

EPIDEMIA DE BEGOMOVIROSE EM TOMATEIRO: UM ESTUDO DE CASO EM LUZIÂNIA, GOIÁS

EPIDEMICS OF TOMATO BEGOMOVIRUS: A CASE STUDY IN LUZIÂNIA, GOIÁS

Wandressa de Souza Pereira¹, Alice Kazuko Inoue-Nagata², Felipe Augusto Alves Brige³

1 Aluna do Curso de Agronomia

2 Embrapa Hortaliças

3 Professor Mestre do Curso de Agronomia

Resumo

A begomovirose é uma das mais importantes doenças do tomateiro em função das suas elevadas perdas. Atualmente, tomate severe rugose virus (ToSRV) é considerado o begomovírus de maior ocorrência em tomateiro no Brasil, sendo este vírus transmitido pelo vetor *Bemisia tabaci*. Em vista da dificuldade no controle dessa doença, são continuamente demandadas novas estratégias de manejo. O objetivo deste trabalho foi estudar a ocorrência e dispersão do begomovírus em tomateiro cultivado em pivô central (PC) para desenvolver uma estratégia de manejo de begomovirose em tomateiro baseada na predição da ocorrência de epidemias. Três PCs cultivados com tomateiro rasteiro foram monitorados quanto à incidência da begomovirose. A taxa de incidência foi estimada pela avaliação visual de sintomas e testes de detecção. O begomovírus foi preliminarmente identificado como ToSRV. A taxa de infecção nos três PCs foi de ~35% no PC2, 34% no PC1 e ~99% no PC3. A partir de testes de detecção de begomovírus em plantas coletadas antes do plantio de tomateiro, foi detectado o ToSRV em amostras de tomateiro espontâneo e soja. Análises de incidência e distribuição do vírus sugerem que potencialmente o tomateiro espontâneo e a soja serviram como fonte de ToSRV para o PC2, a soja para o PC1 e as plantas dos PCs 1 e 2 foram fontes de inóculo para o PC3. Este trabalho mostrou que a estratégia é adequada e será adotada para a continuação dos estudos epidemiológicos para a elaboração da ferramenta de predição da epidemia da begomovirose.

Palavras-Chave: Epidemiologia; begomovírus; *Solanum lycopersicum*; ToSRV; geminivírus; mosaico dourado.

Abstract

The begomovirus disease is one of the most important diseases of tomato plants due to its significant losses. Currently, tomato severe rugose virus (ToSRV) is considered the most prevalent begomovirus in tomato plants in Brazil, and it is transmitted by the vector *Bemisia tabaci*. Due to the difficulty in controlling this disease, new management strategies are continuously demanded. The main goal of this study was to investigate the occurrence and spread of begomoviruses in tomato plants cultivated in central pivots (PC) to develop a begomovirus management strategy based on the prediction of epidemic occurrences. Three PCs cultivated with determinate growth tomatoes were monitored for the incidence of begomoviruses. The incidence rate was estimated through visual symptom assessment and detection tests. The begomovirus was preliminarily identified as ToSRV. The infection rates in the three PCs were approximately 35% in PC2, 34% in PC1, and around 99% in PC3. Through begomovirus detection tests on plants collected prior to tomato planting, ToSRV was detected in spontaneous tomato and soybean samples. Incidence and distribution analyses of the virus suggest that potentially spontaneous tomato and soybean plants served as sources of ToSRV for PC2, soybeans for PC1, and plants from PCs 1 and 2 were sources of inoculum for PC3. This study demonstrated that the strategy is suitable and will be adopted for further epidemiological studies to develop a tool for predicting begomovirus epidemics.

Contato: wandressa.pereira@souicesp.com.br; felipe.brige@icesp.edu.br

Introdução

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é uma planta semi-perene e, na maioria das vezes, é cultivado como anual. O crescimento é limitado nas variedades de crescimento determinado e contínuo nas variedades de crescimento indeterminado. A produção de tomate pode ser classificada em tomateiros de acordo com o uso, por exemplo, de frutos destinados para processamento industrial e para consumo *in natura* (ALVARENGA, 2013; CAMARGO FILHO et al. 2001). O Brasil figura entre os dez maiores produtores de tomate no mundo e sua produção foi de 3.679.160 toneladas de tomates no ano de 2021 (FAO, 2021). Atualmente, o estado de Goiás é o maior produtor de tomate do país, seguido por São Paulo e Minas Gerais (IBGE, 2021).

O tomateiro está sujeito a diversas doenças que podem causar danos à sua produção, dentre elas as causadas por fungos, bactérias,

nematoides e vírus. As doenças, em particular as viroses, representam um dos fatores mais importantes que limitam a produção do tomateiro. Dentre as doenças causadas por vírus destacam-se a tospovirose, potyvirose, cucumovirose e, particularmente, a begomovirose (LOPES, 2005; KUROZAWA et al., 2005; INOUE-NAGATA, 2013).

Os begomovírus pertencem ao gênero *Begomovirus* e à família *Geminiviridae*, juntamente com os gêneros *Becurtovirus*, *Capulavirus*, *Citlodavirus*, *Curtovirus*, *Mulcrilevirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Maldovirus*, *Mastrevirus*, *Opunvirus*, *Topocuvirus*, *Topilevirus* e *Turncurtovirus* (FIALLO-OLIVÉ et al., 2021). O gênero *Begomovirus* é o maior gênero dentro da família com mais de 440 espécies e a transmissão dos membros desse gênero é exclusiva por moscas-brancas *Bemisia tabaci* (FIALLO-OLIVÉ et al., 2021, 2023; ROSEN et al., 2015). Os begomovírus apresentam como genoma um DNA de fita simples, composto por uma ou duas

moléculas de DNA denominados (DNA-A e DNA-B) e com aproximadamente 2,6 kb cada (LAZAROWITZ, 1992).

Os sintomas característicos causados por begomovírus em tomateiro consistem em mosaico com amarelo intenso, clorose internerval, clorose de nervuras, deformação foliar e nanismo. Como consequência, há redução significativa da produtividade em plantas infectadas (INOUE-NAGATA et al., 2013;2016). A begomovirose do tomateiro no Brasil é causada por mais de 25 espécies de begomovírus, por exemplo *Euphorbia yellow mosaic virus*, *Tomato bright yellow mosaic virus*, *Tomato bright yellow mottle virus*, *Tomato chlorotic mottle virus*, *Tomato common mosaic virus*, *Tomato golden leaf distortion virus*, *Tomato golden leaf spot virus*, *Tomato golden mosaic virus*, *Tomato golden vein virus*, *Tomato interveinal chlorosis virus*, *Tomato leaf curl purple vein virus*, *Tomato leaf distortion virus*, *Tomato mild mosaic virus*, *Tomato mottle leaf curl virus*, *Tomato rugose mosaic virus*, *Tomato rugose yellow leaf curl virus*, *Tomato severe rugose virus*, *Tomato yellow spot virus* e *Tomato yellow vein streak virus* (MATYS et al.,1975; RIBEIRO et al., 2003; FERNANDES et al., 2006; 2015; CALGARIO et al.,2007; COTRIM, et al., 2007; RIBEIRO et al., 2007; ALBUQUERQUE et al., 2012; DUARTE, et al., 2019; REGO-MACHADO et al., 2019;). Dentre esses begomovírus que infectam o tomateiro no Brasil, o tomato severe rugose virus (ToSRV) atualmente é o mais predominante (Souza et al., 2020).

O controle da begomovirose em campo é difícil. Entretanto, existem medidas preventivas que podem ser aplicadas para reduzir as perdas pelas viroses, consistindo em utilização de híbridos moderadamente resistentes, mudas saudáveis e tratadas com inseticida antes do transplante, controle químico do vetor *B. tabaci* e medidas sanitárias. Adicionalmente, no estado de Goiás, devido à alta incidência da begomovirose na tomaticultura, o estado instituiu uma medida de vazão sanitário, que estabeleceu um período livre de dois meses de cultivo de tomateiro, que se encontra em vigência desde 2007 (INOUE-NAGATA, 2013; IN 06/2011 Agrodefesa de 14/06/11). Essa medida sanitária tem o objetivo de quebrar o ciclo da doença, pois o principal hospedeiro dos begomovírus de tomateiro é o próprio tomateiro.

A falta de produtos agrícolas eficientes para manejar doenças virais representa o maior desafio da tomaticultura. Por isso, o desenvolvimento de novas estratégias de manejo tornou-se uma demanda crescente, principalmente para doenças de tomateiro como a begomovirose. Visando responder a essa demanda, buscou-se estudar a ocorrência e dispersão do begomovírus em tomateiro para servir de base para elaborar uma ferramenta de predição de ocorrência de epidemia de begomoviroses em tomateiro de cultivo para processamento

industrial. Este estudo faz parte de um projeto para desenvolver recomendações de manejo de begomovirose para o tomateiro rasteiro. O estudo consistiu na análise de três lavouras de cultivo de tomateiro irrigado por pivô central (PC). Os três PCs foram cultivados com tomateiro e a incidência de begomovirose foi avaliada em tomateiro, em plantas de soja cultivada e daninhas e em plantas de tomateiro voluntárias. A análise envolveu a coleta de amostras de plantas antes e durante o plantio de tomateiro para avaliar as potenciais fontes de inóculo e registro da taxa de infecção de plantas. O objetivo foi identificar as potenciais plantas fontes do vírus para o tomateiro cultivado. Portanto, busca-se a partir desse estudo entender como a doença ocorre em campo para futuramente propor uma recomendação de manejo para essa doença.

Materiais e Métodos

Localização, coleta de amostra e desenho experimental.

O estudo teve início em fevereiro de 2023 durante visitas periódicas realizadas em uma área produtora de tomateiro rasteiro no município de Luziânia, Goiás (coordenadas -16.316162, -47.703960). A paisagem agrícola dessa área era composta por cultivo de tomateiro com parte cercada por uma plantação de soja, cultivo de eucalipto, de repolho (dentro do PC2) e de açafrão (dentro do PC2 e PC3). Além disso, plantas daninhas e plantas espontâneas foram frequentemente encontradas dentro e nos arredores dos PCs. O monitoramento para detectar begomovírus em tomateiros e potenciais fontes de inóculo foi realizado por meio do acompanhamento semanal da área de estudo durante todo o período de plantio do tomate rasteiro. As visitas ocorreram de 09 de fevereiro a 24 de maio. A área analisada consistiu em três PCs, denominados aqui de PC 1, 2 e 3 (Fig. 1). O plantio foi iniciado no PC2 (14/02/23) e logo depois no PC1 (26/02/23). Por fim, o plantio no PC3 foi dividido em duas etapas, sendo que a primeira etapa ocorreu a partir de 09/03/23 e a segunda a partir de 11/04/23. Em todos os PCs foram plantadas cultivares suscetíveis a begomoviroses, sendo elas no PC1: HMX 7885, BSP 0034 e H1301; no PC2: HMX 7885, BSP 0034, H5369 e H1301; e no PC3: BSP 0014, HM 7883, H2022 e H1301.

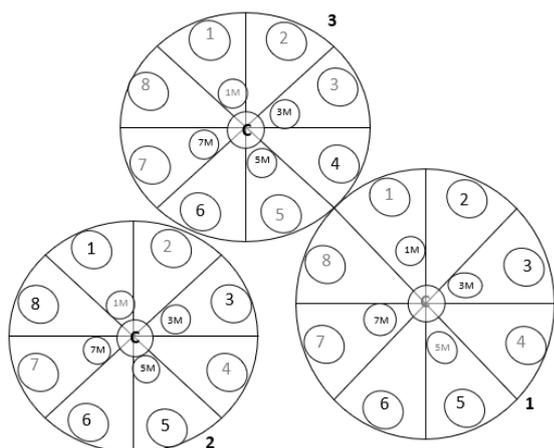


Fig.1- Desenho esquemático da localização dos pontos no pivô 1, pivô 2 e pivô 3. Pontos estabelecidos em cada oitante: 1,2,3,4,5,6,7 e 8; em cada quadrante, pontos 1M,3M,5M e 7M estabelecidos no meio entre a borda um ponto no centro (C).

Em cada PC, foram estabelecidos pontos em cada oitante, com os pontos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8; em cada quadrante (pontos 1, 3, 5 e 7), foram estabelecidos pontos no meio entre a borda e o centro do pivô (pontos 1M, 3M, 5M e 7M); e um ponto no centro dos PCs (C) (Figura 1).

Amostras de plantas de soja (*Glycine max*) que cercavam parte dos PCs foram aleatoriamente coletadas. Além dessas, amostras de plantas de tomateiros espontâneos encontrados em plantação de repolho e plantas daninhas encontradas nos arredores e dentro dos PCs foram coletadas. Todas as amostras foram levadas ao Laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Hortaliças para a detecção viral.

Avaliação da taxa de plantas com sintomas de infecção por begomovírus

Em cada um dos pontos analisados dos três PCs, 100 plantas foram avaliadas quanto à expressão de sintomas de infecção por begomovírus aos 35-43 dias após o transplante. Foram consideradas infectadas por begomovírus as plantas que apresentaram sintomas típicos de begomovirose, tais como clorose, enrolamento foliar e nanismo. Para confirmar os resultados da análise visual, 20 plantas com sintomas de cada ponto dos quadrantes foram coletadas e analisadas por teste de detecção de begomovírus, descrito abaixo.

Extração de DNA total e detecção dos begomovírus

Todas as amostras coletadas foram submetidas à extração de DNA total (Doyle & Doyle, 1991). Amostras foliares de tomateiro foram coletadas nos PCs 1, 2 e 3 para confirmação da infecção e pré-identificação do begomovírus e o DNA foi extraído seguindo o mesmo protocolo de extração citado

anteriormente. A amplificação do DNA circular viral foi por meio da técnica de *Rolling Circle Amplification* (RCA) (Inoue-Nagata et al., 2004). Esta técnica permite a amplificação de DNAs circulares, como é o caso do DNA dos begomovírus. Para analisar a diversidade viral presente no conjunto amostral, o produto do RCA foi digerido com a enzima de restrição Anza™ 65 MspI (Invitrogen). A partir dessa técnica, perfis de restrição específicos do DNA dos vírus são gerados. O DNA digerido foi separado por meio da técnica de eletroforese em gel de agarose 1%. Por fim, o gel foi corado com brometo de etídeo (10 mg/mL) e posteriormente o DNA foi visualizado em um transiluminador com luz UV. Para determinação do tamanho dos fragmentos de cada perfil de restrição, foi utilizado marcador molecular 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen) para comparação.

Para detecção específica do begomovírus ToSRV nas amostras de tomateiro e soja, foi empregada a técnica de PCR (polymerase chain reaction) com pares de oligonucleotídeos específicos para ToSRV: ToSRV1f e ToSRV2r (FERNANDES et al., 2010). Para detecção de begomovírus foram utilizados os oligonucleotídeos universais para detecção por PCR, PARc496 e PALv1978 (ROJAS et al., 1993).

Resultados

Com o objetivo de compreender a ocorrência e distribuição de begomovírus em tomateiro para processamento, primeiramente, estudou-se as potenciais plantas fontes de begomovírus na lavoura. Este estudo consistiu no monitoramento da presença de begomovírus em tomateiro e em plantas daninhas na área interna e circunvizinha a três PCs plantados com tomateiro. O estudo foi realizado em uma propriedade em Luziânia, Goiás, onde o início do transplante do tomateiro foi realizado na segunda semana de fevereiro. Os três PCs se localizavam um ao lado do outro (Figura 2). Entre o PC 2 e 3 se encontrava um reservatório de água em construção e ao redor havia plantação de eucalipto para produção de madeira. Todos os cultivos tiveram sua produção destinada à produção de tomate para a indústria. O monitoramento destas lavouras foi realizado desde o plantio até o estágio de início da frutificação (35-43 dias do transplante). Desse modo, foi possível acompanhar a ocorrência de begomovirose em campo na fase mais crítica da doença.

Na propriedade vizinha havia plantas de soja (Figura 2), com alta infestação de moscas-brancas, precedendo o período de transplante do tomateiro. Não foram observadas em plantas de soja sintomas típicos de infecção por begomovírus, como mosaico, deformação foliar e manchas

cloróticas. (Fig. 6)

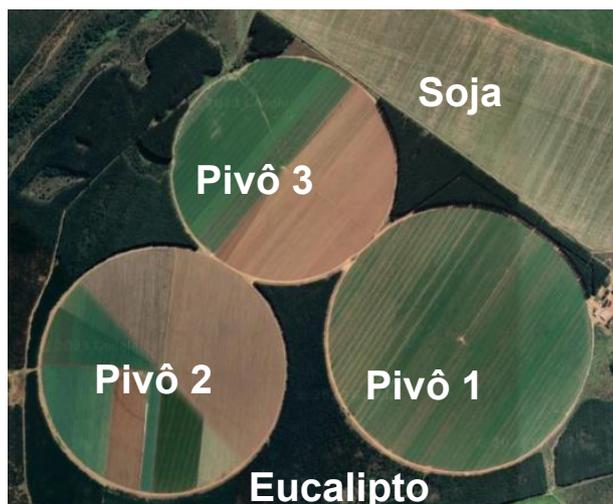


Fig. 2- Localização dos pivôs 1, 2 e 3. Plantio de soja e Eucalipto.

Foram estabelecidos em cada PC, 8 oitantes (pontos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8), pontos no meio entre a borda e o centro do pivô (pontos 1M, 3M, 5M e 7M) e um ponto no centro dos PCs (C) em cada PC (Figura 1), como descrito no Materiais e Métodos. Nos PCs 1 e 2 (Figura 1, 2), havia plantação de braquiária no período das chuvas. No PC3, havia uma plantação de repolho na metade da área (pontos 1 a 5) em estágio de início de colheita. Entre as plantas de repolho, plantas espontâneas de tomateiro e plantas daninhas foram observadas. Na área ao lado do ponto 5 deste PC, foi constatado que havia tomateiro e várias plantas daninhas. Amostras dessas plantas foram coletadas para teste de detecção de vírus em laboratório. Nos PCs 2 e 3, havia plantação de açafrão, correspondendo a parte dos pontos 4 e 5 no PC3 e partes dos pontos 2 e 3 no PC2. Dentro da plantação de açafrão, foram observadas plantas de tomateiro sem sintomas virais, enquanto ao redor dos PCs 1, 2 e 3 havia plantações de eucalipto em fase de início de colheita. Entre o PC 2 e 3, um reservatório de água estava em construção. Foi formulada uma hipótese de que as plantas de soja, as espontâneas tais como tomateiro encontrado no meio da plantação de repolho e plantas daninhas em volta das áreas de cultivo podem servir como fonte de reservatório de vírus. Para este trabalho foram coletadas amostras de plantas em volta e no meio dos PCs 1, 2 e 3 a fim de avaliar essas plantas quanto à infecção por begomovírus.

Deteção de begomovírus em plantas de tomateiro e soja, daninhas e espontâneas.

Inicialmente, a amostragem constituiu-se de plantas espontâneas e daninhas coletadas dentro e fora dos PCs antes do transplante do tomateiro (Figura 3). Ademais, plantas de soja foram coletadas (32 amostras) antes do plantio de tomateiro, em área localizada ao lado dos PCs 1

e 3. Adicionalmente, 31 amostras de plantas de tomateiro espontâneas assintomáticas foram coletadas no meio do repolho e amostras das plantas daninhas maria-pretinha (*Solanum americanum*), beldroega (*Portulaca oleracea.*), caruru (*Amaranthus* spp.) e amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*) foram coletadas em volta do PC2.

Após o transplante do tomateiro, amostras de trapoeraba (*Commelina benghalensis*) foram coletadas no PC2 de tomate (pontos 1 e 3), mentrasto (*Ageratum conyzoides*), amendoim-bravo, caruru, beldroega, maria-pretinha, mentrasto, açafrão (*Crocus sativus*) e joá-de-capote (*Nicandra physalodes*) dentro da área de açafrão no PC2. Amostras de maria-pretinha, joá-de-capote, amendoim-bravo, caruru e cipó-enredadeira (*Polygonum convolvulus*) foram coletadas em volta do PC3.

O DNA total das amostras coletadas foi extraído e posteriormente o DNA circular amplificado pela técnica de RCA. Em seguida, a diversidade viral presente nas amostras foi identificada por meio de restrição do DNA viral amplificado (Tabela 1). Como resultado, utilizando RCA/RFLP foi observado que nenhuma planta de soja foi encontrada infectada por begomovírus. Em relação a amostras de tomateiro coletadas no meio da plantação de repolho, o resultado do teste de detecção de begomovírus foi positivo para 18 amostras do total de 31 amostras (Figura 4, Tabela 1). Entretanto, devido à presença de infecções mistas não foi possível identificar o provável begomovírus (Figura 4). Para verificar se as plantas de soja e tomateiro espontâneos estavam infectadas com ToSRV (vírus predominante no Brasil), as amostras foram submetidas a PCR com primers específicos. Para a PCR de soja, foi utilizado como molde a RCA das amostras descritas anteriormente; em tomateiro, o DNA total foi utilizado. Dessa forma, foi possível detectar o ToSRV em uma amostra de soja e em 25,80% (8/31) de tomateiro (exemplo na figura 5, Tabela 1). Isso sugere que a soja e o tomateiro, nesta fase, poderiam estar já infectados por ToSRV e estarem atuando como potenciais fontes de inóculo de ToSRV para o tomateiro cultivado. Em amostras de plantas daninhas coletadas antes do transplante, potenciais begomovírus foram detectados em amendoim-bravo (43,24%, 16/37), mas não em plantas de maria-pretinha, beldroega, mentrasto e caruru. O perfil de digestão do DNA amplificado de amendoim-bravo não correspondeu ao perfil de ToSRV.

Em relação a plantas daninhas coletadas após o transplante, em regiões próximas aos tomateiros, as plantas de amendoim-bravo apresentaram uma alta taxa de infecção por begomovírus (17 positivos/18 total; 94,44%), sendo que as coletas foram dirigidas para plantas com sintomas de mosaico amarelo (Figura 3D), típico de infecção por begomovírus. Em plantas de maria-pretinha, que foram coletadas sem sintomas, o

begomovírus foi detectado em 42,85% (6/14). Em plantas de joá-de-capote, begomovírus foi detectado em 20% (3/15), sendo que havia plantas coletadas com sintomas de mosaico amarelo e plantas sem sintomas. Em cipó-enredadeira foi detectado begomovírus em uma única amostra, correspondendo a 25% (1/4). A análise do perfil de restrição sugere que as plantas maria-pretinha e joá-de-capote apresentavam perfil potencial de ToSRV. Em amendoim-bravo 33/55 apresentaram perfil por meio de RCA-RFLP de Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV) e a identificação precisa ainda ser confirmada. Esses resultados sugerem que a maria-pretinha e o joá-de-capote são suscetíveis à infecção de ToSRV e são potenciais reservatórios de begomovírus para a cultura do tomateiro.

Tabela 1: Detecção de begomovírus por meio RCA e PCR em plantas daninhas coletadas em Luziânia, Goiás.

Nome comum	Espécie	NPI/NPC-RCA ¹	NPI/NPC-PCR ²
Açafrão	<i>Curcuma longa</i>	0/5	NT
Amendoim-bravo	<i>Euphorbia heterophylla</i>	33/55	NT
Caruru	<i>Amaranthus</i> spp.	0/29	NT
Cipó-enredadeira	<i>Polygonum convulvulus</i>	1/4	NT
Beldroega	<i>Portulaca oleracea</i>	0/5	NT
Joá-de-capote	<i>Nicandra physalodes</i>	3/15	NT
Maria-pretinha	<i>Solanum americanum</i>	6/14	NT
Mentrassto	<i>Ageratum conyzoides</i>	0/3	NT
Soja	<i>Glycine max</i>	0/32	1/32
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	0/31	8/31
Trapoeraba	<i>Commelina benghalensis</i>	0/8	NT

¹Número de plantas com detecção positiva de DNA circular por RCA-RFLP

²Número de plantas com detecção positiva de ToSRV por PCR



Fig.3 - Plantas observadas nas áreas de monitoramento: A. Tomateiros espontâneos sem sintomas em cultivo de repolho; B. Caruru sem sintomas. C. Soja sem sintomas. D. Amendoim bravo com mosaico intenso. E. Joá-de-capote com sintomas de mosaico. F. Área de plantação de açafrão com plantas daninhas.

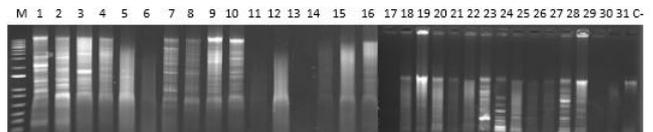


Fig4 - Gel de eletroforese do produto de digestão da RCA-RLP amplificado de 31 amostras de tomateiros coletados no meio do repolho. Amplificação positiva de potenciais begomovírus foi observada nas amostras: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 16, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 28 e 29.

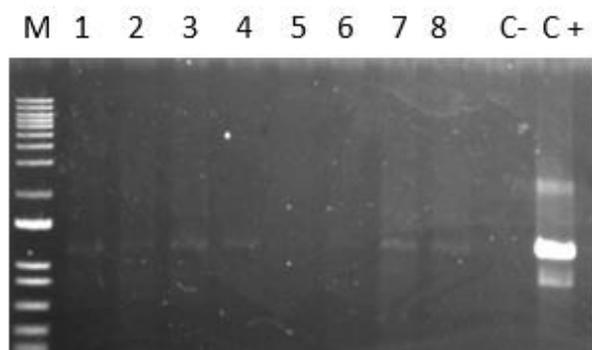


Fig 5 - Gel de eletroforese do produto viral amplificado de 8 amostras de DNA total extraído de tomateiros usando oligonucleotídeos específicos para ToSRV. Controle negativo, água na reação de PCR, controle positivo de amostras de DNA total de planta infectada por ToSRV.

Taxa de infecção de begomovírus em tomateiros cultivados nos pivôs centrais

Na segunda etapa do trabalho, foi realizado o acompanhamento do transplante do tomateiro

nos pivôs entre os dias 14 de fevereiro de 2023 a 22 de abril de 2023. Cada pivô tem uma área de aproximadamente 100 hectares. Antes do transplante de mudas de tomateiro, foi constatado que nas áreas do plantio havia uma alta população de moscas-brancas. As moscas-brancas foram observadas em: soja, tomateiro espontâneo em repolho, amendoim-bravo, caruru, joá-de-capote e maria-pretinha sugerindo serem todas hospedeiras de moscas-brancas. O transplante foi realizado por duas transplantadoras semi-automatizadas. Nesta etapa do estudo, o objetivo foi monitorar a incidência de begomovírus no tomateiro em cada ponto estabelecido (Figura 1). Aos 35-43 dias após o transplante do tomateiro, foi realizada avaliação visual de sintomas, com a contagem de plantas com sintomas de mosaico clorose de nervuras, clorose internerval, deformação e enrolamento foliar e nanismo (Figura 6) em 100 plantas de forma aleatória. Os resultados estão apresentados na tabela 2. No dia 23 de março, a avaliação foi realizada no PC2, o primeiro a ser plantado. A taxa de incidência de plantas sintomáticas foi nos 95% no ponto 1, 1M de 84%, 3M de 100%, 7 de 2% e centro de 47%. Já nos pontos 5M a taxa foi de 26%, ponto 6 de 1%, no ponto 7M de 3%, no ponto 2 75%, no ponto 3 6%, no ponto 4 de 2% e no ponto 8 foi de 15%. A maior taxa de infecção foi encontrada no ponto 1 com 95% de infecção por begomovírus e a menor encontrada foi no ponto 6 com 1% de infecção.

No PC1, o segundo a ser plantado, foi realizada a avaliação dia 06 de abril: a taxa de maior incidência de infecção foi concentrada nos pontos 1, 5 e C (Tabela 2). A menor taxa foi observada nos pontos 1M,2,3,3M,4,5M,6,7,7M e 8.

No PC3 a avaliação foi realizada em duas datas: 13 de abril e 24 de maio e foi verificado que os pontos 1,2,3M,4,5,6,7,8 e C apresentavam plantas com 100% de infecção. Já no ponto 3 a taxa foi de 92% (Tabela 2).

Para avaliar se a análise de sintomas é suficiente para determinar a infecção por begomovírus, 20 amostras de plantas com sintomas foram coletadas nos três PCs e analisadas individualmente por RCA-RFLP. Todas as amostras apresentaram detecção positiva confirmando a confiabilidade da análise visual de sintomas.

Tabela 2. Índice de infecção por sintomatologia nos PCs 1, 2 e 3.

Localização	Pivô 1	Pivô 2	Pivô 3
Ponto 1	80%	95%	100%
Ponto 1M	25%	84%	100%
Ponto 2	33%	75%	100%
Ponto 3	5%	6%	92%
Ponto 3M	22%	100%	100%
Ponto 4	61%	2%	100%
Ponto 5	77%	2%	100%
Ponto 5M	25%	26%	100%
Ponto 6	11%	1%	100%
Ponto 7	7%	2%	100%
Ponto 7M	5%	3%	100%
Ponto 8	17%	15%	100%
Centro	76%	47%	100%

Análise dos begomovírus em tomateiros dos pivôs

Para analisar a diversidade de begomovírus em tomateiro, foram coletadas nos pontos 1, 3, 5 e 7 de cada PC 20 amostras de plantas. As amostras coletadas em cada ponto foram agrupadas, realizando uma extração de DNA da amostra composta e logo após submetidas à análise pela técnica de RCA/RFLP. Em todas as amostras, foi verificado o perfil típico de ToSRV, ou seja, quatro fragmentos: 1,8 kb, 1,6 kb, 1,1 kb e 0,7kb (Exemplo na figura 7). Isso indicou a presença de ToSRV nas amostras de tomateiro dos três PCs.



Fig.6- Tomateiros com sintomas de infecção por begomovírus em campo, como clorose e enrolamento foliar

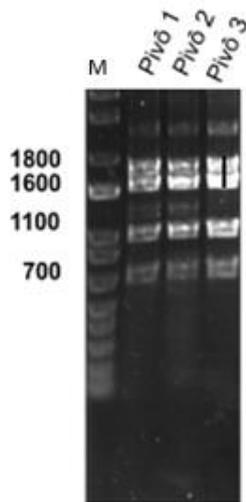


Fig.7- Gel de agarose com perfis de restrição de DNA amplificado por RCA e digerido por MspI para amostras representativas dos pivôs 1, 2 e 3. M: Marcador 1 kb DNA ladder (Invitrogen).

Discussão

Atualmente, o estado de Goiás é considerado o maior produtor de tomate do Brasil (IBGE, 2021). Devido aos problemas causados pela begomovirose, o estado implementou desde 2007 medidas fitossanitárias para a diminuição do inseto vetor (moscas-brancas), incluindo um período de vazio sanitário do tomateiro (dezembro e janeiro) e destruição dos restos culturais após a colheita de cada talhão (IN 06/2011 Agrodefesa de 14/06/11). O controle das begomoviroses ainda é difícil, por isso um conjunto de medidas deve ser adotado para diminuir a incidência de doenças. Por não existirem métodos curativos, os vírus têm alto poder destrutivo no tomateiro, acarretando até 40 a 100% de prejuízo na produção de tomate (COSTA, 1976; INOUE-NAGATA et al., 2016; FARIA et al., 2000).

O modo como a doença entra e avança na cultura do tomateiro é pouco entendida e para contribuir com essa informação acompanhamos lavouras de tomateiro para processamento irrigadas por pivô central no estado do Goiás. Três PCs foram acompanhados antes e após o plantio do tomate, todos cultivados com tomateiros híbridos suscetíveis à infecção por begomovírus. O transplante foi realizado em meio à revoada de moscas-brancas, sendo que as plantas de soja eram abundantes e estavam infestadas com moscas-brancas. Em algumas plantas de soja e tomateiro analisadas antes do transplante foi observada a presença de ToSRV, que foi o vírus predominante na área. Essa detecção foi possível por meio de PCR com oligonucleotídeos específicos para ToSRV. Isso indica um baixo título viral, confirmando também a ausência de sintomas de infecção. A detecção de ToSRV em soja confirma relato anterior em 2017, em plantas sem sintomas (MACEDO et al., 2017).

Após o transplante do tomateiro, a presença de begomovírus em plantas de amendoim-bravo, maria-pretinha, caruru, joá-de-capote e cipó-enredadeira foi detectada por meio de RCA. Todas as plantas citadas anteriormente são potenciais reservatórios de ToSRV, a exemplo de joá-de-capote que já foi relatada como hospedeira deste vírus (Barbosa et al., 2009). A presença de ToSRV precisa ainda ser confirmada com testes adicionais.

Os resultados obtidos de infecção do tomateiro nos 3 PCs (Tabela 2) demonstram que os pontos 1, 1M, 2, 3M e C são os de maior infecção no PC2, a primeira área a ser plantada, enquanto no restante dos pontos avaliados (3, 4, 5, 5M, 6, 7, 7M e 8), a incidência foi menor. Os pontos 1-3 ficam localizados em uma área não cercada por eucaliptos e do lado do PC3. Já os demais pontos estão cercados por eucalipto em toda a extensão. Isso sugere que as moscas-brancas possam ter migrado do PC3, onde haviam tomateiros espontâneos e daninhas, e também plantas de soja, que se encontravam do lado do PC1 e PC3. A detecção de ToSRV em plantas de soja e tomateiro indica que essas plantas foram potenciais fontes de inóculo para o tomateiro cultivado no PC2.

No PC1, plantado em seguida do PC2, os pontos com maior taxa de infecção foram 1, 1M, 2, 4, 5 e C. Os pontos 1 a 2 encontram-se cercados por uma faixa de eucalipto, mas do lado de uma área de soja. De forma semelhante, os pontos 4 e 5 encontram-se cercados de eucalipto e do lado mais próximo de uma plantação de soja cultivada em pivôs. Os demais pontos encontram-se rodeados de eucalipto e mais distantes de lavouras de soja (Figura 2).

No PC3, último a ser transplantado com tomateiro, a taxa de infecção foi de 100% na maioria dos pontos. Especula-se que a alta taxa de infecção das plantas deste pivô se deu pela migração das moscas-brancas virulíferas dos PCs 1 e 2 adjacentes.

A partir destas informações podemos concluir que na presença de altas infestações de moscas-brancas, é recomendável a eliminação de plantas espontâneas e daninhas, que são potenciais reservatórios de ToSRV. A análise de sintomas não é indicada para a avaliação da presença do ToSRV na área em plantas que não são tomateiros, mas testes de alta sensibilidade são necessários. BERGAMIN et al. (2020) sugeriram o potencial papel da soja como amplificador de ToSRV para a cultura do tomateiro e os resultados descritos neste estudo tendem a confirmar esta hipótese. É necessário considerar também que o reservatório de ToSRV pode estar mais distante do local de cultivo do tomateiro, sendo necessário um esforço de coleta e monitoramento em uma região maior.

Conclusão:

Os resultados obtidos nesse estudo sugerem que plantas de *Glycine max* podem atuar como hospedeiro de ToSRV para cultura do tomateiro. Enquanto *Nicandra physalodes*, *Solanum americanum*, *Ageratum conyzoides*, *Polygonum convulus* e tomateiro espontâneo podem atuar como reservatório de ToSRV para a cultura do tomate. Portanto, estratégias de manejo

de begomovírus em cultivo de tomate devem ser planejadas e implementadas, incluindo a eliminação de plantas hospedeiras de begomovírus antes do transplante de mudas de tomate.

Agradecimentos:

Toda equipe do laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Embrapa Hortaliças.

Referências:

ALBUQUERQUE, L.C.; MARTIN, D.P.; AVILA, A.C. & INOUE-NAGATA, A.K. 2010.Characterization of tomato yellow vein streak virus, a begomovirus from Brazil. **Virus Genes** 40:140-147. DOI:10.1007/s11262-009-0426-2

ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Origem, botânica e descrição da planta. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. cap.1, p. 13-21. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras. Lavras-MG, 2013.

ANDRADE, E.C.D. & ZERBINI, F.M. 2007. Characterization of Tomato yellow spot virus, a novel tomato-infecting begomovirus in Brazil. **Pesquisa agropecuária brasileira** 42: 1335-1343. DOI: 10.1590/s0100-204x2007000900016

BERGAMIN Filho A, Macedo MA, Favara GM, Bampi D, Oliveira FF, Rezende JAM. Amplifier Hosts May Play an Essential Role in Tomato Begomovirus Epidemics in Brazil. **Front Plant Sci**. 2020 Apr 15;11:414. DOI: 10.3389/fpls.2020.00414

CAMARGO Filho WP (2001) Perspectivas dos mercados de tomate para indústria e mesa. *Informações Econômicas* 31: 51-54. Disponível em < <http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/ie/2001/seto1-0501.pdf>> Acesso dia 15 de junho de 2023.

COTRIM, M. A. de A., Krause-Sakate, R., Narita, N., Zerbini, F. M., & Pavan, M. A. (2007). Diversidade genética de begomovírus em cultivos de tomateiro no Centro-Oeste Paulista. **Summa Phytopathologica**, 33(3), 300–303. DOI:10.1590/s0100-540520070003000

DOYLE J, Doyle J (1987) A rapid DNA isolation from small amount of fresh leaf tissue. **Phytochem. Bull**. 19: 11-15 <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2415/epag_2021_jan.pdf>. Acesso em: 01 de junho de 2023.

DUARTE, M. F., Fonseca, M. E. N., Costa, H., Fernandes, N. A. N., Reis, A., Boiteux, L. S., & Pereira-Carvalho, R. C. (2020). Diversity of tomato-infecting begomoviruses and spatiotemporal dynamics of an endemic viral species of the Brazilian Atlantic rain forest biome. **Virus Genes**. DOI:10.1007/s11262-020-01812-x

FAO,2021.Disponível em< <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>> Acesso em 01 de junho de 2023.

FARIA JC, Souza-Dias JAC, Slack SA, Maxwell DP. A New Geminivirus Associated with Tomato in the State of São Paulo, Brazil. **Plant Dis**. 1997 Apr;81(4):423. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.4.423B

FARIA, J.C.; BEZERRA, I.C.; ZERBINI, F.M.;RIBEIRO, S.G.; LIMA, M.F. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.125-137, 2000 < Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/208019/situacao-atual-das-geminiviroses-no-brasil>> Acesso dia 20 de junho de 2023.

FERNANDES FR, de Albuquerque LC, de Britto Giordano L, Boiteux LS, de Avila AC, Inoue-Nagata AK. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. **Virus Genes**. 2008. DOI: 10.1007/s11262-007-0184-y

FERNANDES, J.J.; CARVALHO, M.G.; ANDRADE, E.C.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; FONTES, E.P.B. & ZERBINI, F.M. 2006. Biological and molecular properties of Tomato rugose mosaic virus (ToRMV), a new tomato-infecting begomovirus from Brazil. **Plant Pathology** 55: 513-522. DOI: 10.1007/s11262-007-0184-y

FERNANDES, F. R., de Albuquerque, L. C., and Inoue-Nagata, A. K. 2010. Development of a species-specific detection method for three Brazilian tomato begomoviruses. **Trop. Plant Pathol.** 35:43-47 DOI: 10.1590/S1982-56762010000100007

FIALLO-OLIVÉ, Elvira et al. **ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae**, 2021. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jgv/102/12/jgv001696.pdf?expires=1686934732&id=id&accname=guest&checksum=5E47086C5DD452979EE8C0BC6ED3373F>> Acessado em 16 de junho de 2023.

IBGE, 2021. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Estatística da Produção Agrícola**. 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/tomate/br>. Acessado em 5 de junho de 2023

ICTVa (2023) ICTV Online Report. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy> Acessado em 01 de junho de 2023

ICTVb (2023) ICTV Online Report. Disponível em: <https://ictv.global/report/chapter/geminiviridae/geminiviridae/begomovirus> Acessado em 16 de junho de 2023

INOUE-NAGATA AK, Albuquerque LC, Rocha WB, Nagata T. A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage phi29 DNA polymerase. **J Virol Methods**. 2004. DOI: 10.1016/j.jviromet.2003.11.015

INOUE-NAGATA, A. K. 2013. Doenças viróticas. In **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**, Lavras-MG: Editora Universitária de Lavras, p. 329–354.

KUROZAWA, C.; Pavan, M.A. **Doenças do tomateiro**. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, 2005. v.2, cap. 67, p. 641-648. Disponível em: < <https://ppgfito.ufersa.edu.br/wp-content/uploads/sites/45/2015/02/Livro-Manual-de-Fitopatologia-vol.2.pdf>> Acesso dia 16 de junho de 2023.

LARAZOWITZ, Sondra G.; Shepherd, R. J. (1992). Geminiviruses: Genome structure and gene function. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 11(4), 327–349. 10.1080/07352689209382350

LOPES, C. A., de Ávila, A. C., CARLOS ALBERTO LOPES, C. N. P. H., & DE ÁVILA, A. C. (2005). **Doenças do tomateiro**.

MORALES FJ, Anderson PK. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. **Arch Virol**. 2001;146(3):415-41. DOI: 10.1007/s007050170153

REGO-MACHADO, C.M.; NAKASU, E.Y.; BLAWID, R.; NAGATA, T. & INOUE-NAGATA, A.K. 2019. Complete genome sequence of a new bipartite begomovirus infecting tomato in Brazil. **Archives of virology** 164: 2873-2875. DOI: 10.1007/s00705-019-04380-0

RIBEIRO, S. G., Ambrozevícius, L. P., Avila, A. C., Bezerra, I. C., Calegario, R. F., Fernandes, J. J., ... Zerbini, F. M. (2003). Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil. **Archives of Virology**, 148(2), 281–295. Doi:10.1007/s00705-002-0917-0

RIBEIRO, S.G.; MARTIN, D.P.; LACORTE, C.; SIMOES, I.C.; ORLANDINI, D.R. & INOUE-NAGATA, A.K. 2007. Molecular and biological characterization of Tomato chlorotic mottle virus suggests that recombination underlies the evolution and diversity of Brazilian tomato begomoviruses. **Phytopathology** 97: 702-711. Doi:10.1094/PHYTO-97-6-0702

ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; RUSSELL, D.R. & MAXWELL, D.P. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease* 77:340-347. Disponível em: < https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1993Articles/PlantDisease77n04_340.pdf> Acesso em: 15 de junho de 2023.

ROSEN R, Kanakala S, Kliot A, Cathrin Pakkianathan B, Farich BA, Santana-Magal N, Elimelech M, Kontsedalov S, Lebedev G, Cilia M, Ghanim M. Persistent, circulative transmission of begomoviruses by whitefly vectors. **Curr Opin Virol**. 2015. *Curr. Opin. Virol.* 2015, 15-1. Doi:10.1016/j.coviro.2015.06.008

SOUZA TA, Silva JMF, Nagata T, Martins TP, Nakasu EYT, Inoue-Nagata AK. A Temporal Diversity Analysis of Brazilian Begomoviruses in Tomato Reveals a Decrease in Species Richness between 2003 and 2016. *Sci. 2020*. Doi: 10.3389/fpls.2020.01201/full.

ANEXOS

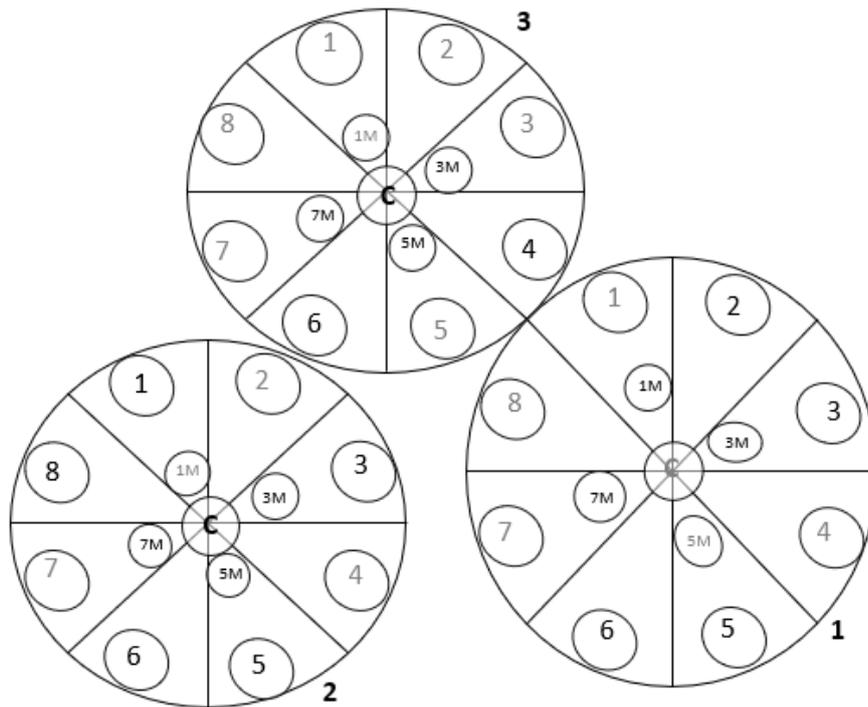


Fig.1- Desenho esquemático da localização dos pontos no pivô 1, pivô 2 e pivô 3. Pontos estabelecidos em cada oitante: 1,2,3,4,5,6,7 e 8; em cada quadrante, pontos 1M,3M,5M e 7M estabelecidos no meio entre a borda um ponto no centro (C).

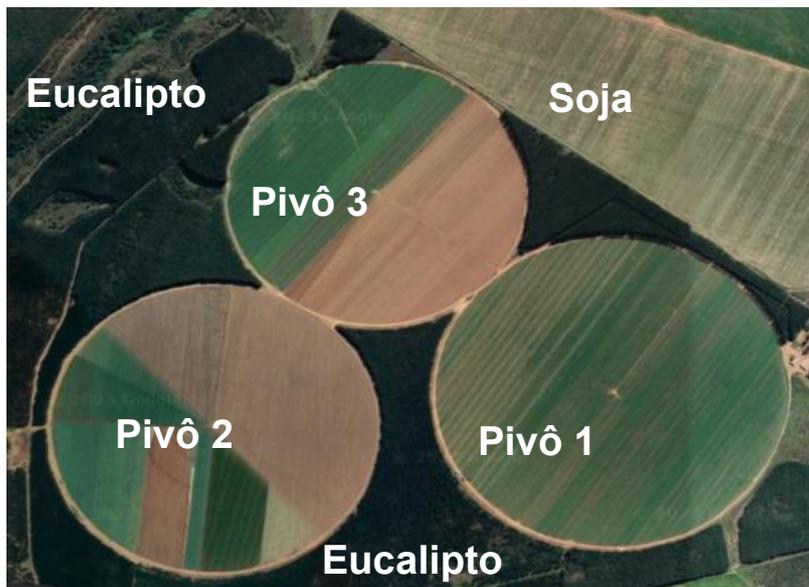


Fig. 2- Localização dos pivôs 1, 2 e 3. Plantio de soja e Eucalipto.

Tabela 1: Detecção de begomovírus por meio RCA e PCR em plantas daninhas coletadas em Luziânia, Goiás.

Nome comum	Espécie	NPI/NPC-RCA¹	NPI/NPC-PCR²
Açafrão	<i>Curcuma longa</i>	0/5	NT
Amendoim-bravo	<i>Euphorbia heterophylla</i>	33/55	NT
Caruru	<i>Amaranthus</i> spp.	0/29	NT
Cipó-eredadeira	<i>Polygonum convulus</i>	1/ 4	NT
Beldroega	<i>Portulaca oleracea</i>	0/5	NT
Joá-de-capote	<i>Nicandra physalodes</i>	3/15	NT
Maria pretinha	<i>Solanum americanum</i>	6/14	NT
Mentrasto	<i>Ageratum conyzoides</i>	3/0	NT
Soja	<i>Glycine max</i>	0/32	1/32
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	0/31	8/31
Trapoeraba	<i>Commelina benghalensis</i>	0/8	NT

¹Número de plantas com detecção positiva de DNA circular por RCA-RFLP

²Número de plantas com detecção positiva de ToSRV por PCR

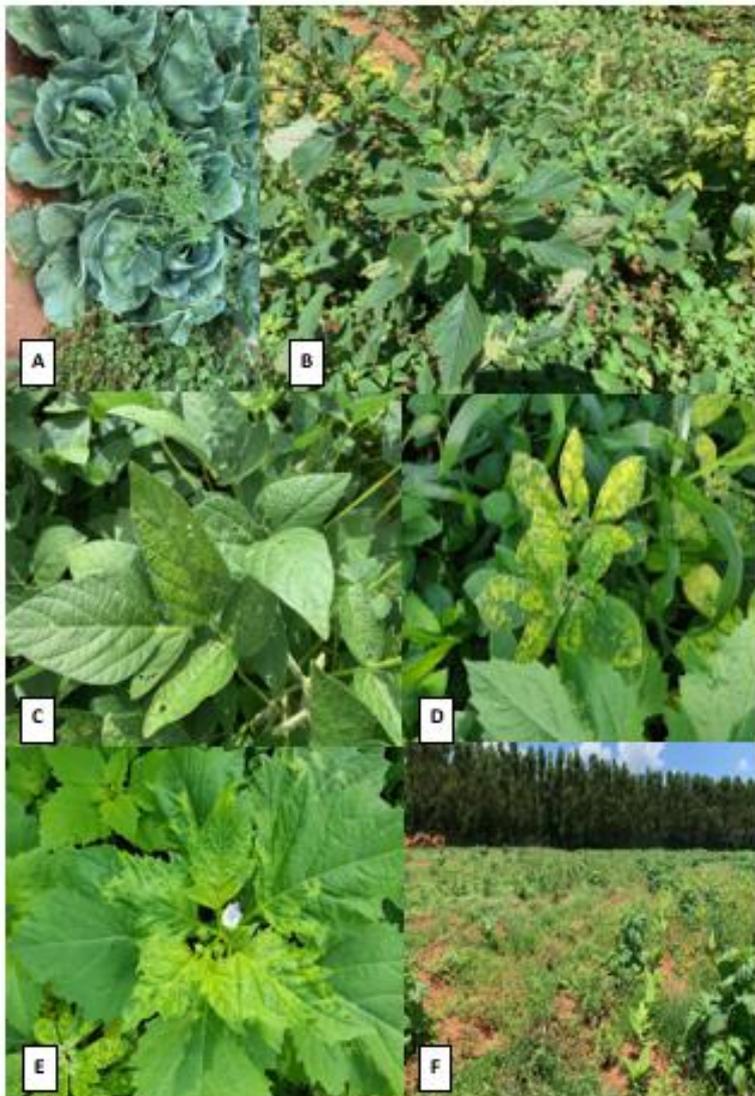


Fig.3 - Plantas observadas nas áreas de monitoramento: **A.** Tomateiros espontâneos sem sintomas em cultivo de repolho; **B.** Caruru sem sintomas. **C.** Soja sem sintomas. **D.** Amendoim bravo com mosaico intenso. **E.** Joá-de-capote com sintomas de mosaico. **F.** Área de plantação de açafão com plantas daninhas.

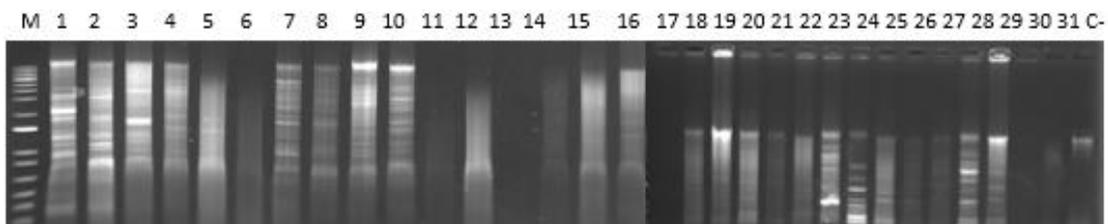


Fig4-Gel de eletroforese do produto de digestão da RCA-RLP amplificado de 31 amostras de tomateiros coletados no meio do repolho. Amplificação positiva de potenciais begomovírus foi observada nas amostras: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 16, 18, 19, 20, 23, 25, 28 e 29.

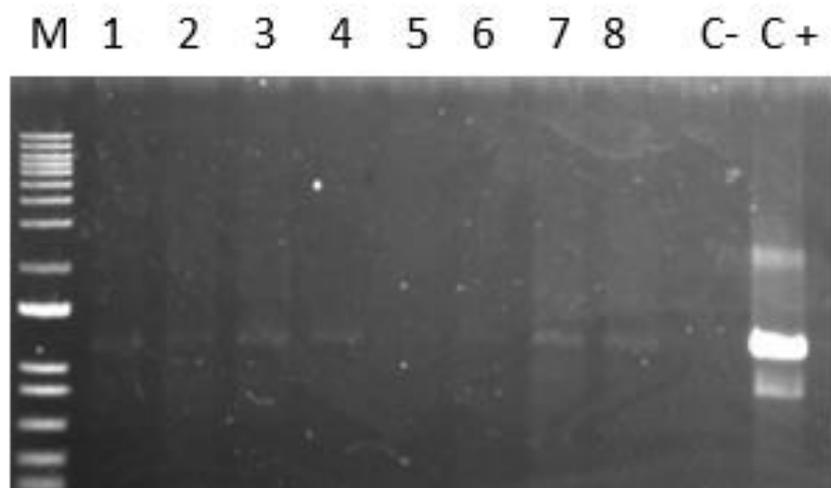


Fig 5- Gel de eletroforese do produto viral amplificado de 8 amostras de DNA total extraído de tomateiros usando oligonucleotídeos específicos para ToSRV. Controle negativo, água na reação de PCR, controle positivo de amostras de DNA total de planta infectada por ToSRV.

Tabela 2. Índice de infecção por sintomatologia nos PCs 1, 2 e 3

Localização	Pivô 1	Pivô 2	Pivô 3
Ponto 1	80%	95%	100%
Ponto 1M	25%	84%	100%
Ponto 2	33%	75%	100%
Ponto 3	5%	6%	92%
Ponto 3M	22%	100%	100%
Ponto 4	61%	2%	100%
Ponto 5	77%	2%	100%
Ponto 5M	25%	26%	100%
Ponto 6	11%	1%	100%
Ponto 7	7%	2%	100%
Ponto 7M	5%	3%	100%
Ponto 8	17%	15%	100%
Centro	76%	47%	100%



Fig.6- Tomateiros com sintomas de infecção por begomovírus em campo, como clorose e enrolamento foliar.

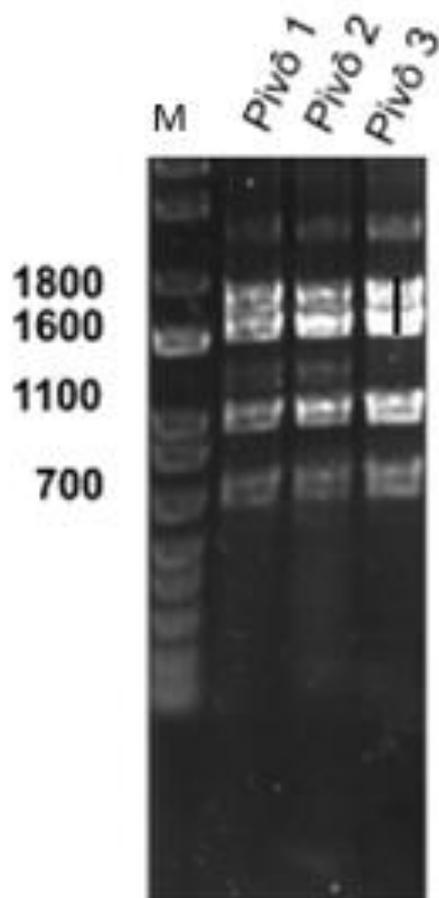


Fig.7- Gel de agarose com perfis de restrição de DNA amplificado por RCA e digerido por *MspI* para amostras representativas dos pivôs 1, 2 e 3. M: Marcador 1 kb DNA ladder (Invitrogen).

