispersado nos campos rapidamente, sendo considerada a espécie de mosca-branca que comumente devasta os cultivos agrícolas nas diversas regiões do país (FERNANDES, 2008). Atualmente o biótipo B está em todos os Estados brasileiros e apresenta alto nível de resistência a inseticidas, maior gama de hospedeiros e maior capacidade de dispersão quando comparado ao biótipo A (LIMA et al., 2002). Essas características fazem com que o biótipo B predomine em regiões onde anteriormente predominava o biótipo A.

A modalidade de transmissão de begomovírus por *B. tabaci* é do tipo circulativa não propagativa. A mosca-branca se alimenta do floema da planta, introduzindo o estilete extrai nutrientes, ao mesmo tempo o inseto adquire o vírus, e este circula na hemolinfa até atingir as glândulas salivares, e quando se alimenta transmite o vírus para uma nova planta, onde este se multiplica (LACERDA; CARVALHO, 2008; CZEPAK, et al., 2009). A capacidade de transmissão varia entre os biótipos, no entanto o biótipo B apresenta maior facilidade de transmissão de diferentes isolados virais (JONES, 2003).

2.2.5. Movimento célula-a-célula e a longa distância

O movimento do vírus no interior do hospedeiro pode ser dividido em dois processos: movimento célula-a-célula via plasmodesmas, e movimento a longa distância, no qual o vírus atinge o sistema vascular e é transportado sistemicamente para toda a planta. Para esse fim, a partir do DNA-B dos begomovírus bissegmentados são codificadas duas proteínas relacionadas ao movimento viral, NSP e MP. Como os begomovírus replicam no núcleo da célula hospedeira, necessitam de uma etapa adicional de transporte do núcleo para o citoplasma, a qual é realizada pela proteína NSP (PALMER; RYBICKI, 1998). Já a proteína MP associa-se à membrana celular e altera o limite de exclusão dos plasmodesmas, viabilizando o transporte do genoma viral (NOUEIRY; LUCAS; GILBERTSON, 1994). Estas duas proteínas atuam de forma cooperativa para mediar o tráfego intra e intercelular do DNA viral (SANDERFOOT; LAZAROWITZ, 1995), permitindo a infecção sistêmica.

Dois modelos tem sido propostos para explicar o movimento intracelular de begomovírus (LEVY; TZFIRA, 2010). No primeiro modelo, denominado “couple-skating” (KLEINOW et al., 2008), NSP transporta ssDNA ou dsDNA do núcleo para a

periferia da célula e, no citoplasma, MP atua nos plasmodesmas para facilitar o movimento célula-a-célula do complexo NSP-DNA (SANDERFOOT; LAZAROWITZ, 1995; FRISCHMUTH et al., 2004; KLEINOW et al., 2008). No segundo modelo, denominado “relay-race”, NSP inicialmente transporta o dsDNA do núcleo para o citoplasma. No citoplasma, o dsDNA se associa a MP, e o complexo MP-dsDNA se movimenta célula-a-célula através dos plasmodesmas (NOUEIRY; LUCAS; GILBERTSON, 1994; ROJAS et al., 1998).

Seguindo o movimento célula-a-célula, o vírus atinge os plasmodesmas associados ao tecido vascular e então inicia-se o movimento a longa distância. O movimento viral a longa distância é passivo, acompanhando o fluxo de fotoassimilados dos tecidos fonte para os tecidos dreno através do sistema vascular. A grande maioria dos vírus é transportada via floema na forma de partícula completa, atingindo, a partir do ponto de penetração, primeiramente as raízes, em seguida as folhas jovens e posteriormente a planta toda, estabelecendo uma infecção sistêmica (JEFFREY; POOMA; PETTY, 1996).

Para mastrevírus, curtovírus e begomovírus monossegmentados, a proteína CP é necessária para os movimentos célula-a-célula e a longa distância (ROJAS et al., 2001; GAFNI; EPEL, 2002). Além da CP, as proteínas V1 e C4 também são necessárias para o movimento de begomovírus monossegmentados. No caso de *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), a CP é responsável pelo transporte do DNA do núcleo para o citoplasma, funcionando como uma proteína análoga a NSP dos begomovírus bissegmentados, e o movimento célula-a-célula através do plasmodesma é mediado pelas proteínas C4 e/ou V1 (ROJAS et al., 2001; 2005b).

A proteína CP é dispensável para o estabelecimento da infecção sistêmica de begomovírus bissegmentados na maioria dos casos já estudados (ROJAS et al., 2005a). Tanto MP quanto NSP reconhecem o DNA viral de maneira específica com relação à forma e comprimento (ROJAS et al., 1998; GILBERTSON et al., 2003), o que elimina a necessidade da proteína capsidial para o movimento a longa distância. Raras exceções, como o begomovírus bissegmentado *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), são capazes inclusive de infectar sistemicamente alguns hospedeiros na ausência do DNA-B cognato (GALVÃO et al., 2003; FONTENELLE et al., 2007).

2.3. *Begomovirus em tomateiro no Brasil*

Durante as duas últimas décadas, begomovírus têm emergido como um dos principais patógenos de plantas, particularmente nas regiões tropicais e subtropicais no mundo, causando severas perdas econômicas (MORALES, 2006). No Brasil, as culturas mais severamente afetadas são o feijoeiro e tomateiro (FARIA; MAXWELL, 1999; ZERBINI et al., 2005).

O primeiro relato de begomovírus em tomateiro no Brasil foi feito na década de 1970 (COSTA; OLIVEIRA; SILVA, 1975). O vírus foi caracterizado e denominado *Tomato golden mosaic virus* (TGMV). Além do *Tomato golden mosaic virus* (TGMV), cinco outros vírus transmitidos por mosca-branca foram identificados, porém sem causar danos de importância econômica (MATYIS et al., 1975). Isso provavelmente ocorria porque o biótipo A de *B. tabaci*, o único presente no país naquela época, colonizava o tomateiro com baixa eficiência (BEDFORD et al., 1994).

Por volta de 1992 no estado de São Paulo foi constatada a presença de um novo biótipo de *B. tabaci* (biótipo B), o qual foi possivelmente introduzido no Brasil pela importação de plantas ornamentais oriundas da Europa ou EUA (MELO, 2002). Durante o início da década de 1990, o biótipo B de *B. tabaci* disseminou-se rapidamente pelas regiões quentes e secas do Brasil, incluindo as principais regiões produtoras de tomate (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994). Em 1993, foi confirmada a presença do biótipo B no Distrito Federal, associadas a sintomas de infecção por begomovírus em tomateiro para processamento industrial (RIBEIRO et al., 2003). A sequência de nucleotídeos obtidas de fragmentos de PCR das plantas sintomáticas revelou se tratar de uma nova espécie de begomovírus, distinta do TGMV, a qual foi denominada *Tomato chlorotic vein virus* (TCLVV) (BEZERRA et al., 1996; RIBEIRO et al., 2003). Até o momento, a caracterização molecular desse vírus ainda não foi completada.

Em 1996, um begomovírus foi identificado causando mosaico e deformação foliar em tomateiro no Triângulo Mineiro (RESENDE et al., 1996; ZERBINI et al., 1996). A caracterização biológica, molecular e a comparação da sequência completa de nucleotídeos do DNA-A e DNA-B, comprovou se tratar de uma nova espécie, o *Tomato rugose mosaic virus*, ToRMV (RIBEIRO et al., 2003; FERNANDES et al., 2006). No mesmo ano, outra espécie nova de begomovírus foi isolada de tomateiro na Zona Metalúrgica de Minas Gerais, a nova espécie foi designada *Tomato chlorotic mottle*

virus (ToCMoV) (ANDRADE et al., 2002; RIBEIRO et al., 2003). Isolados desse vírus foram identificados na Bahia, Espírito Santo, Pernambuco e Rio de Janeiro (RIBEIRO et al., 2003). Em São João de Bicas, Minas Gerais, um novo isolado de begomovírus (MG-Bi2) foi identificado causando sintomas severos em tomateiro. O isolado foi caracterizado biologicamente e molecularmente, demonstrando tratar-se de uma nova espécie designada *Tomato yellow spot virus* (ToYSV) (CALEGARIO et al., 2007).

O surgimento deste complexo de espécies de begomovírus em tomateiro no Brasil coincidiu com a introdução e disseminação do biótipo B de *B. tabaci* (AMBROZEVICIUS et al., 2002; RIBEIRO et al., 2003). Desde então, as espécies de begomovírus TGMV, ToCMoV, ToRMV, ToSRV e ToYSV são aceitas como espécies definitivas (FAUQUET et al., 2008). Além dessas, três novas espécies tentativas (Tomato common mosaic virus, ToCmMV; Tomato leaf distortion virus, ToLDV; Tomato mild mosaic virus, ToMIMV) identificadas com base na sequência do genoma completo (CASTILLO-URQUIZA et al., 2008), e seis outras foram descritas a partir de sequências parciais (RIBEIRO et al., 2003; FERNANDES et al., 2008) aguardam uma definição taxonômica. Algumas dessas espécies encontram-se amplamente distribuídas pelo país, enquanto outras estão restritas a certas regiões. Por exemplo, o ToSRV já foi relatado nos estados de Goiás, Minas Gerais, Pernambuco, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo (REZENDE et al., 1997; LIMA et al., 2006; CASTILLO-URQUIZA et al., 2007; COTRIM et al., 2007; FERNANDES et al., 2008). Por outro lado, o ToYSV foi relatado apenas em Minas Gerais (CALEGARIO et al., 2007).

Levantamentos realizados para acessar a diversidade de begomovírus em tomateiro indicam que determinadas espécies tornaram-se prevalentes em diferentes regiões do país (CASTILLO-URQUIZA et al., 2007; COTRIM et al., 2007; CASTILLO-URQUIZA, 2008; FERNANDES et al., 2008). O sequenciamento direto de fragmentos de PCR de amostras de tomateiro coletadas na região central do estado de São Paulo nos anos de 2003 e 2004 revelou como espécie predominante o ToRSV, presente em 50% das amostras analisadas. O ToYVSV e o SiMoV também estavam presentes (COTRIM et al., 2007). A mesma estratégia foi utilizada para identificar begomovírus em amostras de tomateiro coletadas entre 2002 e 2004 no Distrito Federal e nos estados da Bahia, Goiás, Minas Gerais, Pernambuco e São Paulo. Verificou-se a presença do ToSRV em 61% das amostras, além do *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV), *Tomato mottle leaf curl virus* (ToMoLCV) e duas possíveis novas espécies

(FERNANDES et al., 2008).

Nos anos de 2005 e 2007 foi realizado um estudo sobre a diversidade de begomovírus em duas importantes regiões produtoras de tomate no Sudeste do Brasil, Paty do Alferes (RJ) e Coimbra (MG). A análise de sequências do genoma completo do DNA-A revelou que em Paty do Alferes o ToYVSV era o vírus predominante, encontrado em 56,4% das amostras analisadas, seguido pelo ToCmMV. Já em Coimbra o ToCmMV foi o único vírus encontrado infectando tomateiro (CASTILLO-URQUIZA, 2008).

Acredita-se que a emergência dos begomovírus que infectam tomateiro no Brasil seja resultado da transferência horizontal de vírus nativos que infectam plantas silvestres ou invasoras pelo biótipo B da mosca-branca. Uma vez presentes no novo hospedeiro, esses vírus evoluíram rapidamente via recombinação e pseudo-recombinação, dando origem às espécies atualmente detectadas no campo. A predominância de algumas espécies poderia ser devido a diferenças na adaptação ao tomateiro ou diferenças na eficiência de transmissão pelo vetor (CASTILLO-URQUIZA et al., 2008).

Três observações corroboram essa hipótese. Em primeiro lugar, todas as espécies de begomovírus detectadas até o presente em tomateiro no Brasil são de ocorrência restrita ao país. Em segundo lugar, a caracterização biológica de algumas espécies (ToRMV, ToCMoV e ToYSV) confirmou que plantas daninhas como *Nicandra physaloides*, *Solanum nigrum* e *Datura stramonium* são hospedeiras (FERNANDES et al., 2006; CALEGARIO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2007). Por fim, begomovírus originalmente encontrados em plantas silvestres/daninhas, como o SiMoV e o SimMV, já foram encontrados infectando naturalmente o tomateiro (CASTILLO-URQUIZA et al., 2007; COTRIM et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local do experimento

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal do Centro de Ciências Agrária da Universidade Federal de Alagoas, no período de Janeiro a Junho de 2011.

3.2. Origem dos isolados e extração do DNA total

Os isolados de begomovírus utilizados neste estudo foram obtidos de 23 amostras de tecidos foliares pertencentes a 11 genótipos de plantas de tomate coletadas em 2009, em quatro áreas diferentes do município de Arapiraca, principal região produtora do estado de Alagoas. Foram coletadas amostras apresentando sintomas típicos de infecção por begomovírus, com redução de crescimento, distorção foliar, mosaico e amarelecimento de nervura (Figura 3).



Figura 3. Planta de tomate exibindo amarelecimento de nervura, coletada no município de Arapiraca-AL.

As amostras foram submetidas à extração de DNA total de acordo com Dellaporta et al., (1983). Discos foliares das amostras coletadas (1 cm²) foram colocados, individualmente, em tubos de microcentrífuga com capacidade de 1500 µL e macerados com 500 µL de tampão de extração (100 mM Tris-HCl pH8,0, 50 mM EDTA pH8,0, 500 mM NaCl, 10 mM β-mercaptoetanol). Adicionou-se 33 µL de SDS

20% em seguida as amostras foram incubadas em banho-maria a 65 °C por 10 minutos. Após o banho-maria foi adicionado 160 µL de acetato de potássio 5 M às amostras e agitou-se por 2 minutos. As amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm durante 10 minutos. Após a centrifugação, transferiu-se 550 µL do sobrenadante para tubos novos, o qual foi adicionado 1 volume de isopropanol gelado, para precipitação do DNA. Logo após, retirou-se cuidadosamente o sobrenadante sem remover o “pellet” lavando-se com 500 µL de etanol 70%, centrifugado a 7.500 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, todo o sobrenadante foi descartado e as amostras foram secas por 15 minutos a 37°C. Após a secagem, o “pellet” foi ressuspensionado em 100 µL de tampão TE. O DNA foi armazenado em freezer (-20 °C). Para quantificação do DNA, foram utilizados 2 µL do DNA total em gel de agarose 0,8% em TAE 1X e submetido a eletroforese 70 V por 30 minutos. Posteriormente o gel foi corado com brometo de etídeo (0,5 µg/ml) e as bandas visualizadas em transiluminador de luz ultravioleta. A concentração de DNA das amostras foi estimada mediante comparações com soluções de DNA do fago lâmbda com concentrações conhecidas (2,5ng/µl, 5,0 ng/µl, 10 ng/µl e 50 ng/µl).

3.3. Detecção de begomovírus por meio da reação da polimerase em cadeia (PCR)

Para confirmação da presença de begomovírus nas amostras coletadas, o DNA obtido foi usado como molde em reações de PCR (Polymerase Chain Reaction) utilizando o par de oligonucleotídeos iniciadores “universais” PAL1v1978 e PAR1c496, que amplificam fragmentos com aproximadamente 1,2 Kb do DNA-A dos begomovírus, descritos na tabela 1 (ROJAS et al., 1993).

Tabela 1. Oligonucleotídeos utilizados na amplificação de fragmentos do componente A do genoma viral.

Oligonucleotídeo	Sequência (5'→3')	Tamanho do produto de PCR
PAL1v1978	GCATCTGCAGGCCCACTYGTCTTYCCNGT	1,2 Kb
PAR1c496	AATACTGCAGGGCTTYCTRTRACATRGG	

Os oligonucleotídeos nas posições degeneradas são representados por uma única letra do código da ambigüidade da IUPAC: R = A, G; W = A, T; K = G, T; Y = C, T; e N = A, C, G, T. Adaptado de Luz (2003).

Os oligonucleotídeos PAL1v1978/PARc496 direcionam a amplificação de um fragmento de aproximadamente 1,2 kb do DNA-A, compreendendo a região comum e as extremidades amino-terminal dos genes *Rep* e *Cp*.

A PCR foi realizada em um volume de 15 µL, contendo tampão 10X (10 mM Tris-HCl pH 8,3, e 50 mM KCl), 1,5 mM MgCl₂, mistura de dNTP's a 0,2 mM (cada), 10 ng de cada oligonucleotídeo, 30 ng de DNA, 1 unidade de *Taq* polimerase e água Miliq estéril suficiente para atingir volume final de 30 µL. O controle positivo consistiu em plasmídeo contendo fragmentos do DNA-A do genoma do TGMV, caracterizado por Mello (2002). No controle negativo, adicionou-se água milliq ao invés do DNA molde. As reações de amplificação foram realizadas em termociclador Eppendorf® modelo Mastercycler personal com incubação inicial de 95°C por dois minutos, seguido por 30 ciclos consecutivos de 95°C por um minuto para desnaturação, 52°C por um minuto para anelamento e extensão a 72°C por um minuto e meio, seguido de uma extensão final a 72° por cinco minutos. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,2% em TAE 1X, corado com brometo de etídeo e as bandas visualizadas em luz ultravioleta (UV).

3.4. Sequenciamento parcial e análise filogenética dos isolados virais

Produtos de PCR correspondentes aos 23 isolados de begomovírus obtidos de tomateiro foram purificados com o kit Illustra GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare), visualizados em gel de agarose 1,2% e seqüenciados na Macrogen Inc. (Seoul, Coréia do Sul).

As seqüências nucleotídicas de fragmentos de aproximadamente 1,2 kb foram inicialmente submetidas a ferramenta BLAST no NCBI para identificação preliminar dos isolados virais. Comparações par-a-par adicionais foram realizadas com o programa DNAMAN versão 4.0, para obtenção da porcentagem de identidade entre os isolados virais obtidos em Arapiraca e outros begomovírus brasileiros (Tabela 2).

Para obtenção do relacionamento filogenético entre os isolados virais provenientes de Arapiraca e outros begomovírus brasileiros, seqüências nucleotídicas foram inicialmente alinhadas com a ferramenta MUSCLE no programa MEGA versão 5.0. Com esse mesmo programa foi construída uma árvore filogenética utilizando o método Neighbor Joining, com bootsrap de 2000 repetições.

Tabela 2. Begomovírus usados nas comparações de sequências par-a-par e análises filogenéticas

Vírus	Acrônimo	Nº de Acesso no GenBank
Begomovirus brasileiros		
<i>Abutilon Brazil virus</i>	AbBV	NC_014138
<i>Bean golden mosaic virus</i>	BGMV	M88686
<i>Blainvillea yellow spot virus</i>	BIYSV	EU710756
<i>Cleome leaf crumple virus</i>	CILCrV	FN35999
<i>Centrosema yellow spot virus</i>	CenYSV	n.a
<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>	EuYMV	FJ619507
<i>Macroptilium yellow net virus</i>	MaYNV	n.a
<i>Macroptilium yellow spot virus</i>	MaYSV	n.a
<i>Macroptilium yellow vein virus</i>	MaYVV	n.a
<i>Nicandra deforming necrosis virus</i>	NDNV	n.a.
<i>Okra mottle virus</i>	OmoV	NC_011181
<i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i>	PSLDV	NC_012786
<i>Sida common mosaic virus</i>	SiCmMV	EU710751
<i>Sida mosaic Brazil virus</i>	SiMBV	FN436001
<i>Sida micrantha mosaic virus</i>	SiMMV	NC_005330
<i>Sida mottle virus</i>	SiMoV	NC_004637
<i>Sida yellow leaf curl virus</i>	SiYLCV	EU710750
<i>Sida yellow mosaic virus</i>	SiYMV	NC_004639
<i>Soybean blistering mosaic virus</i>	SoBIMV	EF016486
<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>	ToCMoV	AF490004
<i>Tomato common mosaic virus</i>	ToCmMV	NC_010835
<i>Tomato golden mosaic virus</i>	TGMV	NC_001507
<i>Tomato mild mosaic virus</i>	ToMIMV	EU710752
<i>Tomato rugose mosaic virus</i>	ToRMV	NC_002555
<i>Tomato severe rugose virus</i>	ToSRV	NC_009607
<i>Tomato yellow spot virus</i>	ToYSV	DQ336350
<i>Tomato yellow vein streak virus</i>	ToYVSV	NC_010949
Outgroup		
<i>Maize streak virus</i>	MSV	

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Detecção de geminivírus por meio da reação da polimerase em cadeia (PCR)

Detectou-se a presença de begomovírus nas 23 amostras de DNA, provenientes de plantas de tomate do município de Arapiraca no estado de Alagoas (Figura 4).

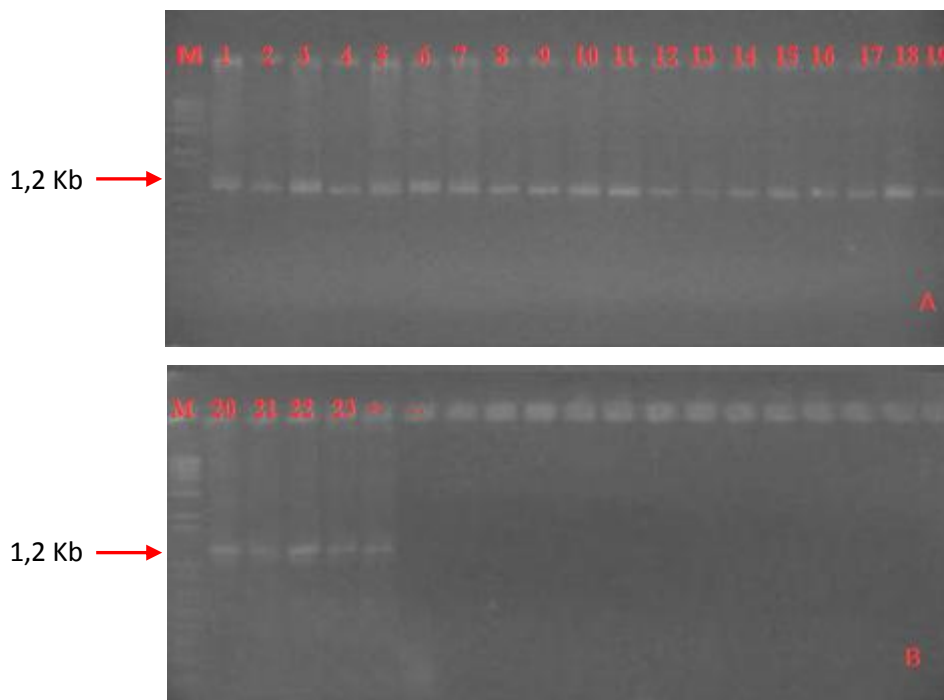


Figura 4. Produtos de PCR amplificados a partir do DNA-A de begomovirus de plantas de tomate. M = Marcador de peso molecular (1 kb DNA Plus Ladder); 1-23 = Produtos de PCR amplificados a partir da DNA-A de plantas de tomate. Controle positivo (+) e controle negativo (-).

O par de oligonucleotídeos PAL1v1978/PAR1c496 direcionou a amplificação de um fragmento com aproximadamente 1,2 kb, a partir do DNA-A (Figura 4). Esse resultado confirma que geminivírus com genoma bissegmentado, portanto pertencente ao gênero *Begomovirus* (STANLEY et al., 2005; FAUQUET et al., 2008), estavam infectando as plantas de tomateiro.

Esse resultado foi corroborado pela observação no campo da constante associação da mosca-branca, *B. tabaci* às plantas sintomáticas, já que este inseto transmite apenas geminivírus pertencentes ao gênero *Begomovirus* (FAUQUET et al., 2008).

4.2. Sequenciamento parcial e análise filogenética dos isolados virais

Os produtos de PCR correspondentes as 23 amostras de begomovírus isolados de tomateiro no município de Arapiraca-AL, foram seqüenciados no sentido viral e complementar. As seqüências escolhidas para caracterização molecular dos vírus foram aquelas obtidas com o primer PAL1v1978. Com exceção EC05, as amostras apresentaram sequenciamento de boa qualidade, e as seqüências abrangeram o tamanho entre 1102 a 1187 nucleotídeos. A comparação inicial das seqüências com a ferramenta BLAST indicou que 21 amostras (EC01, EC02, EC03, EC06 – EC23) foram mais próximas do begomovírus *Tomato mottle leaf curl virus* (ToMoLCV - AY049212.1), proveniente do município de Juazeiro, na Bahia. A amostra EC04, apresentou maior identidade com o begomovírus *Bean golden mosaic virus* (BGMV- M88686.1), obtido de feijoeiro (FARIA; MAXWELL, 1999). No entanto a porcentagem de cobertura menor de (100%) e identidade entre as seqüências foram baixas (84-91%) na maioria dos casos. Esse resultado sugere que ao menos duas espécies distintas de begomovírus estão infectando as amostras. Esses resultados foram confirmados por meio da comparação par-a-par (pairwise) entre as seqüências parciais do DNA-A (1000nt) de begomovírus provenientes de Arapiraca e outros begomovírus brasileiros que infectam tomateiro (Tabela 3).

A análise pairwise revelou que de fato existem duas prováveis novas espécies e isolados de begomovírus infectando tomateiro de acordo com as normas do ICTV (Comitê Internacional de Taxonomia de vírus), que considera espécies distintas, aquelas com identidade de seqüências menor que 89% (FAUQUET et al., 2008). O primeira provável nova espécie é representadas pela amostra EC04, com maior identidade (74%) com os begomovírus *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV) e o *Tomato severe rugose virus* (ToSRV). O segundo provável novo begomovírus é representado pelas amostras EC01, EC02, EC03, EC06–EC14, EC15-EC20, EC21-EC23, as quais apresentaram maior identidade 80-83% com o *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV). As amostras EC14 e EC20, com identidade entre 87 e 89% representam novos isolados da espécie de begomovírus representada pelo maior número de amostras (Tabela 3). Esses resultados sugerem uma alta diversidade e prevalência de algumas espécies que infectam tomateiro no município de Arapiraca-AL, semelhante ao que foi observado para outras espécies de begomovírus que infectam tomateiro (CASTILLO-URQUIZA et al., 2007, 2008; CONTRIM et al., 2007; FERNANDES et al., 2008; RIBEIRO et al. , 2003, 2007). 30

Tabela 3. Porcentagem de identidade entre sequências parciais de nucleotídeos do DNA-A dos vírus detectados em tomateiro no estado de Alagoas e outras seis espécies de begomovírus brasileiros reconhecidas pelo ICTV que infectam essa cultura.

	EC01	EC02	EC03	EC04	EC06	EC07	EC08	EC09	EC10	EC11	EC12	EC13	EC14	EC15	EC16	EC17	EC18	EC19	EC20	EC21	EC22	EC23	TGMV	TeCMoV	TeSRV	TeYRV	TeYXV	
EC01	-	93	93	70	98	95	94	93	97	97	93	96	89	97	97	96	95	98	89	96	97	93	71	33	71	70	73	77
EC02		-	99	70	99	96	96	99	99	99	99	98	89	99	98	97	97	99	89	99	99	99	71	82	71	70	73	76
EC03			-	70	99	96	96	99	99	99	99	97	89	99	98	97	97	99	89	99	99	99	71	82	71	70	73	77
EC04				-	71	71	71	70	70	71	71	71	69	69	68	69	71	70	70	70	71	73	69	74	74	72	69	69
EC06					-	96	96	99	99	99	97	89	99	98	98	98	99	89	89	99	99	99	71	82	71	70	73	77
EC07						-	98	96	95	95	96	89	89	95	95	94	95	96	90	95	95	96	72	82	72	71	74	77
EC08							-	96	96	96	96	97	90	96	95	94	95	96	90	96	96	96	72	82	72	71	75	77
EC09								-	99	99	100	98	89	89	98	97	98	100	89	99	99	100	72	82	71	70	73	76
EC10									-	99	99	97	89	99	98	96	97	99	89	99	99	99	71	82	71	70	73	76
EC11										-	99	97	89	99	98	96	97	99	89	99	99	99	71	82	71	70	73	77
EC12											-	98	89	99	98	97	98	100	89	99	99	100	71	82	71	70	73	76
EC13												-	89	97	98	96	96	98	89	98	97	98	71	83	71	71	74	75
EC14													-	89	88	87	88	89	89	89	89	73	85	73	73	75	77	
EC15														-	98	97	97	99	89	99	99	99	71	82	71	70	73	77
EC16															-	99	96	98	88	99	98	98	70	81	70	69	73	75
EC17																-	95	97	87	98	97	97	69	80	69	68	72	75
EC18																	-	98	88	97	97	98	71	82	71	70	72	77
EC19																		-	89	99	99	100	71	82	71	70	73	76
EC20																			-	89	89	89	73	85	73	73	75	77
EC21																				-	99	99	71	82	71	70	73	76
EC22																					-	99	71	82	71	70	73	76
EC23																						-	71	82	71	70	73	76
TGMV																							-	75	83	82	79	74
TeCMoV																								-	73	70	74	79
TeRMV																									-	96	79	73
TeSRV																										-	79	72
TeYRV																											-	75
TeYXV																												-
TeYXV																												-

No entanto, apesar da região amino terminal do gene da capa protéica (CP) ainda ser utilizada como critério para demarcação de espécies de begomovírus pelo ICTV, o método mais preciso para identificação de uma espécie de begomovírus é a determinação da sequência completa de nucleotídeos do DNA-A. Recentemente, Inoue-Nagata et al. (2004) desenvolveram um método simples de clonagem de genomas completos de begomovírus utilizando amplificação por círculo rolante (RCA – *rolling-circle amplification*) seguido por monomerização com enzima de restrição e ligação ao vetor. Este método facilita os procedimentos de clonagem e sequenciamento de um grande número de isolados em um período curto de tempo, e tem permitido a realização de estudos de variabilidade genética e epidemiologia.

Uma árvore filogenética baseada na sequência parcial de nucleotídeos do DNA-A dos begomovírus provenientes do tomateiro e outros begomovírus brasileiros foi construída utilizando o método Neighbor joining, com o modelo de substituição Tamura Nei e bootstrap com 2000 repetições. Os begomovírus que infectam tomate agruparam em dois diferentes clusters. (Figura 5).

No Cluster I, está presente a nova espécie representada pelas amostras EC01, EC02, EC03, EC06–EC13, EC15-EC19, EC21-EC23, que agruparam mais proximamente do *Passionfruit leaf distortion virus* (PSLDV) de maracujazeiro e outros begomovírus que infectam tomateiro e plantas daninhas. Uma outra nova espécie, representada pela amostra EC04, se encontra no Cluster II, agrupando com 100% de probabilidade mais proximamente de begomovírus que infectam plantas principalmente da família Fabaceae, os quais foram obtidos de feijoeiro (BGMV), ou de plantas invasoras (*Macroptilium* sp.). Nesse cluster também estão presentes outros begomovírus que infectam tomateiro, quiabeiro e plantas daninhas da família Malvaceae e Fabaceae. O Cluster III engloba os begomovírus brasileiros que são mais próximos de espécies que ocorrem na América Central, América do Sul e México. A espécie *Maize streak virus*, um begomovírus monopartido pertencente ao gênero *Mastrevirus* foi utilizada como grupo externo (Figura 5).

As duas prováveis novas espécies de begomovírus de tomateiro formaram clusters com begomovírus provenientes de plantas daninhas. Plantas invasoras, especialmente àquelas espécies pertencentes ao gênero *Sida* desempenham importante papel como fonte de begomovírus para o tomateiro e outras plantas cultivadas (PAPROTKA et al., 2010b). Acredita-se que begomovírus que infectam plantas

invasoras no Brasil têm sido transferidos para plantas cultivadas, e que na nova hospedeira eles evoluem rapidamente por recombinação e pseudo recombinação, dando origem a novas espécies (CASTILLO-URQUIZA et al., 2008; FERNANDES et al., 2008). Várias linhas de evidências corroboram para essa hipótese. Primeira, várias espécies de planta invasoras como *Macroptilium lathyroides*, *Datura stramonium*, *Nicandra physaloides* e *Solanum nigrum* são hospedeiras de begomovírus obtidas de plantas cultivadas como BGMV, ToCMoV, ToRMV, ToYSV (FERNANDES et al., 2006; CALEGARIO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2007; SILVA, 2011). Outra evidência é que begomovírus originalmente encontrados em plantas silvestres/daninhas, como o *Sida mottle virus* (SiMoV) e o *Sida micrantha mosaic virus* (SimMV), já foram encontrados infectando naturalmente o tomateiro (CASTILLO-URQUIZA et al., 2007; COTRIM et al., 2007).

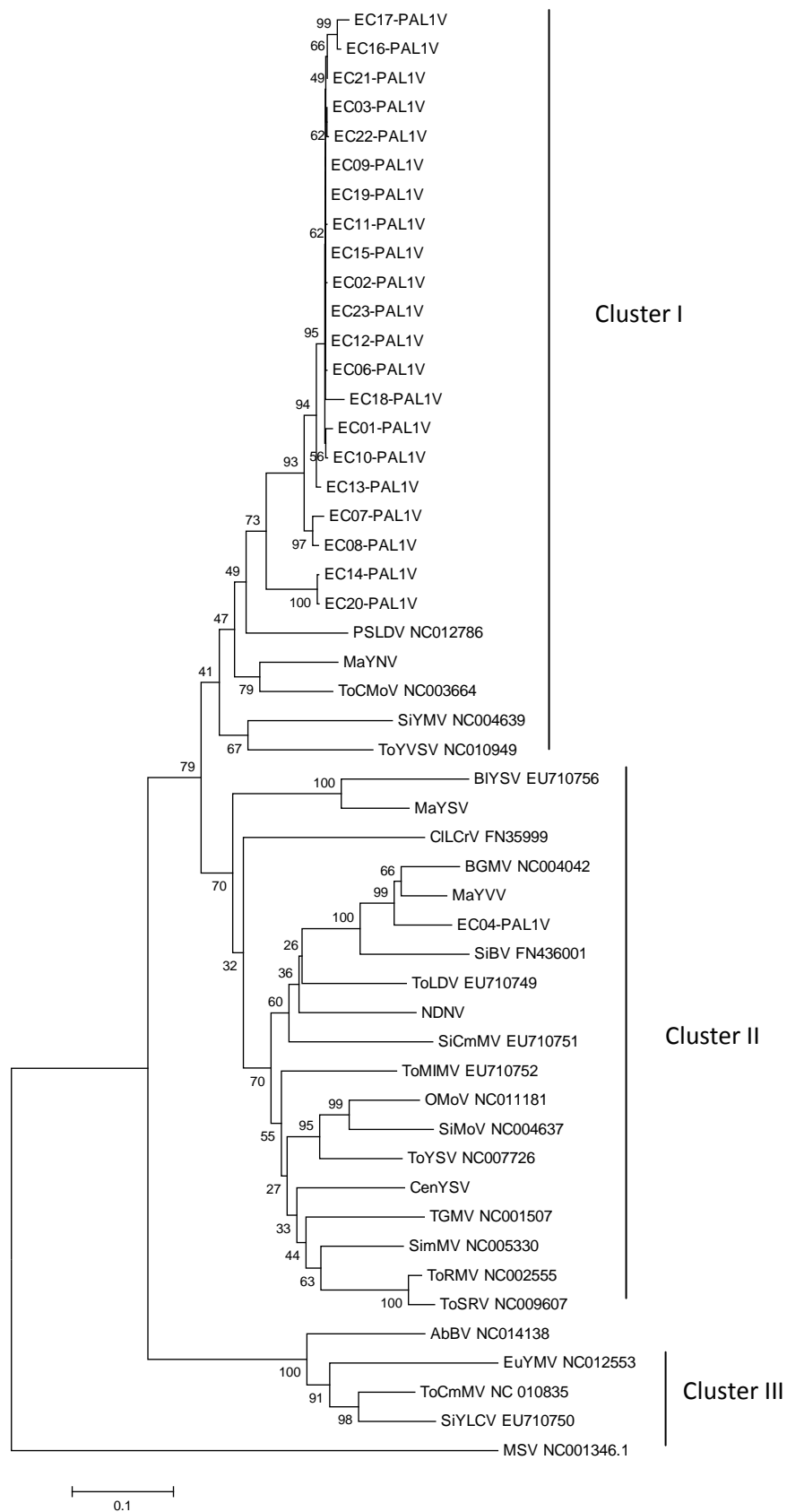


Figura 5. Árvore Neighbor-joining baseada na sequência parcial e nucleotídeos do DNA-A de begomovírus que infectam tomateiro (Arapiraca –AL) e outros begomovírus brasileiros.

5. CONCLUSÕES

A presença de begomovírus nas 23 amostras de tomateiro demonstra que esses vírus estão amplamente distribuídos no município de Arapiraca-AL;

As análises de comparação de sequências e filogenéticas sugerem a presença de duas prováveis novas espécies e dois novos isolados indicando uma alta diversidade genética dos begomovírus desse trabalho;

A espécie representada pelas amostras EC01, EC02, EC03, EC06-E23 foi predominante sobre a espécie EC04, indicando prevalência deste begomovírus no campo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, L.C., INOUE-NAGATA, A.K., PINHEIRO, B., RIBEIRO, S. G., RESENDE, R.O., MORIONES, E., NAVAS-CASTILLO, J. A novel monopartite begomovirus infecting sweet potato in Brazil. **Archives of virology**, New York, v. 156, n.7, p. 1291-1294, 2011.

AMBROZEVICIUS, L.P.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; CARVALHO, M.G.; ZERBINI, F.M. Genetic diversity of begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília-DF, v.27, n.4, p.372-377, 2002.

ANDRADE, E.C.; MANHANI, G.G.; ALFENAS, P.F.; CALEGARIO, R.F.; FONTES, E.P.B.; ZERBINI, F.M. *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**, London, v. 87, p. 3687-3696, 2002.

ANDRADE, E.C.; MANHANI, G.G.; FONTES, E.P.B.; ZERBINI, F.M. Análise parcial dos determinantes genéticos virais responsáveis pela indução de sintomas por begomovírus em tomateiro e *Nicotiana benthamiana*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. S225, 2006.

ARAGÃO, F.A.S.; RIBEIRO, C.S.C.; CASALI, V.W.D.; GIORDANO, L.B. Cultivo de embriões de tomate *in vitro* visando a introgressão de genes de *Lycopersicon peruvianum* em *L. esculentum*. **Horticultura brasileira**. v.20, p. 605-610, 2002.

ARGÜELLO-ASTORGA, G.R.; GUEVARA-GONZÁLEZ, R.G.; HERRERA-ESTRELLA, L.R.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.F. Geminivirus replication origins have a group-specific organization of interactive elements: a model for replication. **Virology**, New York, v. 203, p. 90-100, 1994.

ARGUELLO-ASTORGA, G.R.; RUIZ-MEDRANO, R. An iteron-related domain is associated to Motif 1 in the replication proteins of geminiviruses: identification of potential interacting amino acid-base pairs by a comparative approach. **Archives of Virology**, New York, v. 146, p. 1465-1485, 2001.

AGROECOLOGIA - Disponível em: <http://agroecologiamt.blogspot.com>. Acesso: 16 de maio de 2011.

BEDFORD, I.D.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; ROSELL, R.C.; MARKHAM, P.G. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographical regions. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 125, p. 311-325, 1994.

BEZERRA, I.C.; RIBEIRO, S.G.; ÁVILA, A.C.; GIORDANO, L.B. Survey of geminivirus in tomato producing áreas in Federal District. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA. **Resumo**. São Lourenço: Sociedade Brasileira de Virologia, p.286, 1996.

BRIDDON, R.W.; BULL, S.E.; AMIN, I.; IDRIS, A.M.; MANSOOR, S.; BEDFORD, I.D.; DHAWAN, P.; RISHI, N.; SIWATCH, S.S.; ABDEL-SALAM, A.M.; BROWN, J.K.; ZAFAR, Y.; MARKHAM, P.G. Diversity of DNA beta, a satellite molecule associated with some monopartite begomoviruses. **Virology**, New York, v. 312, p. 106-121, 2003.

BRIDDON, R.W.; PINNER, M.S.; STANLEY, J.; MARKHAM, P.G. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. **Virology**, New York, v. 177, p. 85-94, 1990.

BRIDDON, R.W.; STANLEY, J. Subviral agents associated with plant single-stranded DNA viruses. **Virology**, New York, v. 344, p. 198-210, 2006.

BROWN, J.K.; IDRIS, A.M.; FLETCHER, D.C. *Sinaloa tomato leaf curl virus*, a newly described geminivirus of tomato and pepper in west coastal Mexico. **Plant Disease**, v.77, p.1262, 1993.

CHATTERJI, A.; PADIDAM, M.; BEACHY, R.N.; FAUQUET, C.M. Identification of replication specificity determinants in two strains of tomato leaf curl virus from New Delhi. **Journal of Virology**, Washington, v. 73, p. 5481-5489, 1999

CALEGARIO, R.F.; FERREIRA, S.S.; ANDRADE, E.C.; ZERBINI, F.M. Characterization of *Tomato yellow spot virus*, (ToYSV), a novel tomato-infecting begomovirus from Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 42, p. 1335-1343, 2007.

CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JR., J.E.A.; BRUCKNER, F.P.; LIMA, A.T.M.; VARSANI, A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; ZERBINI, F.M. Six novel begomoviruses infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. **Archives of Virology**, New York, v. 153, p. 1985-1989, 2008.

CASTILLO-URQUIZA, G.P.; BESERRA JUNIOR, J.E.A.; ALFENAS-ZERBINI, P.; VARSANI, A.; LIMA, A.T.M.; BARROS, D.R.; ZERBINI, F.M. Genetic diversity of begomoviruses infecting tomato in Paty do Alferes, Rio de Janeiro state, Brazil. **Virus Reviews and Research**, Belo Horizonte, v. 12, p. 233, 2007.

COSTA, A.S.; OLIVEIRA, A.R.; SILVA, D.M. Transmissão mecânica do mosaico dourado do tomateiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Brasília, v. 6, p. 147, 1975.

COTRIM, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; NARITA, N.; ZERBINI, F.M.; PAVAN, M.A. Diversidade genética de begomovírus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 33, p. 300-303, 2007.

CZEPAK, C.; BORGES, J.D.; SANTOS, J.B.; SANTANA, H.G. Praga dos séculos: mosca-branca em tomate. **Revista Cultivar**, n.55, p.22-27, 2009.

DAVIES, J.W.; STANLEY, J.; DONSON, J.; MULLINEAUX, P.M.; BOULTON, M.I. Structure and replication of geminivirus genomes. **Journal of Cell Science**, London, v. 7, p. 95-107, 1987.

DELLAPORTA, S.L. WOOD, J., HICKS, J.B. A plant DNA miniprep: Version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.1, p.19-21, 1983.

FAO-FAOSTAT - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso: 16 de abril de 2011.

FARIA, J.C.; MAXWELL, D.P. Variability in geminivirus isolates associated with *Phaseolus* spp. in Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, p. 262-268, 1999.

FAUQUET, C.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, F.M.; ZHOU, X. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. **Archives of Virology**, New York, v. 153, p. 783-821, 2008.

FERNANDES, J.J.; CARVALHO, M.G.; ANDRADE, E.C.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; FONTES, E.P.B.; ZERBINI, F.M. Biological and molecular properties of *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. **Plant Pathology**, Oxford, v. 55, p. 513-522, 2006.

FERNANDES, F.R.; ALBUQUERQUE, L.C.; GIORDANO, L.B.; BOITEUX, L.S.; ÁVILA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. **Virus Genes**, v.36, p.251-258, 2008.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2.ed: Viçosa: UFV, 412p, 2003.

FONTENELLE, M.R.; LUZ, D.F.; GOMES, A.P.; FLORENTINO, L.H.; ZERBINI, F.M.; FONTES, E.P. Functional analysis of the naturally recombinant DNA-A of the bipartite begomovirus *Tomato chlorotic mottle virus*. **Virus Research**, Amsterdam, v. 126, p. 262-267, 2007.

FONTES, E.P.B.; EAGLE, P.A.; SIPE, P.S.; LUCKOW, V.A.; HANLEY-BOWDOIN,

L. Interaction between a geminivirus replication protein and origin DNA is essential for viral replication. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 269, p. 8459-8465, 1994.

FONTES, E.P.B.; LUCKOW, V.A.; HANLEY-BOWDOIN, L. A geminivirus replication protein is a sequence-specific DNA binding protein. **Plant Cell**, Rockville, v. 4, p. 597-608, 1992.

FRISCHMUTH, S.; KLEINOW, T.; ABERLE, H.J.; WEGE, C.; HULSER, D.; JESKE, H. Yeast two-hybrid systems confirm the membrane association and oligomerization of BC1 but do not detect an interaction of the movement proteins BC1 and BV1 of Abutilon mosaic geminivirus. **Archives of Virology**, New York, v. 149, p. 2349-2364, 2004.

FRANÇA, F.H.; VILLAS BÔAS, G.L.; CASTELO-BRANCO, M. Ocorrência de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera:Aleyrodidae) no Distrito Federal. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.25, p.369-372, 1996.

GAFNI, Y.; EPEL, B.L. The role of host and viral proteins in intra and inter-cellular trafficking of geminiviruses. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 60, p. 231-241, 2002.

GALVÃO, R.M.; MARIANO, A.C.; LUZ, D.F.; ALFENAS, P.F.; ANDRADE, E.C.; ZERBINI, F.M.; ALMEIDA, M.R.; FONTES, E.P.B. A naturally occurring recombinant DNA-A of a typical bipartite begomovirus does not require the cognate DNA-B to infect *Nicotiana benthamiana* systemically. **Journal of General Virology**. V.84, p.715-726, 2003.

GILBERTSON, R.L.; SUDARSHANA, M.; JIANG, H.; ROJAS, M.R.; LUCAS, W.J. Limitations on geminivirus genome size imposed by plasmodesmata and virus-encoded movement protein: Insights into DNA trafficking. **Plant Cell**, Rockville, v. 15, p. 2578-2591, 2003.

GLADFELTER, H.J.; EAGLE, P.A.; FONTES, E.P.B.; BATTS, L.; HANLEY-BOWDOIN, L. Two domains of the AL 1 protein mediate geminivirus origin recognition. **Virology**, New York, v. 239, p. 186-197, 1997.

GUTIERREZ, C. Geminivirus DNA replication. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 56, p. 313-329, 1999.

GUTIERREZ, C.; RAMIREZ-PARRA, E.; CASTELLANO, M.M.; SANZ-BURGOS, A.P.; LUQUE, A.; MISSICH, R. Geminivirus DNA replication and cell cycle interactions. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 98, p. 111-119, 2004.

HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S.B.; OROZCO, B.M.; NAGAR, S.; ROBERTSON, D. Geminiviruses: Models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 18, p. 71-106, 1999.

HARRISON, B.D.; ROBINSON, D.J. Natural genomic and antigenic variation in white-fly transmitted geminiviruses (begomoviruses). **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p. 369-398, 1999.

HEYRAUD-NITSCHKE, F.; SCHUMACHER, S.; LAUFS, J.; SCHAEFER, S.; SCHELL, J.; GRONENBORN, B. Determination of the origin cleavage and joining domain of geminivirus Rep proteins. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 23, p. 910-916, 1995.

HOFER, P.; BEDFORD, I.D.; MARKHAM, P.G.; JESKE, H.; FRISCHMUTH, T. Coat protein gene replacement results in whitefly transmission of an insect nontransmissible geminivirus isolate. **Virology**, v. 236, p.295-298, 1997.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201009. Acesso: 24 de dezembro 2010.

INOUE-NAGATA, A.K.; ALBUQUERQUE, L.C.; ROCHA, W.B.; NAGATA, T. A simple method for cloning of the complete begomovirus using the bacteriophage phi 29 DNA polymerase. **Journal of Virological Methods**, v.11, p.209-211, 2004.

INOUE-NAGATA, A.K.; ÁVILA, A.C.; VILLAS BÔAS, G.L. Os geminivírus em sistema de produção integrada de tomate indústria. **Circular Técnica da Embrapa Hortaliças**. Brasília-DF, p.1, 2009.

ASSUNÇÃO, I.P.; SILVA, S.J.C.; LIMA, G.S.A.; LIRA, M.C.C.P.; FREIRAS, N.S.A. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 30, p. 504-505, 2004.

JEFFREY, J.L.; POOMA, W.; PETTY, I.T. Genetic requirements for local and systemic movement of tomato golden mosaic virus in infected plants. **Virology**, New York, v. 223, p. 208-218., 1996.

JONES, D.A.; DICKINSON, M.J.; BALINT-KURTI, P.J.; DIXON, M.S.; JONES, J.D.G. Two complex resistance loci revealed in tomato by classical and RFLP mapping of the *cf-2*, *cf-4*, *cf-5* and *cf-9* genes for resistance to *cladosporium fulvum*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**. p.348-357.

JUPIN, I., HEROCOURT, F., BENZ, B., GRONENBORN, B. DNA replication specificity of TYLCV geminivirus is mediated by the amino-terminal 116 amino acids of the Rep protein. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 262, p. 116-120, 1995.

KLEINOW, T.; HOLEITER, G.; NISCHANG, M.; STEIN, M.; KARAYAVUZ, M.; WEGE, C.; JESKE, H. Post-translational modifications of Abutilon mosaic virus movement protein (BC1) in fission yeast. **Virus Research**, Amsterdam, v. 131, p. 86-94, 2008.

LACERDA, J.T.; CARVALHO, R.A. Descrição e manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia* spp.) transmissora de geminivirus em culturas econômicas. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.2, n.2, p.15-22, 2008.

LAUFS, J.; TRAUT, W.; HEYRAUD, F.; MATZEIT, G.; ROGERS, S.G.; SCHELL, J.; GRONENBORN, B. *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 of the United States of America**, Washington, v. 92, p. 3879-3883, 1995.

LAZAROWITZ, S.G. Geminiviruses: Genome structure and gene function. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 11, p. 327-349, 1992.

LEVY, A.; TZFIRA, T. Bean dwarf mosaic virus: a model system for the study of viral movement. **Molecular Plant Pathology**, Bristol, v. 11, p. 451-461, 2010.

LIMA, L.H.C.; CAMPOS L, MORETZSOHN MC, NÁVIA D.; OLIVEIRA, M.R.V. Genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Genn.) populations in Brazil revealed by RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology** v.25, p.217-223, 2002.

LIMA, A.T.M.; PEREIRA, C.O.; ALFENAS, P.F.; PAULA, M.B.; MELLO, R.N.; ZERBINI, F.M. Primeiro relato de infecção pelo geminivírus *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) em tomateiro no estado de Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31(Suplemento), p. S224, 2006.

LIN, B.; AKBAR BEHJATNIA, S.A.; DRY, I.B.; RANGLES, J.W.; REZAIAN, M.A. High-affinity Rep-binding is not required for the replication of a geminivirus DNA and its satellite. **Virology**, New York, v. 305, p. 353-363, 2003.

LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. **Doenças do tomateiro: Diagnóstico e Controle**. Brasília: Embrapa Hortaliças, p.96. 2005.

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

LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H.; SIQUEIRA, W.J.; MELO, A.M.T.; USBERTI FILHO, J.A.; FONTE, L.C.; MELO, P.C. **Resistência de linhagens avançadas de tomateiro a topovirus, bragantia**. v.58, p.293-303, 1999.

LUZ, D.F. **Natureza recombinante e propriedades patogênicas do DNA-A do begomovírus ToCMV-[MG-Bt1]**. Tese de Mestrado em Bioquímica Agrícola. Universidade Federal de Viçosa, UFV, p.23, 2003.

MATYIS, J.C.; SILVA, D.M.; OLIVEIRA, A.R.; COSTA, A.S. Purificação e morfologia do vírus do mosaico dourado do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 1, p. 267-275, 1975.

MELO, P.C.T. Melhoramento genético do tomateiro. **Asgrow**, Campinas, 55p, 1989. (impresso).

MELLO, R.N.; COTRIM, M.A.A.; LOPES, E.F.; MOREIRA, A.G.; CONTIN, F.S.; FONTES, E.P.B.; ALMEIDA, A.M.R.; ZERBINI, F.M. Survey of begomoviruses associated with soybean and identification of *Sida mottle virus* (SiMoV) infecting this crop in Brazil. **Virus Reviews and Research**, Belo Horizonte, v. 7(Supplement), p. 157, 2002.

MORALES, F.J. History and current distribution of begomoviruses in Latin America. **Advances in Virus Research**, San Diego, v. 67, p. 127-162, 2006.

NAIKA, S.; JEUDE, J.V.L.; GOFFAU, M.; HILMI, M.; DAM, B.V. **A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização**. Agromisa e CTA, Wageningen, p.10-11, 2006.

NOUEIRY, A.O.; LUCAS, W.J.; GILBERTSON, R.L. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport. **Cell**, v.79, p.925-932, 1994.

OROZCO, B.M.; HANLEY-BOWDOIN, L. Conserved sequence and structural motifs contribute to the DNA binding and cleavage activities of a geminivirus replication protein. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 273, p. 24448-24456, 1998.

OROZCO, B.M.; MILLER, A.B.; SETTLAGE, S.B.; HANLEY-BOWDOIN, L. Functional domains of a geminivirus replication protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 9840-9846, 1997.

PADIDAM, M. BEACHY, R.N.; FAUQUET, C.M. The role of AV2 (“precoat”) and coat protein in viral replication and movement in tomato leaf curl geminivirus. **Virology**, v.224, p.390-404, 1996.

PALMER, K.E.; RYBICKI, E.P. The molecular biology of mastreviruses. **Advances in Virus Research**, v.50, p.183-234, 1998.

PAM - **Produção Agrícola Municipal: culturas temporárias e permanentes**, Rio de Janeiro, v.31, p. 1-133, 2006. Disponível em (<http://www.ibge.gov.br>, acesso em janeiro de 2006).

PAPROTKA, T.; BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R.O.; JESKE, H.; FARIA, J.C.; RIBEIRO, S.G. Genomic diversity of sweet potato geminiviruses in a Brazilian germplasm bank. **Virus Research**, Amsterdam, v. 149, p. 224-233, 2010a.

PAPROTKA, T.; METZLER, V.; JESKE, H. The complete nucleotide sequence of a new bipartite begomovirus from Brazil infecting Abutilon. **Archives of Virology**, New York, v. 155, p. 813-816, 2010b.

PEDERSEN, T.J.; HANLEY-BOWDOIN. Molecular characterization of the AL3 protein encoded by a bipartite geminivírus. **Virology**, v.202, p. 1070-1075, 1994.

PERALTA, E.R.; KNAPP, S.; SPOONER, D.M. **New species of wild tomatoes (Solanum Section: Lycopersicon: Solanaceae) from Northm Peru**. Systematic Botany 30:424-434, 2005.

RABELLO, A.R.; QUEIROZ, P.R.; SIMÕES, K.C.C; HIRAGI, C.O.; LIMA, L.H.C.; M.R.V.; MEHTA, A. Diversity analysis of *Bemisia tabaci* biotypes: RAPD, PCR-RFLP and sequencing of the ITS1 rDNA region. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, p.585-590, 2008.

RAMOS, P.L.; GUEVARA-GONZALEZ, R.G.; PERAL, R.; ASCENCIO-IBANEZ, J.T.; POLSTON, J.E.; ARGUELLO-ASTORGA, G.R.; VEGA-ARREGUIN, J.C.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.F. Tomato mottle Taino virus pseudorecombines with PYMV but not with ToMoV: Implications for the delimitation of cis- and trans-acting replication specificity determinants. **Archives of Virology**, New York, v. 148, p. 1697-1712, 2003.

REZENDE, E.A.; FILGUEIRA, F.A.R.; ZERBINI, F.M.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; FERNANDES, J.J.; GILBERTSON, R.L. Tomato infected with geminivirus in greenhouse conditions at Uberlândia-MG, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, p.424, 1996.

REZENDE, W.L.; MILITÃO NETO, V.; GOULART, L.R.; GIOVANINI, M.P.; JULIATTI, F.C.; FERNANDES, J.J. Infecção mista em plantas de tomate infectadas por geminivírus, detectada por meio de LIS-SSCP-PCR. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 338, 1997.

RIBEIRO, S.G.; AMBROZEVICIUS, L.P.; ÁVILA, A.C.; BEZERRA, I.C.; CALEGARIO, R.F.; FERNANDES, J.J.; LIMA, M.F.; MELLO, R.N.; ROCHA, H.; ZERBINI, F.M. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of Virology**, New York, v. 148, p. 281-295, 2003.

RIBEIRO, S.G.; MARTIN, D.P.; LACORTE, C.; SIMÕES, I.C.; ORLANDINI, D.R.S.; INOUE-NAGATA, A.K. Molecular and biological characterization of *Tomato chlorotic mottle virus* suggests that recombination underlies the evolution and diversity of Brazilian tomato begomoviruses. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 97, p. 702-711, 2007.

ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSEL, D.R.; MAXWELL, D.P. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease**, v.77, n. 4, p.340-347, 1993.

ROJAS, A.; KVARNHEDEN, A.; MARCENARO, D.; VALKONEN, J.P.T. Sequence characterization of Tomato leaf curl Sinaloa virus and Tomato severe leaf curl virus: Phylogeny of New World begomoviruses and detection of recombination. **Archives of Virology**, New York, v. 150, p. 1281-1299, 2005a.

ROJAS, M.R.; HAGEN, C.; LUCAS, W.J.; GILBERTSON, R.L. Exploiting chinks in the plant's armor: Evolution and emergence of geminiviruses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 361-394, 2005b.

ROJAS, M.R.; JIANG, H.; SALATI, R.; XOCONOSTLE-CAZARES, B.; SUDARSHANA, M.R.; LUCAS, W.J.; GILBERTSON, R.L. Functional analysis of proteins involved in movement of the monopartite begomovirus, tomato yellow leaf curl virus. **Virology**, New York, v. 291, p. 110-125, 2001.

ROJAS, M.R.; NOUEIRY, A.O.; LUCAS, W.J.; GILBERTSON, R.L. Bean dwarf mosaic geminivirus movement proteins recognize DNA in a form- and size-specific manner. **Cell**, Cambridge, v. 95, p. 105-113, 1998.

ROMAY, G.; CHIRINOS, D.; GERAUD-POUEY, F.; DESBIEZ, C. Association of an atypical alphasatellite with a bipartite New World begomovirus. **Archives of Virology**, New York, v. 155, p. 1843-1847, 2010.

SALGUERO, V. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. In: HILJE, L.; ARBOLEDA, O. Las moscas blancas (Homoptera: *Aleyrodidae*) en America Central e El Caribe. Turrialba: **CATIE**, p.20-26, (CATIE. Informe Técnico, 205), 1993.

SANDERFOOD, A.A.; INGHAM, D.J.; LAZAROWITZ, S.D. A viral movement protein as a nuclear shuttle. The geminivirus BR1 movement protein contains domains essential for interaction with BL1 and nuclear localization. **Plant Physiology**. V.110, p.23-33, 1996.

SANDERFOOD, A.A.; LAZAROWITZ, S.G. Cooperation in viral movement: the geminivirus BL1 movement protein interacts with BR1 and redirects it from the nucleus to the cell periphery. **Plant Cell**, v. 7, p.1185-1194, 1995.

SANTOS, C.D.G.; ÁVILA, A.C.; RESENDE, R.O. Estudo da interação de um begomovírus isolado de tomateiro com a mosca branca. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.6, p.664-673, 2003.

SANTOS, F.F.B. **Obtenção e seleção de híbridos de tomate visando à resistência ao *Tomato yellow vein streak virus (ToYVSV)***. Tese de Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical. Instituto Agrônomo de Campinas, IAC, Campinas, p.3, 2009.

SEAGRI – SECRETARIA DE AGRICULTURA DE ARAPIRACA. **Levantamento agrícola da cultura do tomate**. Arapiraca, 2011.

SEAL, S.E.; VANDENBOSCH, F.; JEGER, M.J. **Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: Implications for sustainable control**. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25:23-46, 2006.

SEPLAN - Secretaria de Estado do Planejamento e do Orçamento. **Horticultura do Agreste**. Disponível em <http://www.planejamento.al.gov.br/apls/paginas/horticultura-do-agreste>. Acesso: 16 de abril de 2011.

STANLEY, J.; BISARO, D.M.; BRIDDON, R.W.; BROWN, J.K.; FAUQUET, C.M.; HARRISON, B.D.; RYBICKI, E.P.; STENGER, D.C. Family *Geminiviridae*. In: Fauquet, C.M.; Mayo, M.A.; Maniloff, J.; Desselberger, U. Ball, L.A. (Ed.). *Virus Taxonomy*. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: **Elsevier Academic Press**, 2005. p.301-326.

STANLEY, J. Subviral DNAs associated with geminivirus disease complexes. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 98, p. 121-129, 2004.

SUNTER, G.; BISARO, D.M. Transactivation of geminivirus AR1 and BR2 gene expression by the viral AL2 gene product occurs at the level of transcription. **Plant Cell**, Rockville, v. 4, p. 1321-1331, 1992.

SUNTER, G.; HARTITZ, M.D.; HORMUZDI, S.G.; BROUGH, C.L.; BISARO, D.M. Genetic analysis of tomato golden mosaic virus: ORF AL2 is required for coat protein accumulation while ORF AL3 is necessary for efficient DNA replication. **Virology**, New York, v. 179, p. 69-77, 1990.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. **Tomate para o processamento industrial**. Brasília: EMBRAPA-HORTALIÇAS, 2000, 168p.

SILVA, S.J.C. **Detecção, caracterização molecular e diversidade genética de *Begomovirus* que infectam fava (*Phaseolus lunatus* L.)**. Tese de Mestrado em Produção Vegetal. Universidade Federal de Alagoas, UFAL, Rio Largo, 2006.

SILVA, S.J.C. **Diversidade e estrutura genética de begomovírus que infectam plantas daninhas no nordeste brasileiro**. Tese de Doutorado em Fitopatologia. Universidade Federal rural de pernambuco, UFRPE, Recife, 2011.

TOSCANO, L.C.; BOIÇA JÚNIOR, A.L.; MARUYAMA, W.I. Fatores que Afetam a Oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v.31, p.631-634, 2002.

VANITHARANI, R.; CHELLAPPAN, P.; PITA, J.S.; FAUQUET, C.M. Differential roles of AC2 and AC4 of cassava geminiviruses in mediating synergism and suppression of posttranscriptional gene silencing. **Journal of Virology**. V.78, p.9487-9498, 2004.

VILLAS BOÂS, G.L.; FRANÇA, F.H.; MACEDO, N. Potencial biótico da mosca-branca *Bemisia argentifolli* a diferentes plantas hospedeiras. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.71-79, 2002.

VOINNET, O.; PINTO, Y.M.; BAULCOMBE, D.C. Suppression of gene silencing: A general strategy used by diverse DNA and RNA viruses of plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 96, p. 14147-14152, 1999.

WANG, H.; BUCKLEY, K. J.; YANG, X.; BUCHMANN, R.C.; BISARO, D.M. Adenosine kinase inhibition and suppression of RNA silencing by geminivírus AL2 and L2 proteins. **Journal of Virology**, v.79, p.7410-7418, 2005.

ZERBINI, F.M.; ZAMBOLIM, E.M.; CARRIJO, I.V.; GILBERTSON, R.L. A new bipartite geminivirus infecting tomatoes in Minas Gerais, Brazil. **Phytopathology**, v.86, p.51, 1996.

ZERBINI, F.M.; ANDRADE, E.C.; BARROS, D.R.; FERREIRA, S.S.; LIMA, A.T.M.; ALFENAS, P.F.; MELLO, R.N. Traditional and novel strategies for geminivirus management in Brazil. **Australasian Parglant Pathology**, Perth, v. 34, p. 475-480, 2005.