

# MELHORAMENTO GENÉTICO DO TOMATEIRO PARA RESISTÊNCIA A DOENÇAS DE ETIOLOGIA VIRAL: AVANÇOS E PERSPECTIVAS

*Rita de Cássia Pereira-Carvalho<sup>1</sup>, Leidy Lorena Mendoza Tobar<sup>1</sup>,  
Erico de Campos Dianese<sup>2</sup>, Maria Esther de Noronha Fonseca<sup>3</sup>,  
Leonardo Silva Boiteux<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Universidade de Brasília, CP 70910 900, Brasília (DF).

<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, Goiânia (GO).

<sup>3</sup>Embrapa Hortaliças (CNPQ), CP 0218,70359-970 Brasília (DF).

E-mail para contato: [repcarvalho@unb.br](mailto:repcarvalho@unb.br)

## 1. IMPORTÂNCIA DO CULTIVO DO TOMATEIRO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das principais hortaliças em termos de importância econômica e alimentar, sendo cultivado em todas as regiões tropicais e subtropicais do Mundo. O fruto do tomateiro e seus produtos representam uma das mais importantes fontes de vitamina C, pró-vitamina A (beta-caroteno) e antioxidantes (licopeno e outros carotenoides) na dieta humana. O melhor desenvolvimento do tomateiro é observado em épocas ou em locais de temperaturas amenas, pouca precipitação pluvial e baixa umidade relativa do ar. No entanto, a planta suporta uma amplitude térmica de 10°C a 34°C, sendo que a média ideal para cultivo fica em torno de 21°C (Boiteux et al., 2012b).

Nas últimas décadas, a produção em escala global de tomate vem se expandindo de maneira significativa. As informações da FAO indicam uma área colhida de 5,2 milhões de hectares (ha) em 2008, correspondendo a um crescimento de 26% em comparação a 2002. Este incremento tem sido atribuído à industrialização em larga escala e a crescente urbanização, aumentando a demanda de alimentos. Por outro lado, os dados da FAO/STAT refletem uma queda na produtividade média mundial da cultura de 28 para 24 ton/ha (FAO, 2008), explicada, em parte, por recentes epidemias de etiologia viral e seus insetos vetores (Hanssen et al., 2010, Navas-Castillo et al., 2011). Os dados da produção mundial de tomate de 2010 apontam a China (28,7%) como o maior produtor mundial seguido dos EUA (8,8%), Índia (8,2%), Turquia (6,9%), Egito (5,8%), Itália (4,1%) e Irã (3,6%). O Brasil ocupa o nono lugar com uma produção de 3,69 milhões de toneladas, equivalente a 2,53% do total mundial (AGRIANUAL, 2013). Em 2011, os principais países exportadores foram Mé-

xico, Holanda, Espanha, Turquia, Jordânia, Marrocos, França, Estados Unidos, Bélgica e Canadá. Os principais países importadores foram os Estados Unidos, Rússia, Alemanha, França, Reino Unido, Holanda, Canadá, Espanha, Emirados Árabes Unidos e Itália (AGRIANUAL, 2013). A área total ocupada com o cultivo do tomateiro no Brasil (segmento do mercado *innatura* + segmento para processamento industrial) é de aproximadamente 67.000 ha/ano (IBGE, 2010). A distribuição geográfica da produção por região, para os dois segmentos, apresenta o seguinte cenário: Sudeste 22.200 ha; Centro-Oeste 19.100 ha; Nordeste 14.200 ha; Sul 9.700 ha e Norte 580 ha. Os principais Estados produtores (englobando os dois segmentos) são Goiás (18.200 ha); São Paulo (10.200 ha), Minas Gerais (7.300 ha); Bahia (6.500 ha) e Paraná (4.600 ha).

## 1.1. CULTIVO DO TOMATE PARA CONSUMO *IN NATURA* NO BRASIL

No Brasil, a cultura do tomateiro para consumo *in natura* tem sido uma importante fonte de renda e ocupação de mão de obra rural. O cultivo é, normalmente, conduzido em sistema estaqueado, gerando uma intensa demanda por mão de obra desde a fase de pré-plantio, tratamentos culturais, colheita, transporte, abastecimento e comercialização (Melo et al., 2008). Foram colhidas 2,5 milhões de toneladas na safra de 2008 com um rendimento de 54 t/ha (IBGE, 2010). O incremento em produtividade no período 1980-2008 foi em torno de 80%, atribuído, em boa parte, à adoção de híbridos resistentes e de novas tecnologias de produção e manejo da cultura. Lavouras de grande porte e administradas com estrutura empresarial e com forte adoção de tecnologia também resultaram em um impacto positivo na produtividade do tomate para o segmento de mesa (Melo et al., 2008).

O cultivo em escala comercial do tomate de mesa no Brasil começou na década de 1930, predominantemente por imigrantes japoneses e europeus, que cultivavam variedades estrangeiras importadas. No início da década de 1940, surgiu no Estado do Rio de Janeiro o primeiro grupo varietal de tomate de mesa genuinamente brasileiro denominado “Santa Cruz”. Esse novo tipo de tomate provocou uma verdadeira revolução no panorama varietal no país devido a sua adaptação às condições de cultivo e pela qualidade dos frutos. A partir desse período, as seleções dentro do grupo ‘Santa Cruz’ assumiram a liderança do segmento de tomate para mesa em todo o país, permanecendo nessa posição por mais de 50 anos (Nagai, 1993). Atualmente o mercado de variedades de tomate se diversificou e segmentou de maneira muito intensa. Os grupos varietais predominantes no mercado de tomate de mesa no Brasil são os do grupo ‘Salada’ com 52,2%; ‘Italiano/Saladete’ com 25,1%; ‘Santa Cruz’ com 21,9% e ‘Cereja/Grape’ com 0,8% do mercado. O valor do mercado de sementes de

tomate para mesa é estimado em US\$ 12 milhões, representando 27% do total das sementes de hortaliças comercializadas no Brasil.

## 1.2. CULTIVO DO TOMATEIRO PARA PROCESSAMENTO INDUSTRIAL NO BRASIL

O Brasil dispõe de uma cadeia agroindustrial de tomate muito bem estruturada e competitiva (Vilela et al., 2012). Embora passível de mecanização em todas as suas fases, a cultura do tomateiro industrial ainda demanda um expressivo contingente de mão de obra. A produção brasileira de tomate industrial atingiu um recorde em 2010 com um total produzido de quase dois milhões de toneladas e rendimento de 85 t/ha. O destaque nacional foi o Estado de Goiás (rendimento de 89,5 t/ha). De fato, a partir de meados da década de 1990 a produtividade de tomate para processamento vem apresentando um vigoroso incremento no Brasil. Os principais fatores responsáveis por esse crescimento foram: intensificação da produção na região do ‘Cerrado’ do Planalto Central, com menor pressão de pragas e doenças e condições climáticas mais favoráveis (dias quentes e noites com temperaturas amenas) e ausência de chuvas nas etapas cruciais de florescimento, frutificação e colheita; presença na região do ‘Cerrado’ de uma agricultura de cunho empresarial; emprego intensivo de inovações tecnológicas no manejo da cultura; a expansão do uso de híbridos com elevado potencial produtivo e resistência múltipla a doenças e estratégia contratual das empresas processadoras que financiam para os produtores os insumos necessários à produção na região (Vilela et al., 2012).

No caso específico do melhoramento genético do tomateiro para processamento algumas características, além da resistência a vírus, apresentam maior relevância (Boiteux et al., 2012a): (1) ciclo de cultivo (com a preferência das precoces sobre as semi-precoces e tardias); (2) teores mais elevados de sólidos solúveis (brix); (3) viscosidade aparente (ou consistência), que é importante para produtos do tipo “ketchup”; (4) firmeza dos frutos (para permitir um adequado transporte e conservação da estrutura dos frutos até a fábrica); (5) concentração de maturação (reduzindo o número de colheitas ou, se possível, uma única colheita mecânica ou manual); (6) retenção ou não de pedúnculo (característica “jointless”), que aumenta a eficiência da colheita manual e mecânica; (7) formato e tamanho do fruto, que dependendo da indústria ou propriedade rural, pode permitir e/ou evitar desvio para do produto para o mercado de consumo *in natura*; (8) coloração vermelha intensa, ou seja, teores mais elevados do pigmento carotenóide licopeno; (9) acidez total (ácido cítrico > 350mg/100g peso fresco) e (10) acidez titulável (pH < 4,3). Os níveis de acidez devem ser mantidos nesses valores para não impactar a qualidade da polpa processada e evitar o aparecimento de microorganismos indesejáveis (Boiteux et al., 2012a).

### 1.3. DIVERSIDADE GENÉTICA DO TOMATEIRO E ESPÉCIES SILVESTRES AFINS

O tomateiro e suas espécies selvagens (= silvestres) são plantas dicotiledôneas, da ordem Tubiflorae, do gênero *Solanum*L. [sect.*Lycopersicon* (Mill.) Wettst.] pertencente à família *Solanaceae*. Essa é uma família botânica extremamente diversificada que engloba, atualmente, cerca de 90 gêneros e 1.700 espécies (Weese & Bohs, 2007). O tomateiro e espécies silvestres afins são originários da parte ocidental da América do Sul, com dispersão geográfica abrangendo Peru, Chile e Equador, incluindo as Ilhas Galápagos. Os tomates ocupam uma ampla gama de condições ambientais, variando desde a costa árida do Pacífico, passando por encostas úmidas e regiões montanhosas na cordilheira dos Andes com ocorrência em altitudes superiores aos 3.300 metros em relação ao nível do mar. Carl Von Linnaeus (1753) classificou o tomateiro, inicialmente dentro do gênero *Solanum*. No entanto, já em 1754, o botânico Milller sugeriu a mudança para dentro de um gênero distinto *Lycopersicon*, ficando a nomenclatura da espécie *L. esculentum* L. (Mill.). O gênero foi inicialmente subdividido em dois subgêneros: *Eulycopersicon* de frutos maduros vermelhos e *Eriopersicon* de frutos maduros não vermelhos. No entanto, mais recentemente, após análises morfológicas e moleculares, foi definido o retorno à classificação original proposta por Linnaeus com o gênero *Lycopersicon* se convertendo em uma seção do gênero *Solanum*. As espécies componentes gênero *Lycopersicon* foram desmembradas e/ou reclassificadas. As espécies e suas sinônimas atualizadas (Peralta et al., 2006) dentro do gênero *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) estão apresentadas abaixo:

#### 1.3.1. Espécies de *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) do ‘complexo *esculentum*’:

*S. lycopersicum* L. Miller = *L. esculentum* L. Mill.;  
*S. cheesmaniae* L. Riley = *L. cheesmaniae* L. Riley;  
*S. galapagense* S. (Darwin) Peralta = *L. cheesmaniae* L. Riley var. *minor*;  
*S. pimpinellifolium* L. Miller = *L. pimpinellifolium* L. Miller;  
*S. chmielewskii* Rick = *L. chmielewskii* Rick;  
*S. neorickii* Rick = *L. parviflorum* Rick;  
*S. habrochaites* S. Knapp = *L. hirsutum* Dunal;  
*S. pennellii* Correl = *L. pennellii* (Corr.) D’Arcy;

#### 1.3.2. Espécies de *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) do ‘complexo *peruvianum*’:

*S. chilense* Dunal = *L. chilense* Dunal  
*S. peruvianum* L. Miller que corresponde aos acessos típicos de *L. peruvianum*.  
*S. arcanum* Peralta (nova espécie desmembrada de *S. peruvianum*);  
*S. huaylasense* Peralta (nova espécie desmembrada de *S. peruvianum*);  
*S. corneliomuelleri* Macbr (= *L. peruvianum* var. *glandulosum* Mull.).

#### **1.4. USO DA BIODIVERSIDADE DE *SOLANUM* (SECT. *LYCOPERSICON*) NO MELHORAMENTO GENÉTICO PARA RESISTÊNCIA DOENÇAS.**

Diferentes espécies do gênero *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) vêm sendo utilizadas em programas de melhoramento de tomateiro, visando a introgressão de genes que conferem resistência a pragas e doenças, melhoria da qualidade nutricional e nutracêutica dos frutos e tolerância a estresses abióticos. Todas as espécies são diplóides ( $2n=2x=24$ ), com número e estrutura cromossômica similares, permitindo o uso desses acessos como fontes para introgressão de novos genes no melhoramento do tomateiro cultivado (Barone et al., 2009). Nos cruzamentos interespecíficos o tomateiro cultivado (*S. lycopersicum*) é quase sempre utilizado como genitor feminino. Dentro do “complexo *esculentum*” os acessos das espécies *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* cruzam-se com facilidade, independentemente da espécie utilizada como genitor feminino. Incompatibilidade unilateral é observada nos cruzamentos envolvendo acessos de *S. cheesmaniae*; *S. galapagense*; *S. chmielewskii*; *S. neorickii*; *S. habrochaites* e *S. pennellii*. Por sua vez, as espécies do “complexo *peruvianum*” apresentam barreiras nos cruzamentos com as espécies do “grupo *esculentum*”, resultando em incompatibilidade (Mutschler & Liedl, 1994). Nos cruzamentos interespecíficos ocorre, primordialmente, incompatibilidade de endosperma, resultando no abortamento do embrião. Estas barreiras podem ser superadas via estratégias de “resgate de embrião” *in vitro* (Bhatia et al., 2004).

#### **1.5. CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO DO TOMATEIRO**

A manifestação fenotípica de qualquer gene do tomateiro pode ser afetada pela ação de outros genes e pela interação com o ambiente. Muitos genes que governam características de herança simples têm sido utilizados no melhoramento e uma grande maioria deles foi incorporada, explorando de maneira muito eficiente a biodiversidade disponível. Existem ainda inúmeras características poligênicas ou quantitativas, grandemente influenciadas pelo ambiente e de difícil mensuração. Fazem parte desta lista: produtividade, rendimento industrial e teor de sólidos solúveis dos frutos (brix) (Grandillo et al., 1999). A resistência contra determinadas doenças, inclusive de etiologia viral, também apresenta natureza poligênica. Por exemplo, a resistência a insetos vetores e ácaros, mediada por teores de acil-açúcares e maior densidade de tricomas foliares do tipo IV em *S. pennellii* também é uma característica poligênica (Silva et al., 2014).

## 1.6. HETEROSE E UTILIZAÇÃO DE HÍBRIDOS DE TOMATEIRO

Embora existam sistemas de macho-esterilidade caracterizados em tomateiro, a maior parte da atual produção de sementes híbridas tem sido conduzida via emasculação e polinização manuais (Cheema & Dhaliwal, 2005). A literatura registra que o tomateiro apresenta uma grande expressão de heterose (vigor de híbrido) para algumas características tais como: índice de colheita (produção de frutos/biomassa total), número de sementes por planta, número de frutos, precocidade e produção total (Semel et al., 2006). Heterose não tem sido observada para brix, peso de fruto, altura de planta e morfologia de semente (Semel et al., 2006). A grande maioria das lavouras para consumo *innatura* e para processamento no Brasil tem sido cultivada com híbridos  $F_1$  que têm sido preferidos devido às suas elevadas produtividades e também devido a um conjunto de qualidades nutricionais e físicas (frutos firmes, secos, de boa coloração e elevada viscosidade). Algumas características se expressam de maneira comercialmente vantajosa somente quando em condição heterozigota. Um exemplo é a presença de frutos do tipo longa-vida pós-colheita, condicionada pelo gene recessivo *rin* (Della Vecchia & Koch, 2000) e a característica de inflorescência composta (Lippman & Zamir, 2007). Além disso, a utilização de híbridos condiciona uma extrema uniformidade das lavouras. O controle principais doenças que atacam o tomateiro tem sido feito via híbridos resistentes. Existe a disponibilidade de um grande número de fatores de resistência monogênicos e dominantes reportados controlando essas doenças em diferentes acessos de espécies silvestres de *Solanum* (sect. *Lycopersicon*). Esse tipo de controle genético tem permitido a acumulação (“piramidização”) de um maior número de fatores de resistência monogênicos dominantes em um único híbrido.

## 1.7. A CULTURA DO TOMATEIRO: PRINCIPAIS VIROSES E PATÓGENOS VIRAIS

Mais de duzentas doenças e distúrbios fisiológicos foram relatados afetando o tomateiro em todo mundo e, entre as quais, as doenças induzidas por vírus merecem destaque. Dentre as principais doenças viróticas que atacam o tomateiro estão àquelas causadas por espécies classificadas nos gêneros *Tospovirus*, *Potyvirus*, *Begomovirus*, *Crinivirus*, *Tobamovirus* e *Cucumovirus* (Lopes & Ávila, 2005). Essas espécies, em infecções simples ou mistas, podem conduzir a lavoura a severas perdas e onerar os custos de produção. A seguir apresentaremos as principais características dos gêneros virais, bem como descrição de sintomas e os avanços obtidos no melhoramento genético de tomateiro para controle desses patógenos.

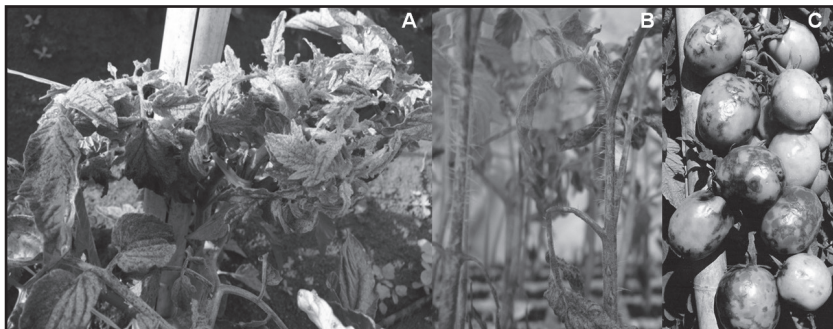
## 2.1.TOSPOVIRUS

### 2.1.1.HISTÓRICO

Espécies de *Tospovirus* causam a doença conhecida como “spotted wilt”, “peste negra” (Williams *et al.*, 2001) e “vira-cabeça” (Silberschmidt, 1937) do tomateiro e outras solanáceas. Esta doença foi descrita pela primeira vez na Austrália em 1915 (Brittlebank, 1919). Posteriormente, (Samuel *et al.*, 1930) conseguiram demonstrar que a doença era de etiologia viral e denominaram o agente causal como *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). No Brasil, o TSWV foi descrito pela primeira vez por Silberschmidt (1937), causando “vira-cabeça” em cultivo de fumo (*Nicotiana tabacum*). As tospoviroses são responsáveis por grandes perdas econômicas em cultivos do tomateiro em todo o mundo (Gordillo *et al.*, 2008), superando a marca de um bilhão de dólares (Goldbach & Peters, 1994). Por essa razão, o TSWV e outros tospovírus têm figurado, em termos globais, entre os dez mais importantes vírus para a agricultura (Scholthof *et al.*, 2011).

### 2.1.2.SINTOMATOLOGIA

Os sintomas causados pela infecção por espécies de *Tospovirus* são diversos. Em hospedeiros não sistêmicos os sintomas se restringem a lesões locais, clorose e necrose. Já em hospedeiros sistêmicos os sintomas mais característicos incluem paralisação do crescimento, arroxamento, bronzeamento e manchas em formato de anéis concêntricos nas folhas, deformação, clorose, mosqueado e necrose foliar intensa. Frutos imaturos frequentemente desenvolvem anéis necróticos irregulares. Nos frutos maduros, os anéis concêntricos se tornam ainda mais evidentes (**Figura 1**). Infecções precoces em variedades suscetíveis podem levar a um declínio completo e morte da planta. Durante os períodos mais quentes e secos do ano, perdas significativas são observadas devido à maior dispersão e multiplicação dos vetores (Lopes & Ávila, 2005). Em locais de clima ameno, o dano causado pelas espécies de *Tospovirus* normalmente se restringe a casas de vegetação (Soler *et al.*, 2003).



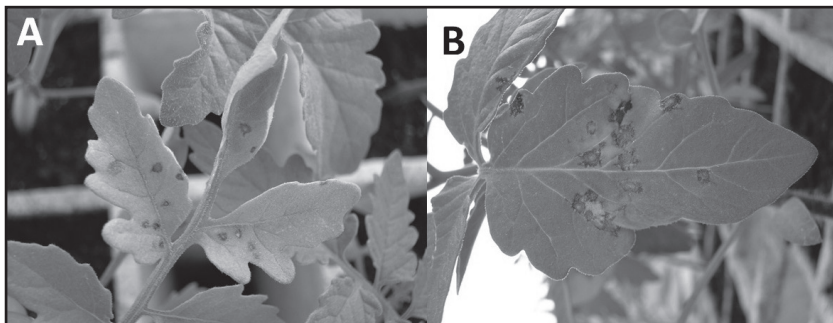
**Figura 1.** Sintomas de infecção por tospovírus em plantas de tomateiro. **A.** Planta infectada com sintomas de bronzeamento. **B.** Sintomas avançados de necrose em folhas, pecíolos e hastes em mudas. **C.** Sintomas de anéis necróticos em frutos maduros e verdes.

### 2.1.3. ESTRUTURA DA PARTÍCULA VIRAL E ESTRATÉGIA DE REPLICAÇÃO

As partículas das espécies virais do gênero *Tospovirus* são envolvidas por uma membrana lipídica, denominada envelope. Associadas a essa membrana estão as glicoproteínas Gc e Gn, responsáveis pela interação do vírus com seu vetor, determinando a transmissão e a especificidade (Ullman *et al.*, 2005, Wijkamp *et al.*, 1995). A parte interna da partícula é composta pelo genoma viral encapsulado pela proteína N e cerca de 10-20 cópias da RNA polimerase dependente de RNA (van Poelwuk *et al.*, 1993). O genoma é tripartido, formado por três RNAs de fita simples. O RNA de maior tamanho (RNA L) é senso negativo e sintetiza a polimerase dependente de RNA. O RNA M é ambisenso e sintetiza a NSm (proteína de movimento responsável pelo transporte célula-a-célula) e os precursores das glicoproteínas Gc e Gn. O RNA de menor tamanho (RNA S) é ambisenso e sintetiza a NSs (supressora do silenciamento gênico) e a proteína N que forma o nucleocapsídeo viral que também está envolvida na regulação da transcrição/replicação (De Avila, 1993, Takeda *et al.*, 2002, Bucher *et al.*, 2003, Snippe *et al.*, 2007). As extremidades dos três RNAs são complementares entre si (De Haan *et al.*, 1989).

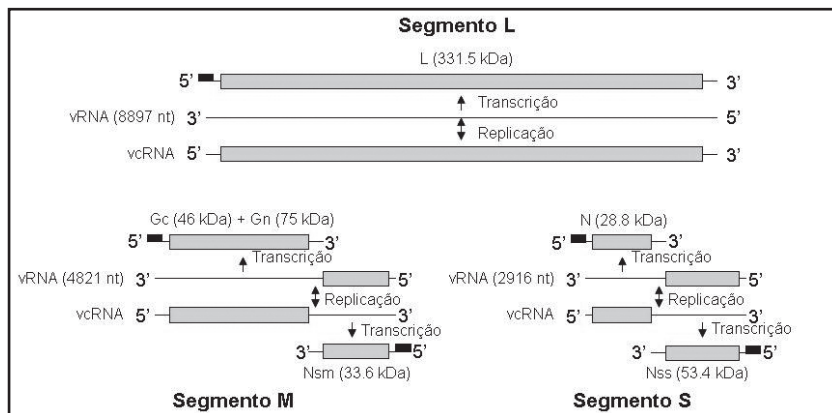
Roberts, M. J., & Fraenkel-Conrat, H. (1977). Molecular cloning and terminal sequence determination of the S and M RNAs of Tomato spotted wilt virus. *Journal of General Virology*, 40, 3469-3473.

volume><number>12</number><dates><year>1989</year></dates><is-  
bn>0022-1317</isbn></urls></record></Cite></EndNote>, formando  
uma estrutura pseudo-circular com maior estabilidade (Figura 2).



**Figura 2.** Representação esquemática de uma partícula de um tospovírus. A membrana lipídica contém as glicoproteínas (Gn e Gc). As três estruturas localizadas na parte interna correspondem às ribonucleoproteínas (RNPs), formadas por RNA viral encapsidado pela proteína N e a polimerase (L).

As proteínas codificadas pelo RNA M e RNAs são traduzidas a partir de RNAs subgenômicos. Isto significa que, antes da tradução, devem ocorrer a transcrição e o processamento de mRNAs. Para que esse processamento ocorra, o vírus recorre ao *cap-snatching*, que consiste na remoção de pequenas sequências dos mRNAs da hospedeira (*caps*), de aproximadamente 12 a 18 nucleotídeos, que correspondem ao sítio de ligação dos ribossomos. Estas sequências são em seguida incorporadas aos mRNAs virais, comprometendo grandemente a tradução dos RNAs da hospedeira (Kormelink *et al.*, 1992) (**Figura 3**). Após a entrada nas células, as partículas perdem o envelope lipídico, possivelmente pela ação de enzimas presentes nos lisossomos, desagregando-se assim o nucleocapsídeo. A polimerase viral então transcreve os RNAs genômicos, sintetizando-se os RNAs mensageiros. Após o processo de *cap-snatching*, os mRNAs são traduzidos, originando-se as proteínas estruturais e não-estruturais que são posteriormente envelopadas no retículo endoplasmático e complexo de golgi. Essas partículas podem ser adquiridas ou transmitidas pelos vetores, enquanto novos nucleocapsídeos se deslocam para células adjacentes através de estruturas tubulares nos plasmodesmas originários da ação da proteína Nsm (Storms *et al.*, 1995, Ribeiro *et al.*, 2008).



**Figura 3.** Estratégia de expressão do genoma de tospovírus. vRNA = RNA sentido viral; vcRNA = RNA sentido complementar; L = polimerase viral; Gc e Gn = glicoproteínas; N = proteína do nucleocapsídeo; Nsm = proteína de movimento; Nss = proteína não-estrutural. Os segmentos destacados na região 5' de cada transcrito representam a sequência *cap* adquirida durante o processo de *cap-snatching*.

## 2.1.4. TAXONOMIA

O gênero *Tospovirus* pertence à família *Bunyaviridae*, que também inclui outros quatro gêneros -*Orthobunyavirus*, *Hantavirus*, *Phlebovirus* e *Nairovirus* (Goldbach & Peters, 1996, Fauquet & Stanley, 2005, King *et al.*, 2012). A família *Bunyaviridae* abrange vírus com genoma de RNA tripartido, envelopados e que infectam plantas, pequenos mamíferos, primatas e pássaros. Os vírus desta família são transmitidos principalmente por insetos (tripes, mosquitos, moscas ou carrapatos). A classificação atual do gênero *Tospovirus* baseia-se principalmente na morfologia do vírion, na organização do genoma e nas características da transmissão por tripes. Já em relação às espécies, são consideradas as características biológicas, como círculo de hospedeiros e espécies do vetor, e características moleculares, considerando-se como espécies distintas aquelas que apresentarem identidade inferior a 90%, quando se compara a sequência de aminoácidos da proteína N (De Avila, 1993, Resende, 1995, Roselló *et al.*, 1996, Plyusnin *et al.*, 2012). O gênero *Tospovirus* foi inicialmente considerado como monotípico, sendo TSWV a única espécie descrita, entretanto, estudos de caracterização biológica e molecular de isolados de diversos continentes indicaram a existência de um grande número de espécies dentro deste gênero (De Avila *et al.*, 1992, Pozzer *et al.*, 1996, Bezerra *et al.*, 1999, Prins & Goldbach, 1998). As

espécies do gênero *Tospovirus* infectam mais de 1.000 espécies de plantas, monocotiledôneas e dicotiledôneas, pertencentes a mais de 82 famílias botânicas, e constituem fator limitante da produção do tomateiro, fumo, amendoim (*Arachis hypogaea*), pimenta e pimentão (*Capsicum* spp.) e várias espécies de plantas ornamentais (De Avila, 1993, Berguer et al., 2005). Atualmente, oito espécies do gênero *Tospovirus* são reconhecidas e aprovadas pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) e 15 representam possíveis membros, mas que ainda não foram aprovadas como espécies definitivas (Plyusnin et al., 2012). A lista de espécies aceitas e tentativas inclui os seguintes vírus: TSWV, *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV), *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), *Watermelon bud necrosis virus* (WBNV), *Watermelon silver mottle virus* (WS-MoV), *Groundnut bud necrosis virus* (GBNV), *Groundnut chlorotic fan-spot virus* (GCFSV), *Groundnut yellow spot virus* (GYSV), *Physalis severe mottle virus* (PhySMV), *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) e *Iris yellow spot virus* (IYSV), *Alstromeria necrotic streak virus* (ANSV), *Capsicum chlorosis virus* (CaCV), *Groundnut chlorotic fan-spot virus* (GCFSV), *Melon severe mosaic virus* (MSMV), *Melon yellow spot virus* (MYSV), *Polygonum ringspot virus* (PolRSV), *Tomato necrosis virus* (TNeV) e *Tomato necrotic ringspot virus* (TNRV) (Plyusnin et al., 2012). *Tomato fruit yellow ring virus* (TFYRV) (Winter et al., 2006); *Calla lily chlorotic spot virus* (CCSV) (Chen et al., 2005), *Tomato yellow ring virus* (TYRV) (Hassani-Mehraban et al., 2005) e *Tomato zonate spot virus* (TZSV) (Dong et al., 2008) estão entre as espécies tentativas.

TSWV, TCSV, GRSV e CSNV são as espécies de *Tospovirus* predominantemente descritas no tomateiro no Brasil (Resende et al., 1995, Dianese et al., 2010). Estes quatro vírus compõem um agrupamento de espécies que têm como provável centro de origem as regiões neotropicais (Fauquet et al., 2005). TSWV é cosmopolita (Prins & Goldbach, 1998, Whitfield et al., 2005), GRSV tem sido reportado infectando soja na África do Sul (Pietersen & Morris, 2002) e amendoim na Argentina (De Breuil et al., 2007), enquanto TCSV e CSNV são espécies circunscritas ao Novo Mundo (2011a).

### 2.1.5. TRANSMISSÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *TOSPOVIRUS*

Espécies de *Tospovirus* são transmitidas por insetos coletivamente chamados de tripses (Thysanoptera: Thripidae). A relação de transmissão é caracterizada como sendo do tipo circulativa-propagativa (Wijkamp et al., 1995). Tripses adultos não se tornam virulíferos mesmo depois de prolongados períodos de alimentação em plantas infectadas (Van De Wetering et al., 1996) Rob</author><author>Peters, Dick</author></authors></contributors><titles><ti-

Tomato spotted wilt tospovirus ingestion by first instar larvae of *Frankliniella occidentalis* is a prerequisite for transmission. *PHYTOPATHOLOGY-NEW YORK AND BALTIMORE THEN ST PAUL*. *PHYTOPATHOLOGY-NEW YORK AND BALTIMORE THEN ST PAUL*. 900-905. Volume 86. 1996. ISBN 0031-949X. Os tripses somente adquirem o vírus durante o primeiro e o segundo estágios larvais, quando se alimentam de folhas infectadas e permanecem virulíferos durante o restante do seu ciclo de vida (Wijkamp *et al.*, 1995). O ciclo de vida dos adultos alados varia de 30 a 45 dias, período pelo qual podem transmitir o vírus. Depois da aquisição pelo tripses, o vírus chega até as células epiteliais do intestino médio, onde se replica. A partir deste ponto, as partículas virais vão até as glândulas salivares (Nagata *et al.*, 1999). As glicoproteínas Gc e Gn foram identificadas como responsáveis pela interação do vírus com as células do intestino médio do inseto, bem como com a circulação do mesmo dentro do corpo do vetor (Wijkamp *et al.*, 1995). Após a transmissão do vírus para a célula de uma planta hospedeira, o vírus é liberado de sua membrana e o nucleocapsídeo adentra o citoplasma. Nesta fase, o RNA viral é transcrito ou replicado pela RNA polimerase dependente de RNA (Hull, 2002a).

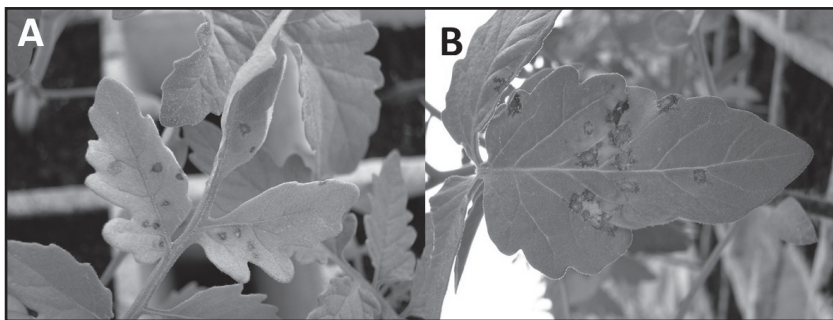
Das 5.000 espécies de tripses, nove foram identificadas como vetores virais (Mound, 1995), sendo que as espécies *Frankliniella occidentalis*, *F. schultzei*, *Thrips tabaci* e *T. palmi* já foram identificadas no Brasil (Nagata *et al.*, 1999), sendo *F. schultzei* o vetor mais eficiente nas condições brasileiras. *Frankliniella schultzei* foi identificado como o principal inseto transmissor de GRSV em condições naturais, explicando a prevalência desta espécie viral nos plantios de tomateiro do Brasil (Nagata *et al.*, 2004). O controle destes vetores é difícil, pois métodos físicos, químicos e biológicos não são muito eficientes o suficiente para evitar a dispersão da doença. Desta forma, a busca por resistência genética se tornou a principal ferramenta para controle das tospovirose, assim como para a grande maioria dos vírus que afetam plantios pelo mundo (Roselló *et al.*, 1996).

### **2.1.6. FONTES DE RESISTÊNCIA A ESPÉCIES DE TOSPOVIRUS EM GERMOPLASMA DE *SOLANUM* (SECT. *LYCOPERSICON*)**

Devido à importância econômica dos tospovírus, a resistência genética tem sido o foco das pesquisas voltadas ao manejo das doenças causadas por esses patógenos. Várias fontes de resistência genética aos tospovírus têm sido identi-

ficadas em avaliações de germoplasma de *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) contra isolados de tospovírus (principalmente TSWV) oriundos de distintas regiões geográficas (Finlay, 1953, Holmes, 1948, Samuel et al., 1930, Nagai, 1975, Araújo et al., 1983, Paterson et al., 1989, Maluf et al., 1991, Nagata et al., 1993, Nagai, 1993, Stevens et al., 1994, Lourenção et al., 1997, Canady et al., 2001, Gordillo et al., 2008, Scott et al., 2005, Dianese et al., 2011, Boiteux et al., 1993).

Os primeiros estudos sobre a genética da resistência a TSWV em acessos de *S. pimpinellifolium* e *S. lycopersicum* indicaram a ação coordenada de cinco genes (Samuel et al., 1930), se (Holmes, 1948)(Holmes, 1948)(Holmes, 1948)(Holmes, 1948)(Holmes, 1948)ndodois genes dominantes (denominados *Sw-1<sup>a</sup>* e *Sw-1<sup>b</sup>*) e três genes recessivos (denominados *sw-2*, *sw-3* e *sw-4*)(Finlay, 1953). No entanto, a resistência a tospovírus conferida por esses genes foi rapidamente superada. Posteriormente, outro gene de resistência (denominado *Sw-5*)foi identificado em acessos derivados de cruzamentos com a espécie *S. peruvianum*.O gene *Sw-5*foi inicialmente introgridido na cultivar sul-africana ‘Stevens’(Van Zijl et al., 1985) e tem sido empregadonos principais programas de melhoramento genético do tomateiro(Scott, 2007). Além de monogênico e dominante, este gene se mostrou muito estável e com amplo espectro, conferindo resistência a diferentes isolados e/ou espécies de tospovírus que infectam o tomateiro (Stevens et al., 1992, Boiteux & Giordano, 1993, Roselló et al., 1998, Brommonschenkel et al., 2000). Cultivares contendo o gene *Sw-5* muitas vezes não apresentam sintomas de mosaico sistêmico, apesar do surgimento de lesões necróticas locais nas folhas inoculadas, característica típica de resistência regida por genes dominantes(Brommonschenkel et al., 2000, Hallwass et al., 2014, Peiró et al., 2014) (**Figura 4**).



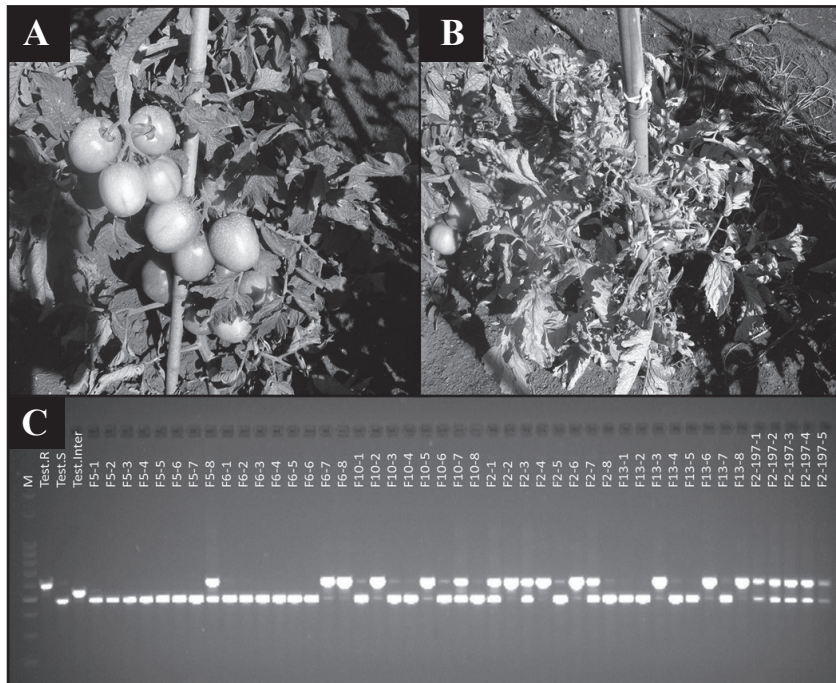
**Figura 4.** Reação de hipersensibilidade (HR) em acessos resistentes a *Tospovirus*. **A.** Lesões locais necróticas isoladas. **B.** Lesões locais coalescentes.

A natureza dominante do gene *Sw-5* permitiu o amplo uso deste locus no desenvolvimento de variedades híbridas. A expressão da resistência pode ser negativamente afetada em condições de alta pressão de inóculo ou em regiões onde ocorrem drásticas flutuações de temperaturas diurnas e noturnas (De Avila, 1993, Díez et al., 1995, Roselló et al., 1997, Roselló et al., 1998). A expressão fenotípica da resistência controlada pelo gene *Sw-5* não apresenta penetrância completa (Stevens *et al.*, 1992). Dessa forma, linhagens e/ou híbridos com este gene podem apresentar percentuais variáveis de plantas com sintomas ao longo dos diferentes estágios de desenvolvimento e em distintas condições ambientais. As consequências mais severas desta característica do gene *Sw-5* têm sido a presença de sintomas e severos danos aos frutos verdes e maduros (De Haan *et al.*, 1996) ou a eventual presença de uma intensa necrose sistêmica da planta (Lourenção *et al.*, 1997).

### 2.1.7. ISOLADOS DE TSWV CAPAZES DE QUEBRAR A RESISTÊNCIA DO GENE *SW-5*

A introdução do gene *Sw-5* em variedades comerciais levou a uma considerável redução nas perdas econômicas causadas por tospovírus, mesmo em regiões onde isolados e espécies virais tenham sido capazes de superar esta resistência (Cho *et al.*, 1995, Latham & Jones, 1998, McMichael *et al.*, 2002, Aramburu & Marti, 2003, Ciuffo *et al.*, 2005). De fato, a presença de isolados tospovírus capazes de quebrar a resistência é um fenômeno de certa forma esperado do ponto de vista da estrutura genômica desse grupo de vírus. O genoma dos tospovírus é sujeito a mutações devido à sua constituição ser baseada em três segmentos de RNA. Como este não possui um mecanismo de reparo (*proof-reading*) durante a replicação viral, os índices de mutação podem ser elevados (Roossinck, 1994). Desta forma, o surgimento de novos isolados capazes de suplantarem genes de resistência estabelecidos é relativamente comum dentro de uma dada espécie (Herrero *et al.*, 2000). Aramburu & Marti (2003) reportaram a ocorrência de um novo isolado de TSWV capaz de superar o gene *Sw-5* no nordeste da Espanha. O isolado espanhol (denominado GRAU) foi o primeiro capaz de quebrar a resistência conferida por *Sw-5* e de se estabelecer nas áreas de cultivo. Outro isolado (conhecido como JF1) já havia sido reportado infectando plantas com o gene *Sw-5* (Thompson & Van Zijl, 1995), mas este não apresentou capacidade de disseminação para outras áreas de cultivo além do campo de origem. Ciuffo *et al.* (2005) também relataram a ocorrência de isolados com características similares na Itália. Além disso, isolados recombinantes de tospovírus foram identificados. Webster *et al.* (2011a) detectaram e caracterizaram isolados coletados em plantios de tomate da Flórida, EUA. Estes isolados norte americanos (denominados L<sub>G</sub>M<sub>T</sub>S<sub>G</sub>) eram recombinantes e apresentavam os segmentos S e L de GRSV e M de TCSV.

Uma importante ferramenta para a manipulação de resistência conferida pelo *Sw-5* é a sua detecção através do uso de marcadores moleculares funcionais. Dianese *et al.* (2010) desenvolveram um marcador SCAR co-dominante correspondente a uma região dentro do locus *Sw-5*. Esse marcador permitiu identificar tomateiros resistentes e suscetíveis a tospovírus de maneira inequívoca (**Figura 5**).



**Figura 5.** Reação em ensaio de campo a infecção por *Groundnut ringspot virus* (GRSV). **A.** Linhagem quase-isogênica ‘Santa Clara Resistente’ (sem sintomas). **B.** Linhagem derivada de retrocruzamento ‘Santa Clara Suscetível’ (apresentando necrose apical e nanismo devido à infecção por GRSV). **C.** Gel de agarose ilustrando os padrões de amplicons obtidos em ensaios de PCR utilizando o par de primers ‘*Sw-5-2*’, desenvolvido por Dianese *et al.* (2010) a partir de informação genômica do locus *Sw-5*. A testemunha resistente (Test. R) apresenta um amplicón. As variedades suscetíveis apresentam dois padrões de amplicóns distintos. As demais linhas de corrida do gel mostram uma população segregante derivada de um cruzamento entre linhagens com o padrão testemunha resistente com linhagens do padrão testemunha suscetível.

O uso destes marcadores serve como um facilitador ao trabalho do melhorista, uma vez que não é necessário o emprego de técnicas biológicas de inoculação que são por si só demoradas e que demandam espaço e recursos, como casas de vegetação, algumas vezes não disponíveis em centros de análise.

Mais recentemente, dois novos loci de resistência foram caracterizados. O gene *Sw-6*, derivado da linhagem 'UPV 32' (Roselló *et al.*, 1998, Roselló *et al.*, 2001) se mostrou isolado-específico, não apresentando, por consequência, característica interessante para sua utilização em programas de melhoramento. O gene *Sw-7* (caracterizado no acesso *S. chilense* 'LA 1938') apresenta características de dominância, além de apresentar resistência a isolados previamente reportados superando a resistência conferida por *Sw-5* (Canady *et al.*, 2001, Scott *et al.*, 2005, Stevens *et al.*, 2006, Price *et al.*, 2007, Saidi & Warade, 2008). Um marcador AFLP ligado ao gene *Sw-7* foi detectado, sendo flanqueado por dois marcadores de referência T1263 (45.0 cM) e SSR20 (58.2 cM), localizados no cromossomo 12 (Price *et al.*, 2007).

### **2.1.8. RESISTÊNCIA MEDIADA PELO GENE *SW-5* CONTRA ESPÉCIES DE *TOSPOVIRUS* – ESTUDO DA INTERAÇÃO**

Em relação à interação vírus-plantas, genes virais que codificam a replicase, proteína de movimento e a proteína do capsídeo têm sido os principais alvos de detecção pelo sistema de defesa, funcionando, desta forma, como genes *Avr* (avirulência) para determinados genes de resistência em distintas plantas hospedeiras (Weber *et al.*, 1993, Whitham *et al.*, 1994, Bendahmane *et al.*, 1995, Gilardi *et al.*, 1998, Brommonschenkel *et al.*, 2000, Hoffmann *et al.*, 2001, Spassova *et al.*, 2001, Lovato *et al.*, 2008). Mutações nesses genes (desde que não afetam significativamente os mecanismos de patogenicidade e/ou a *fitness* viral) podem contribuir para superar o mecanismo de reconhecimento desses produtos pelo sistema de defesa da planta hospedeira. A superação da resistência por esse mecanismo de reconhecimento tem sido comprovada em diversos patossistemas e a caracterização e o mapeamento de novos genes *R*, principalmente para espécies cultivadas de Solanáceas, tem sido realizado de maneira extensiva (Grube *et al.*, 2000, Gebhardt & Valkonen, 2001).

As fontes de resistência mais amplamente utilizadas em plantios comerciais em um contexto mundial são dominantes e monogênicas (Hammond-Kosack & Parker, 2003). A expressão fenotípica é caracterizada pela ocorrência de reação de hipersensibilidade (HR) no sítio de entrada do patógeno, macroscopicamente observada como o surgimento de lesões locais necróticas seguidas (ou não) de abscisão foliar prematura. As células mortas no sítio de infecção podem restringir o movimento do patógeno ou podem servir como

reservatório de compostos antimicrobianos (ex. fitoalexinas) sintetizadas por células que circundam a lesão. Ocorre também a deposição de calose, lignina, glicoproteínas e o acúmulo de outras proteínas relacionadas com a patogênese, como 1,3- $\beta$ -glucanases e quitinases, resultando na limitação da movimentação a curta distância e a longa distância por parte do vírus (Collinge & Slusarenko, 1987, Keppler & Baker, 1989, Bol et al., 1990, Bostock & Stermer, 1989, Heath, 2000). De acordo com (Xie & Chen, 2000), as respostas de hipersensibilidade ativadas por uma reação incompatível entre patógeno e hospedeiro têm características comuns aos processos apoptóticos observados em células animais. Algumas reações como a fosforilação protéica e geração de ROS (*reactive oxygen species*), que ocorrem em células animais em processos de apoptose foram verificadas em reações de hipersensibilidade em plantas (Apel & Hirt, 2004). As ROS possuem atividade antimicrobiana e são capazes de reduzir a viabilidade do patógeno invasor (Greenberg & Yao, 2004).

Na última década, vários genes de resistência e seus correspondentes de avirulência foram clonados, por exemplo, os genes *RTM1/RTM2* e *HRT* em *Arabidopsis*, que conferem resistência a *Tobacco mosaic virus* (TMV) e *Turnip crinckle virus* (TCV), respectivamente (Cooley et al., 2000). No tomateiro, três genes de resistência a vírus foram clonados (*Sw-5*, *Tm-2<sup>e</sup> pot-1*), que conferem resistência a *Tomato mosaic virus* (ToMV), TSWV, e *Potato Virus Y*, respectivamente (Brommonschenkel et al., 2000, Spassova et al., 2001, Weber et al., 1993, Lanfermeijer et al., 2003)

Dentre as famílias de genes de resistência que causam reações de hipersensibilidade, a mais numerosa é a denominada NBS-LRR. Os genes de resistência classificados dentro dessa família possuem características comuns, de acordo com os domínios das proteínas sintetizadas (Van Betem et al., 2005). O domínio NBS (*nucleotide binding site*) corresponde a um sítio de ligação de nucleotídeos e o domínio LRR (*leucine rich repeat*) está envolvido na regulação de atividade sinalizadora das proteínas de resistência, localizando-se na região C-terminal (Hwang & Williamson, 2003). Ainda ocorrem os domínios TIR (*Toll/interleukin-1 receptor*) ou CC (*coiled-coil*) na região N-terminal dos genes R (Dangl & Jones, 2001, Martin et al., 2003). O gene *Sw-5* é membro da família de genes CC-NBS-LRR e seu modo de ação segue as descrições referentes à definição dos genes pertencentes a essa classe de genes R (Boiteux & Giordano, 1993, Brommonschenkel et al., 2000, Spassova et al., 2001). O gene *Sw-5* foi mapeado no cromossomo 9 (Brommonschenkel et al., 2000) e, posteriormente, foi verificado que esse gene reside dentro de um complexo (*cluster*) formado por cinco cópias análogas de um mesmo gene ancestral, denominadas *Sw-5aa Sw-5e* (Spassova et al., 2001). Análises mais detalhadas utilizando cada uma das cópias desses análogos em plantas transgênicas indicaram que a cópia *Sw-5b* é essencial para a expressão do fenótipo de resistência (Spassova et al., 2001).

Pesquisas que visam compreender a interação entre genes de resistência a TSWV e seu componente de avirulência foram realizados com os genes *Sw-5* e com o gene *Tsw* (originário de *Capsicum chinense*) que também apresenta reação de hipersensibilidade a infecção por TSWV (Boiteux & De Avila, 1994, Boiteux et al., 1995, Hoffmann et al., 2001, Lovato et al., 2008, Margaria et al., 2007). No caso do gene *Tsw*, o gene de avirulência parece estar localizado no RNA S (Lovato et al., 2008), um componente genômico que contém os genes NSs (que sintetiza uma proteína não estrutural e que está envolvida com a supressão do silenciamento gênico) e N (que sintetiza a proteína do capsídeo).

A compreensão destes mecanismos pode contribuir para o entendimento dos processos de geração dos isolados capazes de superar a resistência baseada em *Sw-5* no campo, por exemplo. A capacidade de multiplicação no inseto vetor e a composição de seu genoma tripartido podem conferir aos vírus da família *Bunyaviridae* a geração de novos isolados, a partir de eventos de recombinação de segmentos inteiros de seu genoma (Hoffmann et al., 2001, Webster et al., 2011b, Lian et al., 2013). Considerando este potencial de adaptação, a possível manipulação da resistência para a criação de alternativas duráveis e específicas depende essencialmente do entendimento das interações patógeno/hospedeira. Para o gene *Sw-5*, (Hoffmann et al., 2001) verificaram, através do uso de isolados recombinantes, que o gene de avirulência desta interação está localizado no componente M, que contém o gene NSm, que sintetiza a proteína de movimento bem como o precursor das glicoproteínas Gc e Gn que recobrem o envelope lipídico e são responsáveis pela interação tospovírus/inseto vetor (Bandla et al., 1998, Hallwass et al., 2014). Mais recentemente, dois trabalhos independentes indicaram que a proteína NSm (responsável pelo transporte do vírus célula-a-célula) é ofator *Avr* de TSWV, sendo esse produto gênico reconhecido pelo locus *Sw-5* (Hallwass et al., 2014, Peiró et al., 2014).

### **2.1.9. EMPREGO DE VARIEDADES DE TOMATE RESISTENTES A TOSPOVÍRUS NO BRASIL**

Atualmente, na região Central e na região Sudeste do Brasil não se observa, majoritariamente, o emprego de híbridos e cultivares comerciais com o gene *Sw-5* em cultivos de tomate tanto para processamento industrial quanto para consumo *in natura*. No entanto, as recentes epidemias de ‘vira-cabeça’ nas safras de 2012 e 2013 podem alterar esse cenário. O segmento varietal ‘Santa Cruz’ apresenta um histórico de extrema suscetibilidade para tospovírus (Nagai, 1993). Para esse segmento, a Embrapa Hortaliças lançou em 2012 o híbrido ‘BRS Nagai’, contendo o gene de resistência *Sw-5*. Em algumas regiões do Nordeste e na região Sul do Brasil bem como na Argentina e no Uruguai, cultivares com o gene *Sw-5* são as líderes de mercado, devido à enorme pressão de doença nestas áreas.

## **2.2.POTYVIRUS (POTATO VIRUS Y E PEPPER YELLOW MOSAIC VIRUS)**

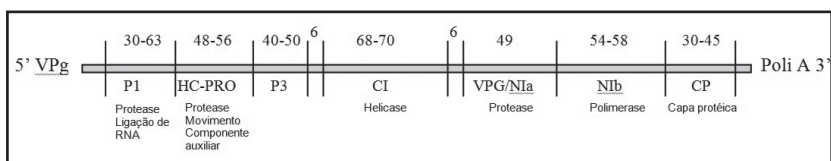
### **2.2.1.HISTÓRICO E TAXONOMIA**

Espécies classificadas no gênero *Potyvirus* são consideradas como as mais importantes para a agricultura global, sendo capazes de infectar mais de 2.000 espécies de plantas (Fauquet et al., 2005). O gênero *Potyvirus* encontra-se classificado na família *Potyviridae*, que também inclui outros sete gêneros – *Brambyvirus*, *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Poacevirus*, *Rymovirus* e *Tritimovirus* (Fauquet et al., 2005). A família *Potyviridae* abrange fitovírus com genoma formado por RNA fita simples, senso positivo que codifica uma poliproteína de aproximadamente 10 kb. Praticamente todos os gêneros apresentam uma única ORF funcional, exceção feita para as espécies do gênero *Bymovirus* (Fauquet et al., 2005). O gênero *Potyvirus* é o de segunda maior ocorrência em plantas com 175 espécies. Destas, 143 são definitivas e 32 são potenciais espécies novas. Os vírus desta família são transmitidos por plasmódioforomicetos, insetos (afídeos e mosca-branca) e ácaros. Plantas suscetíveis a potyvírus apresentam uma síndrome caracterizada por mosaico severo, bolhosidade e deformação foliar em regiões de crescimento da planta. Plantas tolerantes apresentam, por vezes, o desenvolvimento demosaico leve e amarelamento de folhas novas. Sintomas em frutos são comumente observados.

### **2.2.2. ESTRUTURA DA PARTÍCULA VIRAL E ESTRATÉGIA DE REPLICAÇÃO E EXPRESSÃO DE GENOMA NA FAMÍLIA POTYVIRIDAE**

O genoma viral dos membros da família *Potyviridae* encontra-se ligado covalentemente a uma proteína codificada pelo vírus (VPg) na região 5' terminal e apresenta uma cauda de poli A na região 3' (Fauquet et al., 2005). As espécies na família apresentam uma estratégia de expressão do genoma viral comum a outras famílias de vírus como *Picornaviridae*. O genoma encontra-se envolvido pelo capsídeo alongado e flexuoso e possui uma única fase aberta de leitura (ORF) que codifica para uma poliproteína que será clivada pela ação de proteases contidas na própria poliproteína (P1, NIa e HC-Pro – *Helper component*). Esta clivagem resulta na liberação de pelo menos oito proteínas (**Figura 6**) denominadas P1, HC-Pro, P3, inclusão cilíndrica (CI), inclusão nuclear A (NIa), inclusão nuclear b (NIb), proteína do capsídeo (CP) e duas pequenas proteínas denominadas 6K1 e 6K2 (Riechmann et al., 1992, Berguer et al., 2005). Proteínas produzidas em excesso formam inclusões citoplasmá-

ticas, principalmente do tipo cata-vento, devido ao acúmulo da proteína CI. O acúmulo destas inclusões (citoplasmáticas ou nucleares) é uma das principais características das infecções causadas por potyvírus (Zerbini & Maciel-Zambolim, 1999).



**Figura 6.** Mapa físico do RNA genômico de espécies virais da família *Potyviridae*. A barra azul mostra a organização linear dos genes virais. O genoma viral encontra-se ligado covalentemente a uma proteína codificada pelo vírus (VPg) na região 5' terminal e apresenta uma cauda de poli A na região 3'. Os números acima da barra mostram os valores das massas moleculares (em kilodaltons) das proteínas codificadas por cada gene. Abaixo da linha, os nomes das proteínas estruturais e a principal função de cada uma. O genoma possui uma única fase aberta de leitura (ORF) que codifica para uma poliproteína que será clivada pela ação de proteases contidas na própria poliproteína. As barras mostram os sítios de clivagem na poliproteína.

A maioria das proteínas de *Potyvirus* apresenta caráter multifuncional. Como exemplo cita-se a P1 que atua como proteinase (Verchot *et al.*, 1991) e como fator de amplificação do genoma viral (Verchot & Carrington, 1995). A HC-Prot também funciona como proteinase, além de auxiliar na transmissão viral por vetores, no movimento viral dentro da planta (Cronin *et al.*, 1995, Rojas *et al.*, 1997) e na supressão do silenciamento gênico pós transcricional (Brigneti *etal.*, 1998). A proteína NIa também apresenta função de proteinase. Esta proteína consiste de dois polipeptídeos com funções diferentes: Vpg e Pro. A proteína VPg está associada a replicação (responsável por iniciar a síntese de fitas negativas de RNA) e tradução de proteínas (associação a fatores de iniciação de tradução eIF4E) (Ruffel *et al.*, 2002, Léonard *et al.*, 2004). A proteína CI funciona como helicase separando fitas duplas de RNA durante a replicação e associada às proteínas NIa e NlB (*nuclear inclusion b*– RNA polimerase dependente de RNA, RdRp) formam núcleo replicativo catalisando processos enzimáticos durante a replicação. Inclusões típicas da família *Potyviridae* resultam do acúmulo desta proteína (Murphy *et al.*, 1991). Assim como as demais, a CP (proteína capsidial) está envolvida em várias funções como encapsidação de RNA, movimento viral a curta e longa distância, bem como transmissão pelo vetor (Atreya *et al.*, 1990, Dolja *et al.*, 1995, Rojas *et al.*, 1997).

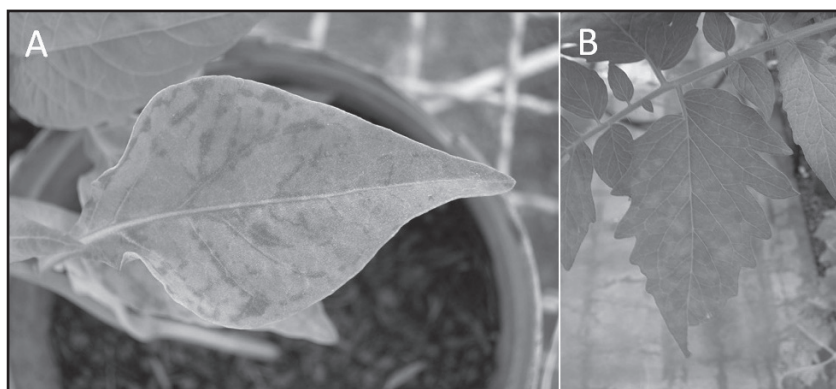
### 2.2.3. ESPÉCIES DE *POTYVIRUS* DO TOMATEIRO NO BRASIL

No Brasil, duas espécies de *Potyvirus* foram descritas infectando tomateiro: *Potato virus Y* (PVY) agente causal da risca do tomateiro (Zerbini & Maciel-Zambolim, 1999) e *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (Maciel-Zambolim et al., 2004), que no tomateiro induz principalmente sintoma de mosaico (Dianese et al., 2008). Os frutos não apresentam sintomas, mas se tornam pouco desenvolvidos (Lopes & Ávila, 2005). PVY tem sido também de grande importância na cultura do pimentão e da pimenta (*Capsicum* spp.) e desde a década de 1960, sendo considerado como um fator limitante da produção destas hortaliças no Brasil (Nagai, 1968). No início da década de 1970, a introdução de cultivares de *Capsicum* resistentes resultou na redução da importância deste vírus, apesar dessa resistência ser, com frequência, superada por novos isolados (Nagai, 1983).

No Brasil, as epidemias de PVY em tomate eram frequentes em regiões com cultivos simultâneos e/ou próximos de *Capsicum* e tomate (Nagai et al., 1993). Os principais sintomas de infecção por PVY em tomateiro incluem risca, mosaico e necrose de topo. O uso intenso de cultivares de *Capsicum* com resistência a PVY levou a seleção e emergência de isolados virulentos (considerados como variantes de PVY) capazes de suplantar esta resistência, como o PVY<sup>m</sup>, no início da década de 1990 (Nagai, 1983). Esta estirpe, (denominada desta forma por infectar pimentões da cultivar ‘Magda’) emergiu como nova ameaça a plantios de *Capsicum* que apresentavam resistência a PVY (Nagai, 1993). Análises baseadas em ELISA direto e no sequenciamento do genoma correspondente à região 3’ UTR e da capa protéica, caracterizaram este isolado como sendo, na verdade, uma nova espécie de potyvírus, denominada de *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (Inoue-Nagata et al., 2002). PepYMV apresentou uma baixa relação filogenética com isolados típicos de PVY. Em termos práticos, a diferenciação de isolados de PVY e PepYMV pode ser obtida com o uso da indicadora *Datura metel*. Essa planta indicadora apresenta clareamento de nervuras, mosqueado e deformação foliar quando infectada por PVY e pontos necróticos (que podem evoluir até a morte da planta) quando infectada por PepYMV (Inoue-Nagata & Resende, 2008).

PepYMV foi também identificado afetando cultivos de tomate causando perdas de até 100% em plantios do híbrido ‘Alambra’ em regiões produtoras do Espírito Santo (De Ávila et al., 2004, Maciel-Zambolim et al., 2004). Em tomate, as folhas infectadas com PepYMV apresentam mosqueado leve, até um mosaico forte que toma a superfície foliar e causa redução na produção (Figura 7). Existem diferenças biológicas e genômicas entre isolados de PepYMV de pimentão e de tomate, que vão desde a gama de hospedeiros até intensidade de sintomas e variabilidade de nucleotídeos e aminoácidos (Cunha et al., 2004).

De acordo com, estes isolados são causadores de sérios problemas, tanto em plantios de tomate quanto de pimentão, entretanto muitas vezes, dependendo da cultivar e das condições ambientais os sintomas em tomate são mais suaves ((Inoue-Nagata & Resende, 2008). Levantamentos demonstraram que o PepYMV está se alastrando por importantes regiões produtoras de hortaliças no país. Em levantamento realizado por (Palazzo et al., 2004), 23% de plantas com sintomas de viroses apresentaram infecção por PepYMV. Levantamentos em Minas Gerais (Ferreira *et al.*, 2005) e no Distrito Federal (Dianese *et al.*, 2008), detectaram alta incidência de PepYMV em plantios comerciais de tomateiro.



**Figura 7.** Sintomas de *Pepperyellowmosaicvirus* (PepYMV) em pimenta e tomate. **A.** Planta de pimenta (*Capsicum annuum*) apresentando sintomas intensos de infecção por PepYMV. **B.** Folha de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) apresentando mosaico causado pelo mesmo vírus.

#### 2.2.4. TRANSMISSÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *POTYVIRUS*- PVY E PEPYMV.

Espécies de *Potyvirus* são transmitidas por várias espécies de afídeos em um tipo de relação não-circulativa e não-persistente (Moreno *et al.*, 2011). Deste modo, o vírus pode ser transmitido rapidamente após a aquisição em diferentes taxas de eficiência dependendo da espécie de vetor considerada e também da hospedeira (**Figura 8**). Boquel *et al.* (2011) monitoraram o período de acesso de aquisição viral (PAA) mediante uso da técnica de EPG (*electrical penetration graph*) com o objetivo de avaliar a eficiência de transmissão de PVY por sete espécies de afídeos em batata (*S. tuberosum*). As espécies *Macrosiphum euphorbiae* e *Myzus persicae* exibiram PAA mais curto (15 e 11 minutos, respectivamente). Para outras espécies testadas (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*,

*Brevicoryne brassicae* e *Acyrtosiphon pisum*) o PAA foi acima de 30 minutos. *Myzus persicae* exibiu a mais elevada taxa de transmissão (83,3%), seguida por *M. euphorbiae* and *S. avenae*. As espécies *A. pisum* e *B. brassicae* exibiram baixas taxas de transmissão. *Rhopalosiphum padi* e *A. fabae* não transmitiram o vírus PVY. Esse trabalho ilustra que mais de uma espécie de afídeo pode ser eficiente na transmissão viral e que curtos PAAs podem resultar em taxas de transmissão mais elevadas, considerando o tipo de relação vírus-vetor. Esses dados explicam, em parte, a baixa eficiência do controle dessas viroses via controle químico dos vetores (Nagai, 1993). Além disto, o uso de alguns defensivos agrícolas acaba por estimular o número de picadas de prova do inseto, aumentando assim a eficiência da transmissão (Berguer *et al.*, 2005).

## **FIGURA 8. AFÍDEOS VETORES DE ESPÉCIES DE POTYVIRUS.**

### **2.2.5. RESISTÊNCIA AO PVY EM SOLANUM (SECT. LYCOPERSICON).**

O melhoramento genético do tomateiro de mesa no Brasil foi consolidado na década de 1960 com os projetos conduzidos no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) (Nagai, 1993). O objetivo inicial dos trabalhos do IAC foi o melhoramento das cultivares do tipo “Santa Cruz” visando, inicialmente, “piramidizar” fatores de resistência às murchas de *Fusarium* e *Verticillium*, mancha foliar de *Stemphylium* e a “risca do tomateiro”, causada por isolados de PVY (Nagai, 1993). A primeira cultivar liberada pelo setor público com impacto comercial foi ‘Ângela’ do IAC em 1969. Essa cultivar foi resultado de cruzamento interspecífico entre ‘Santa Cruz’ x *S. pimpinellifolium* ‘PI 126410’ para incorporar o gene recessivo *rt* que conferia resistência aos isolados de PVY predominantes no tomateiro (Nagai, 1993).

### **2.2.6. RESISTÊNCIA AO PEPMV EM SOLANUM (SECT. LYCOPERSICON).**

Devido à ocorrência constante de infecções mistas no campo, a análise através de sorologia ou o desenvolvimento de novas ferramentas moleculares para detecção deste novo vírus (PepYMV) são necessárias. A simples análise de sintomas para identificar infecções por PepYMV não é considerada suficiente, pois os sintomas apresentados por plantas infectadas por este vírus se confundem aqueles que surgem devido à infecções por espécies de *Begomovirus* ou crinivírus (Dianese *et al.*, 2008).

Acessos de *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) resistentes ao vírus já foram identificados (Juhász et al., 2006, Dianese, 2009b). As fontes de resistência mais promissoras foram observadas em acessos da espécie silvestre *S. habrochaites*. Esses acessos não apresentaram sintomas intensos como os observados em condições de campo por Maciel-Zambolim et al. (2004) e De Ávila et al. (2004). No entanto, nesses ensaios, sintomas intensos não foram observados mesmo em plantas do híbrido ‘Alambra’ (usadas como controle suscetível). A presença do vírus nessas plantas foi identificada inequivocamente apenas através de análises via ELISA (Dianese, 2009a). A ocorrência de infecções latentes também foram observadas em acessos de *S. lycopersicum* utilizados em avaliações prévias em busca de fontes de resistência ao PepYMV (Juhász et al., 2006), sendo a infecção detectada apenas através de ELISA indireto. Os sintomas virais podem ser influenciados pelas condições ambientais e/ou características intrínsecas do isolado e da variedade em teste ((Rowhani et al., 1997). Fontes de resistência ao PepYMV caracterizadas por uma resposta semelhante à imunidade (ausência de sintomas e sorologia negativa) foram identificadas em acessos de *S. habrochaites*, *S. corneliomuelleri*, *S. chilense* e *S. pimpinellifolium*. É interessante mencionar que todas as três seleções da cultivar ‘Ângela’, (desenvolvidas como resistentes a isolados PVY na década de 1960) apresentaram plantas positivas para PepYMV.

Para se verificar o espectro da resistência para outros potyvírus, todos os acessos que apresentaram resultados negativos em ELISA para PepYMV e o restante dos acessos da espécie *S. habrochaites* foram também inoculados com um isolado de PVY. Somente dois acessos de *S. habrochaites* apresentaram resistência combinada a PepYMV e a de PVY. Esta resistência pode ser condicionada pela presença do gene *pot-1* (Ruffel et al., 2005) ou de um alelo deste gene, já que *S. habrochaites* é a fonte deste fator de resistência. *Solanum corneliomuelleri* foi outro material interessante que justifica um trabalho de seleção visando confirmar seus níveis de resistência às duas espécies de *Potyvirus* avaliadas. Juhász et al. (2006) avaliaram um grande número de acessos buscando fontes de resistência para PepYMV. O resultado obtido por este grupo foi similar. Em todos os acessos avaliados, somente um acesso de *S. habrochaites* apresentou resistência a PepYMV.

### **2.2.7. EMPREGO DE VARIEDADES DE TOMATE RESISTENTES A POTYVÍRUS NO BRASIL**

No Brasil, as epidemias de PVY no tomateiro eram frequentes nas décadas de 1960-1970 em regiões com cultivos simultâneos e/ou próximos de *Capsicum* e tomate (Nagai et al., 1993). De fato, a resistência a PVY foi um dos mais importantes componentes associados com o grande impacto comercial da cultivar ‘Ângela’,

que se tornou líder de mercado na décadas 1970-1980 (Nagai, 1993). No entanto, em tempos mais recentes, o PVY tem perdido sua importância epidemiológica, não demandando e/ou justificando o emprego prioritário de híbridos resistentes. Por outro lado, epidemias de PepYMV tem sido identificadas em cultivos de tomate, causando perdas de até 100% (De Ávila et al., 2004, Maciel-Zambolim et al., 2004). No entanto, embora levantamentos indiquem um crescimento em termos de incidência e severidade de PepYMV, o emprego de híbridos e cultivares comerciais com resistência a esse potyvirus em cultivos de tomateiro é atualmente nulo, tanto no cultivo para processamento industrial quanto para consumo *in natura*.

## 2.3. BEGOMOVIRUS

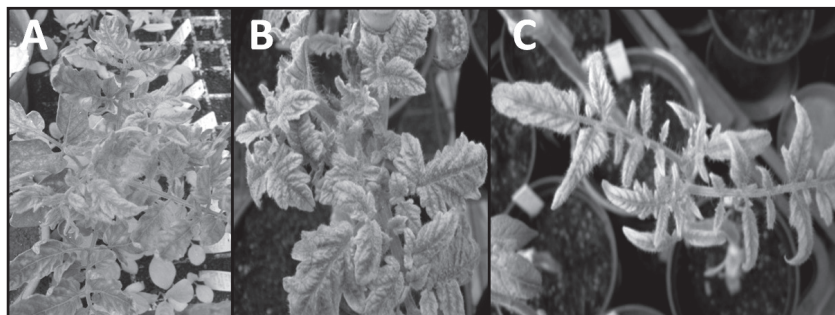
### 2.3.1. TAXONOMIA DA FAMÍLIA GEMINIVIRIDAE IMPORTÂNCIA DO GÊNERO BEGOMOVIRUS

O gênero *Begomovirus* está classificado na família *Geminiviridae* juntamente com outros seis gêneros: *Becurtovirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Mastrevirus*, *Topocivirus* e *Turncurtovirus* (ICTV, 2013). Os principais critérios para separação destes gêneros são a organização do genoma, as plantas hospedeiras e o tipo de inseto vetor (Adams et al., 2013, Brown et al., 2011, Fauquet et al., 2008, Gutierrez, 1999, Hernández-Zepeda et al., 2013, Heydarnejad et al., 2013). O gênero *Begomovirus* é o mais importante, contando com um maior número de espécies e maior gama de hospedeiras (Morales & Anderson, 2001, Moriones & Navas-Castillo, 2000, Polston & Anderson, 1999, Freitas-Astua et al., 2002). De acordo com ICTV (2011), 276 espécies fazem parte deste gênero, sendo 192 espécies definitivas e 84 espécies tentativas (Brown et al., 2011). Os begomovirus provocam perdas expressivas no tomateiro e em outras culturas de importância econômica como pimentão (*Capsicum annuum*), caupi (*Vigna unguiculata*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), algodão (*Gossypium hirsutum*), mandioca (*Manihot esculenta*) e fava (*Phaseolus lunatus*) (Silva, 2006, Faria & Zerbini, 2000).

Espécies de *Begomovirus* são consideradas os principais patógenos virais no cultivo do tomateiro em muitas regiões no Mundo (Brown et al., 1995, Seal et al., 2006). De grande importância está o complexo de espécies monopartidas associadas ao complexo viral ‘Tomato yellow leaf curl disease – TYLCD’ composto pelas espécies virais *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV); *Tomato yellow leaf curl virus-Israel* (TYLCV-IL); *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV); *Tomato yellow leaf curl Axarquia virus* (TYLCAxV); *Tomato yellow leaf curl Malaga virus* (TYLCMaV); *Tomato yellow leaf curl China virus* (TYLCCNV) dentre outras distribuídas nas Américas, Europa, África e Ásia (Ascencio-Ibáñez et al., 1999, Czosnek et al., 1990, Marín, 2004, Momol et al., 1999, Moriones & Navas-Castillo, 2000, Valverde et al., 2001).

### 2.3.2.SINTOMATOLOGIA

Os principais sintomas causados pela infecção de espécies do gênero *Begomovirus* em plantas de tomate consistem em mosaicos, clorose e amarelecimento internerval, epinastias, encarquilhamento e nanismo (**Figura 9**). A expressão de sintomas pode ser influenciada (assim como para outros vírus) por fatores comogenética e idade da hospedeira, características do isolado viral e por fatores ambientais. Em estudos de infecção precoce por begomovírus em ‘Viradoro’ (cultivar suscetível) foram verificadas reduções na produção total e no número de frutos por plantas em torno de 60% em ambos os casos (Giordano *et al.*, 2005b).



**Figura 9.** Sintomas causados por espécies de *Begomovirus*. **A.** *Tomato chlorotic mottle virus*-ToCMoV (espécie de genoma bipartido). **B e C-***Tomato yellow leaf curl virus*- TYLCV (espécie de genoma monopartido).

### 2.3.3. ESTRUTURA DA PARTÍCULA VIRAL E ESTRATÉGIA DE REPLICAÇÃO E EXPRESSÃO DE GENOMA

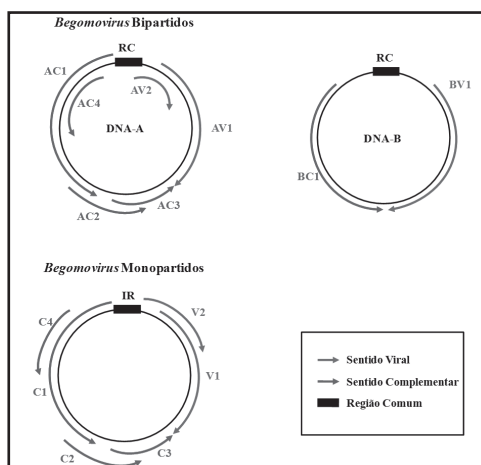
Espécies classificadas no gênero *Begomovirus* apresentam DNA fita simples (ssDNA) encapsidado em partículas geminadas. As espécies do gênero podem apresentar um ou dois componentes genômicos (DNA-A e DNA-B), sendo denominadas de monopartidas ou bipartidas, respectivamente. O genoma das espécies de *Begomovirus* apresenta em torno de 2.600 nucleotídeos (por cada componente), sendo os componentes encapsidados separadamente. A proteína estrutural do capsídeo é arranjada na forma de 22 capsômeros que formam dois icosaedros incompletos de 18 x 30 nm (Bridson & Markham, 1995, Brown *et al.*, 2011, Lazarowitz & Shepherd, 1992).

Os dois componentes genômicos não apresentam identidade de sequência exceto por uma região comum (RC) de aproximadamente 200-250 pares de bases que é altamente conservada em uma mesma espécie viral (identidade

entre 77% e 100%). A RC se mostra divergente entre vírus de diferentes espécies (Ribeiro *et al.*, 2003). Dentro da região comum encontram-se sequências essenciais que atuam como pontos de reconhecimento de processos comuns para ambos os genomas como a replicação, início da transcrição e encapsidação viral (Lazarowitz & Shepherd, 1992). A RC contém uma sequência conservada de nove nucleotídeos (TAATATTAC) em todos os geminivírus (Briddon & Stanley, 2009, Orozco & Hanley-Bowdoin, 1998) Ltd: Chischester</publisher><isbn>9780470015902</isbn><urls><related-urls><url>http://dx.doi.org/10.1002/9780470015902.a0000750.pub2</url></related-urls></urls><electronic-resource-num>10.1002/9780470015902.a0000750.pub2</electronic-resource-num></record></Cite><Cite><Author>Orozco</Author><Year>1998</Year><RecNum>795</RecNum><record><rec-number>795</rec-number><foreign-keys><key app="EN" db-id="zd9a55vwht95pfeddtm-rtw1r0tw22v0s02d">795</key></foreign-keys><ref-type name="Journal Article">17</ref-type><contributors><authors><author>Orozco, Beverly M</author><author>Hanley-Bowdoin, Linda</author></authors></contributors><titles><title>Conserved sequence and structural motifs contribute to the DNA binding and cleavage activities of a geminivirus replication protein</title><secondary-title>Journal of Biological Chemistry</secondary-title></titles><periodical><full-title>Journal of Biological Chemistry</full-title></periodical><pages>24448-24456</pages><volume>273</volume><number>38</number><dates><year>1998</year></dates><isbn>0021-9258</isbn><urls></urls></record></Cite></EndNote>. Novos gêneros recentemente descritos apresentam dois nucleotídeos diferentes nesta posição. Essa sequência conservada que é capaz de formar um grampo, sendo identificada como o ponto de iniciação da replicação e onde ocorre o corte do DNA durante processo (Briddon & Stanley, 2009, Heyraud et al., 1993a, Heyraud et al., 1993b). O DNA-A possui genes que codificam para replicação e encapsidação viral, enquanto os genes presentes no DNA-B codificam para proteínas requeridas para movimento viral (**Figura 10**).

Espécies monpartidas reúnem no DNA-A todos os genes necessários para replicação, encapsidação e movimento viral (Timmermans *et al.*, 1994). No sentido viral encontram-se duas ‘*open reading frames*’ (ORFs): AV1 (gene cp) que codifica a proteína capsidial (CP) e AV2 (ausente nos begomovírus do Novo Mundo e que tem sido relacionada com o movimento viral). No sentido complementar encontram-se as ORFs AC1 (*generep*) que codifica a proteína associada à replicação (Rep); AC2 que codifica (gene *trap*) que codifica a proteína ativadora da transcrição (TrAP) e AC3 (gene *ren*) que codifica a proteína potenciadora da replicação viral (*replication enhancer* – REn) (Briddon et al., 1990, Brown et al., 2011, Ha et al., 2008, Hanley-Bowdoin et al., 1999, Höfer et al., 1997). A ORF AC4 é exclusiva de espécies bipartidas e está envolvida na expressão de sintomas e movimento viral (Marín, 2004, Van Wezel et al., 2002) e também no silenciamento gênico pós-transcricional (Vanitharani *et al.*, 2004).

O DNA-B possui duas ORFs: uma em sentido viral (BV1) e outra no sentido complementar (BC1) correspondendo a genes que codificam proteínas relacionadas ao movimento viral no interior da planta (Noueiry et al., 1994, Sanderfoot & Lazarowitz, 1995, Frischmuth et al., 2007, Palmer & Rybicki, 1998). A ORF BV1 corresponde ao gene que codifica a proteína NSP “*nuclear shuttle protein*” encarregada de transportar moléculas de ssDNA (*single strand DNA*) e dsDNA (*double strand DNA*) viral do núcleo até o citoplasma. A BC1 (transcrita no sentido complementar) codifica a proteína de movimento MP encarregada do transportar de ssDNA ou dsDNA célula a célula através do aumento do limite de exclusão dos plasmodesmata (Noueiry et al., 1994, Sanderfoot et al., 1996, Ward & Lazarowitz, 1999, Frischmuth et al., 2007).



**Figura 10.** Representação esquemática da organização genômica de begomovírus bipartidos e monopartidos. As setas indicam a posição dos genes e a direção em que ocorre a transcrição. No componente DNA-A no sentido viral encontram-se duas ORFs (*open reading frames*): AV1 correspondente ao gene cp e codifica a proteína capsidial (CP) e AV2 (ausente nos begomovírus do Novo Mundo e que tem sido relacionada com o movimento viral). No sentido complementar encontram-se as ORFs AC1, AC2 e AC3 que correspondem aos genes da rep, trap e ren e que codificam: a proteína associada à replicação (Rep), ativadora da transcrição (TrAP) e a proteína potenciadora da replicação viral (REn), respectivamente. AORF AC4 está envolvida na expressão de sintomas e movimento viral e também no Silenciamento Gênico Pós-Transcricional. No componente DNA-B duas ORFs: uma em sentido viral (BV1) e outra no sentido complementar (BC1) correspondem aos genes que codificam proteínas relacionadas ao movimento viral no interior da planta.

### 2.3.4. REPLICAÇÃO

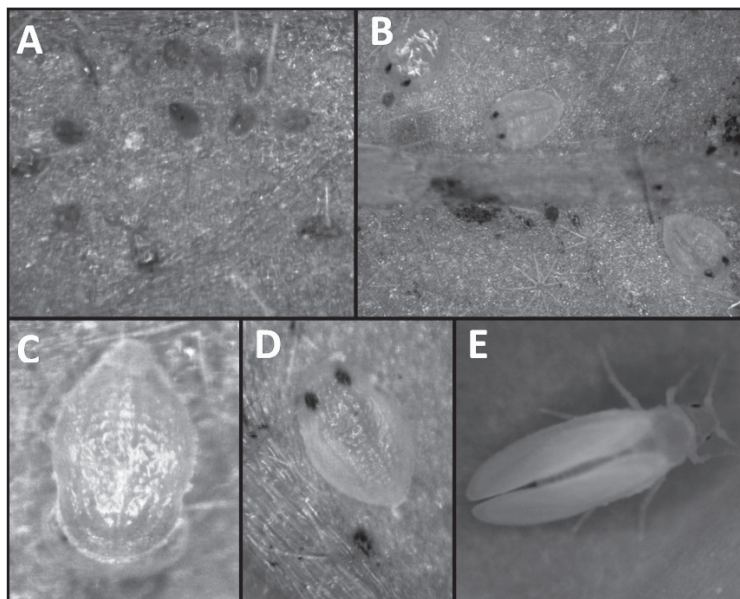
O primeiro estágio na replicação viral de espécies de *Begomovirus* é a síntese de um DNA de fita dupla (dsDNA) a partir do DNA de fita simples (ssDNA). A fita dupla servirá como molde para a transcrição viral e para a elaboração de novas fitas de DNA fita simples pelo mecanismo de amplificação em círculo rolante (ACR) (Bisaro, 2006, Gutierrez, 1999). O processo inicia quando a Rep se liga a uma sequência específica na região comum (Orozco & Hanley-Bowdoin, 1998) pB que é constituída por duas sequências repetidas denominadas “iterons”. A Rep corta uma das fitas de DNA, iniciando o processo (Laufs *et al.*, 1995). Outra função da Rep consiste na autoregulação transcricional e pós-transcricional de genes de expressão tardia (Gafni & Epel, 2002, Laufs *et al.*, 1995, Sunter *et al.*, 1993). A proteína TrA atua na transativação da expressão dos genes AV1 e BV1 (Gutierrez, 1999, Hormuzdi & Bisaro, 1995, Sunter & Bisaro, 1991). A proteína Rep é considerada como um fator potencializador da replicação viral. Mutações neste gene conduzem a uma menor acumulação viral nas plantas infectadas (Castillo *et al.*, 2003, Stanley *et al.*, 1992, Sunter *et al.*, 1990). As proteínas codificadas pelo componente B atuam de maneira coordenada para facilitar o movimento viral intra e intercelular (Frischmuth *et al.*, 2007, Noueiry *et al.*, 1994, Sanderfoot & Lazarowitz, 1995).

### 2.3.5. TRANSMISSÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *BEGOMOVIRUS*

Espécies de *Begomovirus* são transmitidas pelo aleirodídeo vetor *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bemisia tabaci* alimenta-se no estágio de ninfa e fase adulta (**Figura 11**), inserindo seu estilete dentro da folha penetrando no floema e retirando a seiva elaborada onde se encontram as partículas virais. As partículas são levadas do intestino médio e são distribuídas na hemolinfa e posteriormente atingem as glândulas salivares (Markham *et al.*, 2006, Morin *et al.*, 2000, Ohnesorge & Bejarano, 2009).

A diversidade inicial de *B. tabaci* foi inicialmente organizada em diferentes biótipos baseando-se em análises morfológicas, estudos de gama de hospedeiras, adaptabilidade à hospedeira, indução de reações fitotóxicas, resistência a inseticidas, padrões de banda e análises de RAPD-PCR e AFLP (Cervera *et al.*, 2000, De Barro *et al.*, 2005, De Barro *et al.*, 2000). No entanto, estudos recentes indicam que *B. tabaci* é um complexo grupo de espécies crípticas, composto por 11 grupos de alto nível bem definidos que contém pelo menos 24 espécies morfológicamente indistinguíveis (De Barro *et al.*, 2011). Este complexo de 24 espécies está subdividido em onze grupos genéticos: Middle East-Asia Minor (MEAM1) relacionado com os biótipos ‘B’ e ‘B2’, Mediter-

ranean species (MED) relacionado com os biótipos ‘Q’, ‘J’ e ‘L’, New World species relacionado com os biótipos ‘A’, ‘C’, ‘D’, ‘F’, ‘Jatropha’, ‘N’, ‘R’ e ‘Sida’ (Dinsdale *et al.*, 2010). No Brasil, Marubayashi *et al.* (2013) conduziram um estudo com diferentes populações de *B. tabaci* presente nos estados de SP e MT entre os anos de 2008 e 2011, e encontraram espécies presentes nos grupos MEAM1, New World e New World 2.



**Figura 11.** Diferentes estágios do ciclo de vida do vetor *Bemisia tabaci* (**Reino:** Animalia, **Filo:** Arthropoda, **Classe:** Insecta, **Ordem:** Hemiptera, **Família:** Aleyrodidae) **A.** Ovos de *B. tabaci*. **B.**, **C** e **D.** Ninfas de diferentes instares. **E.** Adulto de mosca-branca (Fotos: **E:** I. Nogueira e **A-D:** C.A. Souza).

### 2.3.6. HISTÓRICO DAS BEGOMOVIROSES NO BRASIL

O primeiro relato de begomovírus em tomateiro no Brasil foi feito em 1960 (Flores *et al.*, 1960), sendo o vírus identificado como sendo o *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) (Maytis *et al.*, 1975). No entanto, a partir da década de 1990, um complexo extremamente diverso de begomovírus emergiu, coincidindo com a introdução e dispersão no país de *Bemisia tabaci* biótipo B (= espécie críptica Middle East-Asia Minor – MEAM1). A detecção de begomovírus transmitidos por *B. tabaci* biótipo B foi feita pela primeira vez no Distrito

Federal (DF) em 1993(Ribeiro *et al.*, 1994). O hábito alimentar polífago de *B. tabaci* biótipo B favoreceu sua rápida disseminação e epidemias de begomovírus passaram a ser observadas em muitas áreas produtoras de tomate para mesa e para processamento industrial (Ribeiro *et al.*, 2003, Fernandes *et al.*, 2008). A partir de então foi observada a presença de begomovírus infectando tomateiros em Minas Gerais (Rezende *et al.*, 1996, Zerbini *et al.*, 1996), Bahia(Ribeiro *et al.*, 1996), São Paulo (Faria *et al.*, 1997), Rio de Janeiro(Almeida *et al.*, 1997b, Almeida *et al.*, 1997a)e Pernambuco (Bezerra *et al.*, 1996).

Trabalhos posteriores indicaram a existência de uma grande diversidade de espécies de begomovírus em outras espécies de plantas, bem como uma grande diversidade genética de begomovírus em tomateiro(Ambrozevicius *et al.*, 2002, Ribeiro *et al.*, 2003) com a descrição de novas espécies tais como o *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) (Galvão *et al.*, 2003); *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV) (Fernandes *et al.*, 2006) e *Tomato yellow spot virus* (ToYSV) (Calegario *et al.*, 2007). Além destas, mais de dez espécies já foram relatadas, entretanto encontram-se classificadas como possíveis espécies novas(ICTV online, 2014), segundo os critérios estabelecidos pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (Brown *et al.*, 2011). Muitas delas apresentam ocorrência regional ou endêmica. Este complexo viral tem sido devastador na produção de tomate, sendo considerado o principal fator limitante na produção dessa hortaliça no Brasil(Fernandes *et al.*, 2008, Boiteux *et al.*, 2012a). De fato, até o presente momento mais de uma dezena de espécies de *Begomovirus* foram relatadas infectando tomateiro no Brasil (para recente revisão ver Fernandes, 2010). Levantamentos com maior amplitude geográfica indicam uma maior dissiminação geográfica de quatro espécies de begomovírus de genoma bipartido em tomateiro no Brasil: *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), *Tomato severe rugose virus* (ToSRV) e *Tomato mottle leaf curl virus* (ToMoLCV) (Ribeiro *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2008; Fernandes, 2010). Além disso, existe a permanente ameaça da introdução no Brasil de espécies de genoma monopartido pertencentes ao complexo viral *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), fato ainda não observado (Ribeiro *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2008; Fernandes, 2010).

### **2.3.7. GENES DE RESISTÊNCIA EM *SOLANUM* (*LYCOPERSICON*) PARA ESPÉCIES DE *BEGOMOVIRUS***

Estabilidade, durabilidade e resistência ampla são alguns atributos para resistência de plantas a vírus e a outros patógenos. Desta forma, as principais estratégias do melhoramento têm sido a busca de fontes com estas características e/ou a ‘piramidização’ de diferentes genes de resistência em linhagens elite. Em *Solanum* (*Lycopersicon*) já foram relatados diferentes genes de resistên-

cia a espécies do gênero *Begomovirus*, sendo alguns dominantes: *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4* e *Ty-5* e outros recessivos: *tcm-1*, *tgr-1* e *ty-5* (Anbinder et al., 2009, Bian et al., 2007, Giordano et al., 2005b, Hanson et al., 2006, Hanson et al., 2000, Ji & Scott, 2006, Ji et al., 2007, Ji et al., 2009, Laterrot, 1995, Maxwell, 2009, Nakhla et al., 2005, Zamir et al., 1994). A piramidização destes diferentes genes de resistência em uma linhagem ou cultivar é uma estratégia bastante atrativa que permite acumular um conjunto de genes em um único genótipo na tentativa de obter uma resistência durável (Vidavski et al., 2008).

### 2.3.7.1. GENE/LOCUS *TY-1*

O gene *Ty-1*, introgridido na espécie cultivada *S. lycopersicum* a partir de *S. chilense* foi mapeado no cromossomo 6 de tomate (Zamir et al., 1994) e confere resistência a espécies de *Begomovirus* monopartidos e bipartidos (Boiteux et al., 2007a, Pereira-Carvalho, 2009). Este foi o primeiro a ser caracterizado e um dos mais usados nos programas de melhoramento genético em diferentes países como França, Israel, Itália, Flórida e as Américas (Scott et al., 1995, Zakay et al., 1991). Estudos recentes mostraram que o *Ty-3* é considerado como alélico ao *Ty-1* (Verlaan et al., 2013). *Ty-1* localiza-se próximo a outros genes de resistência para outros patógenos como o gene *Mi* que confere resistência a espécies de *Meloidogyne* (Pereira-Carvalho et al., 2010, Perez de Castro et al., 2007). O gene *Ty-1* caracteriza-se por apresentar dominância parcial e ampla resistência a espécies de *Begomovirus* e o seu produto gênico parece relacionar-se com a proteína de movimento viral (célula-a-célula), sendo mais eficiente em condições de baixa pressão de inóculo (Laterrot, 1995, Michelson et al., 1994, Zamir et al., 1994), entretanto estudos recentes mostram que o *Ty-1* codifica para uma RNA polimerase dependente de RNA que pode estar envolvida no silenciamento gênico transcricional e é considerado como alélico ao *Ty-3* (Verlaan et al., 2013). A presença do alelo de forma homozigota suscetível (*ty-1/ty-1*) e heterozigota (*Ty-1/ty-1*) tem papel importante na infecção. De acordo com Boiteux et al. (2007a), em condições de homozigose (alelo *ty-1*), em torno de 95% das plantas estudadas mostraram infecção viral e sintomas característicos, enquanto que em condições de heterozigose, observou-se uma porcentagem de 35% de plantas infectadas e manifestando sintomas.

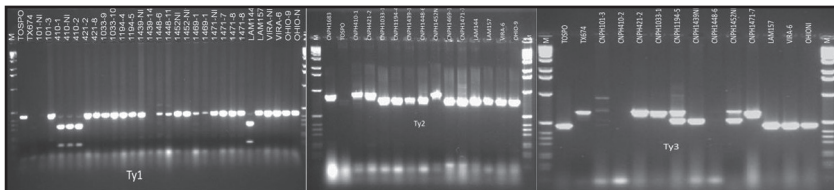
### 2.3.7.2. GENE/LOCUS *TY-2*

O gene/locus *Ty-2* foi introgridido a partir da espécie *S. habrachoites* e tem mostrado níveis de resistência contra isolados asiáticos de *Begomovirus* (Hanson et al., 2006, Lapidot & Friedmann, 2002). Este gene está localizado no cromossomo 11. Alguns estudos desenvolvidos sobre a resistência do gene

demonstraram que *Ty-2* confere resistência a diferentes isolados de TYLCV (Hanson et al., 2006) e Tomato leaf curly virus (ToLCV), embora possa não funcionar para alguns isolados de TYLCV em algumas regiões (Mejia et al., 2005). Materiais avaliados para *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV) via inoculação natural pelo vetor tem mostrado que o gene *Ty-2* é uma fonte eficiente de resistência a begomovírus bipartido (Boiteux et al., 2007b).

### 2.3.7.3. GENE/LOCUS *TY-3*

O locus/gene parcialmente dominante *Ty-3* foi derivado do acesso *S. chilense* ‘LA-2779’ e confere alto nível de resistência a TYLCV e resistência a bipartidos (Ji & Scott, 2006). Alguns acessos resistentes a begomovírus provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Hortaliças (Pereira-Carvalho et al., 2010) tais como *S. peruvianum* ‘CNPH 1194’, ‘CNPH 1452’ e ‘CNPH 1471’ e *S. habrochaites* ‘CNPH 0421’ apresentaram o marcador associado com o locus *Ty-3* (Figura 12).



**Figura 12.** Resultado da PCR com primers gerando marcadores específicos para os loci *Ty-1*, *Ty-2* e *Ty-3*: O acesso *S. chilense* ‘CNPH 410’ apresentou o marcador associado com o locus *Ty-1* enquanto os acessos *S. peruvianum* ‘CNPH 1194’, ‘CNPH 1452’ e ‘CNPH 1471’ e *S. habrochaites* ‘CNPH 0421’ apresentaram o marcador associado com o locus *Ty-3*. O locus *Ty-2* foi observado apenas em linhagens derivadas de ‘CNPH 1683’ (introgridida de um acesso de *S. habrochaites*).

### 2.3.7.4. GENE/LOCUS *TY-4*

O gene/locus *Ty-4* foi mapeado no cromossoma 3 e os resultados de Nakhla et al. (2005) indicam que esse locus é eficaz contra múltiplas (sete) espécies de *Begomovirus*.

### **2.3.7.5. GENE/LOCUS *TY-5/ TY-5***

*Ty-5* é um dos genes que conferem resistência a TYLCV identificado na linhagem ‘TY172’, derivada de *S.peruvianum*(Anbinder *et al.*, 2009). Estudos iniciais realizados na com ‘TY172’ demonstraram que a resistência é controlada por três genes, dois deles com efeito aditivo (um parcialmente dominante e o outro recessivo). Ambos são controlados epistaticamente por um terceiro gene recessivo. Estudos indicaram também por meio de QTL’s que a resistência observada na linha TY172 é conferida por um QTL maior e pelo menos quatro QTL’s menores, sendo o maior detectado no cromossoma 4 e denominado *Ty-5* seguido a terminologia já estabelecida pra os diferentes genes que conferem resistência a TYLCV em tomate(Anbinder *et al.*, 2009). Posteriormente, estudos de herança e mapeamento com diferentes linhagens derivadas do híbrido ‘Tyking’ com resistência aos diferentes isolados de TYLCV da Flórida indicaram, de fato, a natureza recessiva deste locus de resistência. O locus (renomeado para *ty-5*) foi mapeado no cromossomo 4 (Hutton *et al.*, 2012).

### **2.3.7.6. GENE/LOCUS *TCM-1***

O gene *tcm-1* confere resistência aos begomovírus bipartidos (Giordano *et al.*, 2005a) e monopartidos (García-Cano *et al.*, 2008, Pereira-Carvalho *et al.*, 2010). Este ‘locus’/gene foi encontrado na linha ‘TX-468-RG’ de *S. lycopersicum* derivada do híbrido ‘Tyking’, já relatado como resistente a isolados de begomovírus do Velho Mundo (Laterrot, 1995).

### **2.3.7.7. GENE/LOCUS *TGR-1***

O gene de resistência recessiva controlada por um único alelo, foi identificado na linha ‘FLA653’ desenvolvida a partir de cruzamentos entre Tyking e *Solanum chilense* ‘LA-2779’, mostrando um alto grau de resistência ao *Begomovirus* monopartido TLCV causador de perdas significativas nas culturas de tomate do velho mundo (Bian *et al.*, 2007).

## **2.3.8. EMPREGO DE VARIEDADES DE TOMATE RESISTENTES A BEGOMOVÍRUS NO BRASIL**

Após a introdução e dispersão no país de *B. tabaci* biótipo B(= espécie críptica MEAM1) na década de 1990, o emprego de híbridos resistentes tem sido prioritário em quase todas as regiões produtoras do Brasil. As poucas exceções têm sido os microclimas na região Sul (Serra gaúcha e Planalto catarinense).

nense) e na região serrana do Espírito Santo. Híbridos contendo o gene/locus *Ty-1* têm sido os mais amplamente utilizados no tomateiro para consumo *in natura*. As recentes epidemias de begomovírus no cultivo do tomateiro para processamento industrial no Brasil Central têm também demandado o emprego de cultivares com tolerância a esse grupo de patógenos.

## **2.4.TOBAMOVIRUS**

### **2.4.1.HISTÓRICOE TAXONOMIA**

Os tobamovírus, mais especificamente o *Tobacco mosaic virus* (TMV), espécie tipo do gênero *Tobamovirus*, tem destaque na história da Virologia, por ter sido o primeiro vírus estudado e o primeiro a ter uma imagem gerada em microscopia eletrônica (Bos, 1999). No gênero *Tobamovirus* encontram-se classificadas 31 espécies sendo 25 definitivas e seis tentativas (Adams et al., 2011). As espécies caracterizam-se por sua elevada produção de partículas vírais que se localizam no citoplasma formam agregados amorfos ou cristalinos (Conti et al., 2001). A estabilidade das partículas vírais desse gênero é bastante elevada, sendo capazes de serem detectados em neblina e nuvens, bem como em gelo glacial e podem permanecer ativos por vários meses no solo, em restos de folhas e raízes secas (Castello et al., 1999). O TMV infecta uma ampla gama de hospedeiras, dentre elas o tomateiro (Harrison & Wilson, 1999). No entanto, o *Tomato mosaic virus* (ToMV) é otobamovírus que causa maiores prejuízos ao tomateiro. ToMV se diferencia do TMV em sua sequência de nucleotídeos e na indução de sintomas em algumas hospedeiras diferenciais (Yu et al., 2004). No tomateiro, os dois vírus podem causar infecção latente, mas estirpes severas podem induzir sintomas intensos (Fletcher, 1992, Lanfermeijer et al., 2005, Moreira et al., 2003b). Apesar de não serem consideradas as principais espécies virais em termos econômicos para a cultura do tomateiro, os danos causados por ToMV e TMV na cultura estão sempre presentes e tem tido importância crescente em algumas regiões do Brasil. A maior parte das cultivares plantadas são resistentes à esses vírus, mas epidemias podem acontecer devido ao plantio de sementes contaminadas ou manejo inadequado (Taylor et al., 1961).

### **2.4.2.SINTOMATOLOGIA**

Os sintomas predominantemente causados por tobamovírus são mosaicos, enrolamento, redução e afilamento de folíolos, apresentando também bolhosidades nas folhas e aspermia nos frutos. Em locais que apresentam condições de alta temperatura, indivíduos infectados podem permanecer assinto-

máticos. Os frutos podem apresentar bronzeamento, mosaico amarelo, mosqueado, manchas ou anéis necróticos e amadurecimento irregular. Indivíduos jovens infectados apresentam baixos níveis de desenvolvimento, afetando diretamente os níveis de produção (Lopes & Ávila, 2005).

### **2.4.3. ESTRUTURA DA PARTÍCULA VIRAL**

Espécies do gênero *Tobamovirus* (família *Virgaviridae*) apresentam partículas alongadas e rígidas (300-310 x 18 nm de diâmetro), RNA de fita simples, sentido positivo e genoma com 6.3 kb e quatro ORFs, que codificam uma única proteína estrutural (17 kDa) e três proteínas não estruturais, duas delas requeridas para a replicação viral e uma terceira para o movimento viral célula-a-célula e a longa distância (Adams et al., 2011). O RNA é infeccioso, sendo imediatamente lido pelos ribossomos. As ORFs 1 e 2 geram uma pequena subunidade da replicase e a polimerase. Esta subunidade está envolvida na replicação e age como supressora do silenciamento gênico. As proteínas de movimento e do capsídeo são expressas a partir de mRNAs subgenômicos (Adams et al., 2011).

### **2.4.4. ESTRATÉGIA DE REPLICAÇÃO**

A replicação ocorre no citoplasma, com a formação de um genoma de dsRNA a partir do ssRNA(+) genômico. Este genoma é transcrito e replicado simultaneamente. A polimerase depende de RNA reconhece os promotores subgenômicos internos no RNA(-) para transcrever RNAs subgenômicos que gerarão a proteína de movimento, do capsídeo e o supressor do silenciamento (Ishibashi et al., 2011, Ishibashi et al., 2012, Ishibashi et al., 2010). Após a replicação, os vírions são montados no citoplasma e carregados para outras células pela ação da proteína de movimento (Heinlein et al., 1995).

### **2.4.5. TRANSMISSÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *TOBAMOVIRUS***

As espécies de *Tobamovirus* não possuem vetores, sendo transmitidas com alta eficiência por sementes, contato mecânico entre plantas, com implementos contaminados e práticas culturais, como transplantes, amarrações e desbrotas. Nas sementes infestam a superfície do tegumento, mucilagem externa, testa e endosperma e não são transmitidos pelo pólen. Podem permanecer em resíduos vegetais, solo e água por longos períodos devido à grande estabilidade de seus vírions e, devido a isso, são consideradas como causadoras de

doenças importantes em hidroponia, pois nesse sistema ocorre a disseminação rápida da doença, levando à prejuízos elevados aos produtores (Moreira et al., 2003a, Schuerger & Brown, 1997).

## 2.4.6.FONTES DE RESISTÊNCIA A ESPÉCIES DE *TOBAMOVIRUS*

Em tomate foram reportados os genes *Tm-1*, o gene *Tm-2* e sua variante alélica *Tm-2-2* que conferem resistência a ToMV e TMV. O alelo *Tm-2-2* do locus *Tm-2* (provenientes de *S. peruvianum*) tem se mostrado durável, ao passo que o gene *Tm-1* (proveniente de *S. habrochaites*) e outros alelos do locus *Tm-2* são mais facilmente superados por variantes virais (Ishibashi et al., 2012). O gene *Tm-1* codifica uma proteína que se liga especificamente a proteínas do ToMV responsáveis pela replicação do RNA viral, levando a inativação do vírus. Isolados de ToMV que superam a resistência conferida pelo gene *Tm-1* apresentam mutações na região codificadora da proteína de replicação, não se ligando a proteína codificada pelo locus *Tm-1*, escapando assim da interação inibitória da proteína hospedeira. Análise tri-dimensional da helicase dos isolados mutantes indicam que os resíduos associados com a quebra da resistência estão expostos na superfície da molécula em maior proximidade especial, suprimindo desta forma o local provável onde a proteína do gene *Tm-1* se liga e reconhece o ToMV. A resistência conferida pelo alelo *Tm-2-2* é caracterizada por uma resposta do tipo imune (tipificada pela ausência de lesões locais macroscópicas após inoculação mecânica). Análises de sequência de isolados capazes de quebrar a resistência do alelo *Tm-2-2* indicam que a proteína de movimento (MP) é identificada com o fator de virulência. Os alelos *Tm-2* e *Tm-2-2* foram clonados e codificam um polipeptídeo de 861 resíduos de aminoácidos e pertence à classe CC-NBS-LRR de proteínas de resistência (Lanfermeijer et al., 2005). As proteínas codificadas pelos alelos *Tm-2* e *Tm-2-2* diferem entre si em apenas quatro aminoácidos (Lanfermeijer et al., 2005).

Todos esses genes e/ou variantes alélicas já foram introgrididas em cultivares do tomateiro cultivado. Além disso, plantas com estes genes, além do uso em programas de melhoramento são utilizadas também para a diferenciação de patótipos virais (Lanfermeijer et al., 2005). Devido a sua maior estabilidade e amplitude de ação o alelo *Tm-2-2* tem sido preferencialmente empregado nos desenvolvimentos de variedades de tomateiro resistentes a esse grupo de patógenos virais.

## 2.5. CRINIVIRUS

### 2.5.1. TAXONOMIA, ESTRUTURA DA PARTÍCULA VIRAL E ESTRATÉGIA DE REPLICAÇÃO.

O gênero *Crinivirus* (família *Closteroviridae*) inclui 14 espécies sendo 12 definitivas e duas espécies tentativas (Martelli *et al.*, 2011). Espécies do gênero *Crinivirus* apresentam partículas alongadas e flexuosas (650-850 nm e 700-900 nm de comprimento) e são os únicos membros da família *Closteroviridae* que apresentam genoma de RNA de senso positivo e bipartido (RNA-1 e RNA-2), sendo a única exceção o *Potato yellow vein virus* que apresenta genoma tripartido (Klaassen *et al.*, 1995, Livieratos *et al.*, 2004, Martelli *et al.*, 2011). O genoma do *Tomato chlorosis virus* (ToCV) é composto por RNA fita simples sentido positivo dividido em RNA-1 e RNA-2 encapsidados separadamente, sendo ambos necessários para a infecção (Martelli *et al.*, 2002). O RNA 1 é organizado em quatro ORFs e codifica proteínas envolvidas na replicação incluindo a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp). O RNA 2 é composto por nove ORFs incluindo um gene homólogo que codifica a proteína HSp70 ('heat-shock' 70 kilodaltons) e também duas proteínas envolvidas na encapsidação do RNA viral (conhecidas como "the coat protein" – CP e "the minor coat protein" – Cpm) (King *et al.*, 2011), sendo a CP a encarregada de encapsidar a maior parte do genoma viral, enquanto a Cpm está associada a encapsidação do extremo 5' terminal do genoma viral (Wintermantel *et al.*, 2005). A homologia de sequência entre ToCV e outras espécies de *Crinivirus* é variável ao longo do genoma (Wintermantel *et al.*, 2005). O genoma do RNA-1 apresenta quatro "open reading frames" (ORFs), e o RNA-2 contém nove ORFs que codificam proteínas associadas à encapsidação viral, movimento, replicação e transmissão pelas moscas-brancas vetoras.

### 2.5.2. TRANSMISSÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO CRINIVIRUS

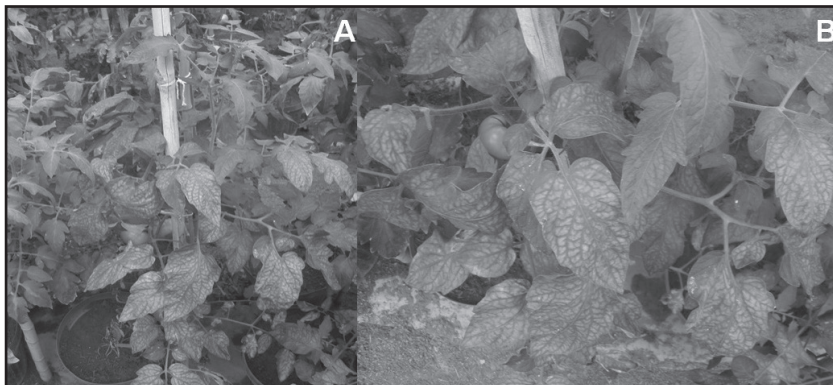
As espécies ToCV e TICV são espécies classificadas no gênero *Crinivirus*, infectam plantas de tomate e que se encontram disseminadas em várias regiões da América do Norte e Europa (European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2005). Uma diferença básica que permite a separação de ToCV e TICV refere-se a transmissão por vetores. Enquanto TICV é transmitido exclusivamente pelo vetor *Trialeurodes vaporariorum*, ToCV é transmitido também por *Trialeurodes abutilonea*, *Bemisia tabaci* biótipos A e B além de *Trialeurodes vaporariorum*.

### 2.5.3. GÊNERO *CRINIVIRUS* NO CULTIVO DO TOMATEIRO NO BRASIL E NO MUNDO

Epidemias de crinivirose têm afetado a produção do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) na Europa e nos EUA (Hanssen et al., 2010, Navas-Castillo et al., 2011). Duas espécies são relatadas infectando o tomateiro: ToCV e TICV, que estão surgindo como um dos mais importantes patógenos emergentes da cultura de tomate em todo o mundo (Hanssen et al., 2010, Navas-Castillo et al., 2011). No Brasil, levantamentos recentes confirmaram, até o presente momento, apenas a presença de ToCV em São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Bahia, Espírito Santo (Barbosa et al., 2008, Barbosa et al., 2011) e mais recentemente também no Distrito Federal (Nogueira et al., 2011).

### 2.5.4. SINTOMATOLOGIA E DANOS ECONÔMICOS NO TOMATEIRO

Os crinivírus permanecem confinados às células do floema e os sintomas são o resultado do bloqueio dos vasos floemáticos pelas inclusões virais, os quais impedem o transporte vascular em plantas infectadas (Wisler & Duffus, 2001). Em tomateiros infectados por ToCV mostram sintomas muito similares ao amarelecimento induzido por deficiência de magnésio (**Figura 13**). Estes sintomas são mais aparentes nas folhas medianas e baixas da planta. Os sintomas são clorose internerval, folhas brilhantes, reduzido vigor e senescência precoce. Sintomas nos frutos e nas flores não são observados, entretanto a perda de capacidade fotossintética é a responsável pela redução de rendimento e qualidade dos frutos. Alguns dos principais híbridos comerciais utilizados no Brasil têm se mostrado extremamente suscetíveis ao ToCV. O controle químico dos crinivírus via aplicação de inseticidas para reduzir a população de vetor tem demonstrado baixa eficiência como demonstrado pela elevada incidência (de até 100% de plantas afetadas) em cultivos comerciais de tomateiro em algumas regiões do Brasil. Plantas infectadas com ToCV mostram mosqueados e pontos cloróticos irregulares que se desenvolvem inicialmente sobre folhas localizadas na parte inferior da planta e gradualmente avançam para o topo. (**Figura 13**).



**Figura 13.** Sintomas de *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomate.

### 2.5.5. FONTES DE RESISTÊNCIA

Para o controle de ToCV e TICV a melhor opção é indubitavelmente o uso de cultivares resistentes. No entanto, nenhuma fonte encontra-se disponível no mercado até o momento. Os programas de melhoramento de tomate têm explorado fontes de resistência a begomovírus em germoplasma de espécies selvagens de *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) (Boiteux *et al.*, 2012b). Dois tipos de resistência e/ou tolerância a ToCV e TICV que reduzem o impacto dos crinivírus na produção de tomate (direta ao vírus e a resistência indireta ao vetor mosca-branca) têm sido detectados em alguns acessos (García-Cano *et al.*, 2010, Wintermantel *et al.*, 2005).

Resistência ao TICV foi identificada por Wintermantel (2005) em acessos de *S. pennellii* e *S. habrochaitese* está relacionada à resistência a mosca-branca mediada por acil-açúcares presentes nos tricomas foliares. García-Cano *et al.* (2010) selecionaram em um banco de germoplasma duas fontes de resistência a ToCV denominadas linhagem ‘802-11-1’ derivadas de autopolinização de plantas assintomáticas para ToCV (provenientes de um híbrido interespecífico de *S. lycopersicum* × *S. peruvianum* ‘LA-0444’) e linhagem ‘821-13-1’ (proveniente de um híbrido interespecífico de *S. lycopersicum* × *S. chmielewskii* ‘LA-1028’). A resistência reduz a acumulação bem como a expressão dos sintomas virais. O controle genético da resistência nestes estudos foi conferido por um locus maior com efeitos aditivos. No Brasil, ações de pesquisa de melhoramento genético objetivando o desenvolvimento de cultivares de tomate com resistência a crinivírus também foram iniciadas pela Embrapa Hortaliças. Ensaio de campo (inóculo natural de ToCV) foram conduzidos em Capão Bonito-SP. Híbridos suscetíveis apresentaram cerca 100% de plantas

sintomáticas Os híbridos comerciais ‘Alambra’, ‘Debora’, ‘Pizzadoro’, e ‘Titanium’ apresentaram severos sintomas com a escala de severidade variando de 3,5 a 4,0 (maximo valor = intensa clorose foliar). Outros ensaios apontaram os acessos *S. pimpinellifolium* ‘CNPH 1678’ ‘Dominador’, ‘Ellen’, ‘Santa Clara’, ‘TX 468-RG’ e ‘San Vito’ como altamente suscetíveis. No entanto a linhagem *S. lycopersicum* ‘LAM 148’ foi identificada com um fonte de tolerância ToCV. A expressão fenotípica da resistência de ‘LAM 148’ é caracterizada pela presença de sintomas sistêmicos suaves (escala de severidade = 1.58) e baixos níveis de acumulação de RNA viral.

## 2.6.CUCUMOVIRUS

### 2.6.1.HISTÓRICO E TAXONOMIA

*Cucumber mosaic virus* (CMV) é um dos mais destrutivos e mais predominantes vírus de plantas. Esta espécie é capaz de infectar uma ampla gama de hospedeiras que podem ser espécies anuais ou perenes(Hull, 2002a).CMV-foi primeiramente descrito em 1916, infectando pepino e outras cucurbitáceas(Doolittle, 1920). A ocorrência do CMV é mundial, sendo o tomateiro uma das mais importantes hospedeiras(Doolittle, 1920, Roossinck, 2002).Os diferentes isolados de CMV também variam em patogenicidade.

*Peanut stunt virus* (PSV), *Tomato aspermy virus* (TAV) e *Cucumber mosaic virus* (CMV) são as principais espécies que compõem o gênero *Cucumovirus*, da família *Bromoviridae*, da qual também fazem parte os gêneros *Bromovirus*, *Alfamovirus*, *Ilarvirus* e *Oleavirus*. O CMV é a espécie tipo do gênero *Cucumovirus* é considerada uma das espécies virais com o maior número de hospedeiras, infectando mais de 1.000 espécies de plantas, considerando-se monocotiledôneas e dicotiledôneas, plantas herbáceas, arbustivas e arbóreas, totalizando mais de 365 gêneros de 100 famílias. Ocorre mundialmente e sua capacidade adaptativa em relação à novos ambientes e hospedeiras é notável, infectando plantios de cucurbitáceas, leguminosas, e solanáceas. Causa sintomas sistêmicos na maioria de suas hospedeiras, mas pode ocorrer em infecções assintomáticas em algumas culturas, como na alfafa (Zitter & Murphy, 2009).O

CMV é ainda dividido em Subgrupos, no que tange sua classificação taxonômica, sendo estes denominados Subgrupo I e Subgrupo II, agrupados de acordo com as similaridades na sequência de nucleotídeos e com o relacionamento sorológico (Hu *et al.*, 1995, Singh *et al.*, 1995, Özdemir & Erilmez, 2012). O Subgrupo I é ainda subdividido em IA e IB, diferenciados por sintomas em caupí: IA causa sintomas de mosaico sistêmico e IB causa lesões locais necróticas nas folhas(Pingdong & Lianhui, 1998, Szilassy *et al.*, 1999).

## 2.6.2.SINTOMATOLOGIA

Os sintomas típicos em tomateiros suscetíveis são mosqueado, clorose internerval e enrolamento das bordas das folhas, mas, a redução no tamanho da lâmina foliar, tornando-a restrita à nervura central, causando um sintoma conhecido como cordão-de-sapato, é o sintoma mais característico. Plantas afetadas produzem poucos frutos, normalmente pequenos, com manchas ou necroses e com a maturação atrasada (Zitter & Murphy, 2009). Dependendo da localização da cultura os sintomas podem se manifestar de maneira diferenciada. Em casas de vegetação, as plantas podem apresentar clorose generalizada e mosaico. Folhas jovens tendem a se tornar cada vez mais deformadas, apresentando posteriormente o sintoma de cordão-de-sapato. No campo as folhas jovens apresentam mosaico e clorose mas, se ocorrer em um plantio jovem, essas folhas logo se deformam severamente, ocorrendo em seguida enrolamento para cima. Em plantas mais velhas, os sintomas de mosaico são mais evidentes. As plantas jovens e afetadas logo no começo de seu desenvolvimento apresentam nanismo acentuado(Zitter & Murphy, 2009).

## 2.6.3.ESTRUTURA DA PARTÍCULA E DO GENOMA VIRAL

É um vírus com genoma tripartido, contendo três segmentos de RNA senso positivo e um RNA subgenômico, denominados RNA 1 (~3.350 nucleotídeos), RNA 2 (~3.050 nucleotídeos) e RNA 3 (~2.200 nucleotídeos). O RNA subgenômico, que surge durante a replicação, é originário do RNA 3 e é denominado RNA 4 (~1.030 nucleotídeos). Estes segmentos se encontram encapsidados em partículas separadas e esféricas de até 28 nm de diâmetro e seu ciclo se completa somente na presença dos três segmentos. Essa estratégia permite que genomas grandes sejam acondicionados em um vírion compacto, mas demanda a presença de diversas partículas para que o ciclo se complete.O CMV apresenta cinco ORFs. As ORFs 1a e 2a, codificadas a partir dos RNAs 1 e 2 respectivamente, compõem a replicase. A ORF 2b, que sobrepõe a ORF 2a, é expressa a partir de um RNA subgenômico denominado RNA 4a, que codifica um supressor do silenciamento gênico pós-transcricional (Ding et al., 1994). O RNA 3 codifica a proteína 3a, que é a proteína de movimento e a proteína do capsídeo (CP), expressa a partir do RNA 4 subgenômico (Hull, 2002b). Além dos RNAs subgenômicos, foram detectados em alguns isolados um RNA satélite, denominado satRNA ou RNA 5 (Takanami, 1981). É uma molécula de até 342 nucleotídeos e dependente do CMV para sua replicação, sendo encapsidado juntamente com o genoma viral. Dessa forma, esse RNA satélite é dispersado pelos plantios juntamente com o vírus graças à ação de seu inseto vetor. Apesar dessa interação, o RNA saté-

lite aparentemente não interfere em nenhuma fase do ciclo do CMV, apesar de ter sido reportado que, dependendo do satRNA, do isolado viral e da variedade da hospedeira, a expressão de sintomas pode ser aumentada ou diminuída (Garcia-Arenal et al., 1987). Crescenzi et al. (1993) reportaram que a ocorrência do satRNA juntamente com CMV levou à geração de sintomas intensos de necrose em plantios de tomate na Itália, o que inviabilizou a produção da região afetada.

#### **2.6.4. ESTRATÉGIA DE REPLICAÇÃO**

A replicação do vírus segue o padrão dos vírus de RNA senso positivo: o RNA serve de molde para a geração de versões complementares do mesmo (senso negativo) e os RNAs genômicos e subgenômicos são gerados a partir destes. As proteínas são expressas a partir dos genes virais no citoplasma e o deslocamento das partículas se dá via plasmodesmata (célula-a-célula) e floema (a longa distância) (Zitter & Murphy, 2009). Esta movimentação se dá pela ação da proteína de movimento e da proteína do capsídeo. De acordo com Canto *et al.* (1997), isolados que tiveram o RNA 3 modificado para expressar a proteína GFP ao invés da proteína de movimento e do capsídeo se viram incapazes de se deslocar para além do sítio de infecção, permanecendo restritos a apenas uma ou três células da epiderme.

#### **2.6.5. TRANSMISSÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *CUCUMOVIRUS***

É transmitido por mais de 80 espécies de afídeos de maneira não-circulativa, via picada de prova (geralmente em menos de 60 segundos), dentre elas *Myzus persicae* e *Aphis gossypi*, que por sua vez podem promover misturas entre diferentes vírus e levar a eventos de recombinação, contribuindo com o surgimento de novos isolados e espécies (Roossinck, 2002).

#### **2.6.6. FONTES DE RESISTÊNCIA A ESPÉCIES DE *CUCUMOVIRUS***

A resistência genética ao CMV foi detectada e está em uso especialmente em cultivares de pepino e espinafre. Fontes de resistência foram detectadas em tomate, como a introgridida em *S. lycopersicum* a partir de *S. chilense* (Stamova & Chetelat, 2000), capaz de resistir à ação de isolados do Subgrupo I com características de um gene dominante, sendo posteriormente denominado *Cmr* (cucumber mosaic resistance). Apesar disto, esta resistência não foi ainda incorporada em cultivares comerciais de tomateiro.

Como a taxa de variação nessas sequências é consideravelmente elevada, os genes de resistência detectados até o momento não conferem resistência de amplo espectro. Como o CMV apresenta grande variação em sua sequência, o uso da transgenia apresenta uma alternativa bem mais interessante, se comparada ao uso de genes naturalmente expressos. O uso de transgenia para o controle de cucumovíroses foi bastante estudado nas últimas duas décadas, utilizando-se da expressão da proteína do capsídeo por parte do transgene em diferentes hospedeiras, principalmente tabaco e algumas cucurbitáceas (Gonsalves et al., 1994, Quemada et al., 1991, Shin et al., 2002). Alternativas para o melhoramento tradicional são o uso dos satRNAs (que podem ser combinados com proteínas do capsídeo) (Yie et al., 1992) e também de indutores de resistência, como rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR - Plant growth-promoting rhizobacteria) das espécies *Pseudomonas fluorescens* (isolado 89B-27) e *Serratia marcescens* (isolado 90-166). Nos tratamentos com ambos, Raupach et al. (1996) observaram redução na área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC), demonstrando o potencial destes indutores como geradores de populações de pepinos e tomateiros resistentes a CMV. Zehnder et al. (2000) comprovaram a manutenção dessa resistência no campo; e o uso de outras espécies de rizobactérias em cucurbitáceas demonstram a eficiência desta técnica em diferentes hortaliças (El-Borllosy & Oraby, 2012). O uso de modelos como *Arabidopsis thaliana*, levou a descoberta de outros genes de resistência, como o RCY1, da mesma família do gene *Sw-5* (CC-NBS-LRR), que requer ácido salicílico para expressar uma resposta de resistência a um isolado de CMV (Takahashi et al., 2002) ethylene and a novel signal transduction mechanism</title><secondary-title>The Plant Journal</secondary-title></titles><periodical><full-title>The Plant Journal</full-title></periodical><pages>655-667</pages><volume>32</volume><number>5</number><dates><year>2002</year></dates><isbn>1365-313X</isbn><urls></urls></record></Cite></EndNote>, com potencial para uso em transgenia.

### 3. SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES NO TOMATEIRO

O desenvolvimento de mapas genéticos extremamente densos (com um número elevado de marcadores) tem permitido a localização genômica/isolamento de genes e o uso de diversos marcadores moleculares em programas de seleção assistida de genótipos superiores (Barone et al., 2009, Foolad, 2007, Pillen et al., 1996). Diversos genes de resistência de tomateiro a doenças têm sido isolados via mapeamento genético/físico de alta resolução (Barone & Frusciante, 2007). Da mesma forma, diversos loci controlando resistência a doenças virais têm sido mapeados em tomateiro (Barone & Frusciante, 2007, Foolad, 2007) e muitos desses genes já foram isolados e caracterizados (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Principais genes/loci de resistência a vírus caracterizados em germoplasma de *Solanum* (sect. *Lycopersicon*) com destaque para os mais utilizados em programas de melhoramento genético.

<b><i>Cmr</i></b>	Gene controlando resistência a isolados de <i>Cucumber mosaic virus</i> . Foi introgridido a partir de acessos de <i>S. chilense</i> e está localizado no <b> cromossomo 12</b> (Stamova & Chetelat, 2000).
<b><i>rt</i></b>	Gene recessivo que controla resistência a “risca-do-tomateiro” causado por isolados de potyvírus (Nagai, 1993). Foi introgridido de <i>S. pimpinellifolium</i> ‘PI-126410’ e incorporado na cultivar Ângela. <b>Este locus ainda não foi mapeado.</b>
<b><i>pot-1</i></b>	Resistência a isolado de <i>Potato virus Y</i> (potyvírus) derivada de <i>S. habrochaites</i> . Codifica um “ <i>translation initiation factor 4E</i> ” (eIF4E), localizado no <b> cromossomo 3</b> (Ruffel et al., 2005).
<b><i>Sw-1<sup>a</sup></i></b> <b><i>Sw-1<sup>b</sup></i></b> <b><i>sw-2</i></b> <b><i>sw-3</i></b> <b><i>sw-4</i></b>	Os primeiros estudos voltados à resistência a TSWV demonstraram a existência de cinco genes em acessos de <i>S. pimpinellifolium</i> (Samuel et al., 1930) e <i>S. lycopersicum</i> ‘Rey de los Tempranos’ (Holmes, 1948). Estudos genéticos conduzidos por Finlay (1953) indicaram a natureza complexa da resistência, envolvendo a ação conjunta de dois genes dominantes ( <i>Sw-1<sup>a</sup></i> e <i>Sw-1<sup>b</sup></i> ) e três genes recessivos ( <i>sw-2</i> , <i>sw-3</i> e <i>sw-4</i> ). <b>Esses genes não foram ainda mapeados.</b>
<b><i>Sw-5</i></b>	Esse locus foi introgridido de <i>S. peruvianum</i> e apresenta um amplo espectro de ação contra distintas espécies de <i>Tospovirus</i> que infectam tomateiro (Dianese et al., 2011, Dianese et al., 2010). <i>Sw-5</i> é membro da família CC-NBS-LRR de genes R (Boiteux & Giordano, 1993, Brommonschenkel et al., 2000, Spassova et al., 2001). O gene <i>Sw-5</i> foi mapeado no <b> cromossomo 9</b> e gene reside dentro de um complexo ( <i>cluster</i> ) formado por cinco cópias análogas de um mesmo gene ancestral, denominadas <i>Sw-5a</i> a <i>Sw-5e</i> (Spassova et al., 2001). Análises com plantas transgênicas indicaram que a cópia <i>Sw-5b</i> é essencial para a expressão do fenótipo de resistência.
<b><i>Sw-6</i></b>	Roselló et al. (1999) encontraram altos níveis de resistência (do tipo hipersensibilidade) nos acessos de <i>S. peruvianum</i> ‘PI-126935’ e ‘PI-126944’. Estudos de herança com um dos acessos indicou herança monogênica dominante. Todos os acessos contendo o locus <i>Sw-6</i> apresentaram reações de hipersensibilidade.

<b><i>Sw-7</i></b>	Proveniente de <i>S. chilense</i> . Este novo gene controla resistência contra distintas variantes de TSWV, incluindo alguns isolados que superam a resistência do gene <i>Sw-5</i> . O locus <i>Sw-7</i> foi localizado próximo ao marcador SSR20 no <b>cromossomo 12</b> (Dockter <i>et al.</i> , 2009)
<b><i>Tm-1</i></b>	O gene <i>Tm</i> (derivado de <i>S. habrochaites</i> – <b>cromossomo 2</b> ) confere resistência a patotipos 0 de <i>Tomato mosaic virus</i> (Lanfermeijer <i>et al.</i> , 2005).
<b><i>Tm-2</i></b>	O gene <i>Tm-2</i> é derivado de <i>S. peruvianum</i> e está localizado no <b>cromossomo 9</b> . Esse gene é membro da família CC-NBS-LRR e confere resistência aos patotipos 0 e 1 de <i>Tomato mosaic virus</i> (Lanfermeijer <i>et al.</i> , 2005).
<b><i>Tm-2<sup>2</sup></i></b>	O gene <i>Tm-2<sup>2</sup></i> (= <i>Tm-2<sup>a</sup></i> ) é um alelo do gene <i>Tm-2</i> estando, portanto, também localizado no <b>cromossomo 9</b> . Esse gene é membro da família CC-NBS-LRR de genes R e confere resistência ampla contra todos os patotipos de <i>Tomato mosaic virus</i> (Lanfermeijer <i>et al.</i> , 2005).
<b><i>Ty-1</i></b>	Resistência parcial ao begomovírus <i>Tomato yellow leaf curl virus</i> (Zamir <i>et al.</i> , 1994). É também efetivo contra espécies virais de genoma bipartido do Brasil (Boiteux <i>et al.</i> , 2007a). Localizado no <b>cromossomo 6</b> .
<b><i>Ty-2</i></b>	Introgredido de <i>S. habrochaites</i> (Hanson <i>et al.</i> , 2006). Funciona também contra espécies de genoma bipartido do Brasil (Boiteux <i>et al.</i> , 2007b). Localização: <b>cromossomo 11</b> .
<b><i>Ty-3</i></b>	Introgredido dos acessos de <i>S. chilense</i> ‘LA-1932’ e ‘LA-2779’ (Hutton <i>et al.</i> , 2012). Está ligado ao locus <i>Ty-1</i> no <b>cromossomo 6</b> (Ji <i>et al.</i> , 2007).
<b><i>Ty-4</i></b>	Introgredido de <i>S. chilense</i> ‘LA-1932’, localizado no <b>cromossomo 3</b> (Ji <i>et al.</i> , 2009).
<b><i>Ty-5/ty-5</i></b>	Introgressão de <i>S. peruvianum</i> presente no <b>cromossomo 4</b> (Anbider <i>et al.</i> , 2009) e que se co-localiza com um fator de resistência recessivo ( <i>ty-5</i> ) derivado do híbrido ‘Tyking’ (Hutton <i>et al.</i> , 2012).
<b><i>tcm-1</i></b>	Este locus recessivo é também derivado do híbrido ‘Tyking’. O locus <i>tcm-1</i> condiciona um amplo espectro de resistência contra distintas espécies de begomovírus com genoma bipartido e monopartido (Giordano <i>et al.</i> , 2005a; Garcia-Cano <i>et al.</i> , 2008; Pereira-Carvalho <i>et al.</i> , 2010).

As técnicas genético-moleculares têm também auxiliado em diagnose, bem como em pesquisas básicas envolvendo estudos de herança e investigações sobre os mecanismos de resistência contra pestes e patógenos. Esse aporte de informações de genômica e bioinformática têm aumentado a eficiência e oferecido uma maior segurança no processo de seleção de plantas superiores dentro dos programas de melhoramento. A detecção mais precisa de patógenos usando estratégias moleculares tem permitido aumentar a qualidade sanitária de sementes comerciais evitando danos aos produtores advindos da introdução de doenças em novas áreas de expansão agrícola.

### 3.1. O GENOMA DO TOMATEIRO

O sequenciamento completo do genoma do tomateiro foi recentemente obtido (The Tomato Genome Consortium, 2012). Esse trabalho foi conduzido por um consórcio de países que sequenciaram regiões do genoma de todos os 12 cromossomos do tomateiro e de um acesso de *S. pimpinellifolium* (Barone et al., 2009, Foolad, 2007, Mueller et al., 2005). O número estimado de genes se encontra em torno de 32.000. Antes da obtenção do genoma completo, diversos genes de resistência a doenças foram localizados nos diferentes cromossomos via mapeamento genético e físico de alta resolução. Além disso, as informações moleculares advindas desse projeto têm permitido a síntese de “primers” de PCR altamente específicos que estão sendo empregados para gerar novas classes de marcadores moleculares associados com fenótipos de interesse para o melhoramento genético. Esses marcadores têm funcionado como instrumentos importantes em sistemas de seleção assistidas por marcadores (SAM) para piramidizar características de interesse em um único material genético. Características muito importantes, como produtividade e o teor de sólidos são governadas por muitos genes, grandemente influenciadas pelo ambiente. Regiões do genoma que possuem genes controlando a expressão dessas características são denominadas de *quantitative trait loci* ou QTLs (Flint & Mott, 2001). Os genes responsáveis por QTLs podem estar localizados em diferentes cromossomos e apresentar diferentes contribuições na expressão do fenótipo em questão. Marcadores moleculares associados com QTLs têm sido utilizados para monitorar a introgressão/incorporação de QTLs de interesse em linhagens elite. De fato, o tomateiro é uma das plantas que serviram modelo para o isolamento via mapeamento dos primeiros QTLs envolvendo tamanho e massa de fruto (Tanksley, 2004).

## 4. PERSPECTIVAS

O tomate é uma cultura exigente em insumos (fertilizantes e defensivos) e, em média, o custo de produção total nos sistemas conduzidos com alto nível tecnológico são elevados. Este custo pode ser compensado pelos níveis de produtividade mais elevados, proporcionando razoável retorno econômico, no entanto, a maior parte dos produtores opera com altos custos de produção e baixa rentabilidade, devido ao custo para o controle e as perdas associadas com doenças de diferentes etiologias virais. O recente cenário mercadológico sinaliza para uma irreversível demanda por alimentos seguros, sem resíduos e produzidos em sistemas de gestão que considere aspectos sócio-ambientais. Questões como produção orgânica, rastreabilidade e sustentabilidade de cultivo são os atuais desafios tecnológicos do tomateiro. Neste cenário, o desenvolvimento de variedades com resistência a doenças de etiologia viral é de suma importância.

No Brasil, a grande utilização de sementes e mudas importadas representa uma constante ameaça de introdução de patógenos e/ou variantes de patógenos bem como vetores virais em áreas de cultivo previamente isentas. Neste contexto, outras ações de pesquisa envolvem o desenvolvimento de materiais genéticos com resistência a patógenos presentes no Brasil, mas também patógenos potenciais para prevenir problemas de produção. Por exemplo, nos períodos iniciais e de maior severidade da epidemia de geminivírus houve um desabastecimento de tomate.

Outro significativo avanço tem sido o estabelecimento de parcerias entre instituições públicas e empresas privadas nacionais e estrangeiras dentro da nova Lei de Inovação tecnológica. O sinergismo dessas parcerias tem permitido uma redução considerável no tempo entre desenvolvimento e adoção das tecnologias e variedades, tendo o apoio dos sistemas de comercialização com maior capilaridade e abrangência das empresas privadas. O resultado tem sido a geração de produtos de inovação em menor tempo e com menor custo, garantindo uma pronta transferência e incorporação destas cultivares resistentes nas cadeias do agronegócio de tomate. Com esse círculo virtuoso, espera-se intensificar e fortalecer a participação no mercado de produtos tecnológicos das instituições públicas. Essa rede de parcerias tem permitido a liberação de um número grande cultivares para o agronegócio de tomate do Brasil. Exemplos recentes são os lançamentos, pela Embrapa Hortaliças, de híbridos com um ou mais fatores de resistência virais tais como ‘BRS Nagai’ (tipo tipo Santa Cruz alongado com resistência a tospovírus e begomovírus); ‘BRS Couto’ (segmento minissaladete com resistência a begomovírus); ‘BRS Montese’ (tipo italiano com resistência a tospovírus) e ‘BRS Portinari’ (caqui longa-vida com resistência begomovírus) e ‘BRS Imigrante’ (com resistência a Fusarium raça 3 e begomovírus).

Porém é sempre importante lembrar que somente resistência genética não garante o sucesso de uma variedade ou híbrido. Os produtores, as indústrias processadoras e o mercado consumidor têm demandado variedades de tomate que combinem coloração vermelha intensa, teor de sólidos solúveis, além de outros aspectos agronômicos de rendimento e tolerância a fatores abióticos. Isso significa, muitas vezes, o processo de executar tarefas visando atender demandas múltiplas que são, muitas vezes, não complementares ou, algumas vezes, até mesmo conflitantes. Para tal, os programas de melhoramento genético devem apresentar uma estrutura flexível, permitindo rápidos ajustes e respostas de acordo com as mudanças de tendências de mercado. Além disso, demanda um constante acompanhamento e trabalho conjunto com o sistema produtivo para antecipar e enfrentar o potencial surgimento de novas doenças de etiologia viral que venham impor alguma nova e séria limitação no cultivo do tomateiro no país.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, M. J., HEINZE, C., JACKSON, A. O., KREUZE, J. F., MACFARLANE, S. A. & ORRANCE, L. 2011. Family *Virgaviridae*. In: AMQ, K., ADAMS, M. J., CARSTENS, E. B. & ELLIOT, J. M. (eds.) *Virus taxonomy. 9th report of the International Committee for Taxonomy of Viruses*. San Diego Elsevier Academic Press.
- ADAMS, M. J., KING, A. M. Q. & CARSTENS, E. B. 2013. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2013). *Archives of Virology*, 1-8.
- AGRIANUAL 2013. Anuário da Agricultura Brasileira. . São Paulo.
- ALMEIDA, J., RM, G., FM, Z. & EPB, F. 1997a. Molecular characterization of novel tomato and Sida infecting geminiviruses. In: GENETICS, B. J. O. (ed.) *26a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular*. . Caxambu, MG.
- ALMEIDA, J. A., LEAL, A. M. B., ZERBINI, F. M. & FONTES, E. P. B. 1997b. Molecular characterization of two novel tomato-infecting geminiviruses from Brazil. *26a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular*. Caxambu, MG.
- AMBROZEVICIUS, L. P., CALEGARIO, R. F., FONTES, E. P. B., G, C. M. & ZERBINI, F. M. 2002. Genetic diversity of begomovirus infecting toma-

to and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 27, 372-377.

ANBINDER, I., REUVENI, M., AZARI, R., PARAN, I., NAHON, S., SHLOMO, H., CHEN, L., LAPIDOT, M. & LEVIN, I. 2009. Molecular dissection of *Tomato leaf curl virus* resistance in tomato line TY172 derived from *Solanum peruvianum*. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 119, 519-530.

APEL, K. & HIRT, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.

ARAMBURU, J. & MARTI, M. 2003. The occurrence in north-east Spain of a variant of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) that breaks resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum*) containing the *Sw-5* gene. *Plant Pathology*, 52, 407-407.

ARAÚJO, M., DE ÁVILA, A., CUPERTINO, F. & MALUF, W. Year. *Lycopersicon hirsutum* nova fonte de resistência ao vírus do viracabeca (TSWV). In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 1983.

ASCENCIO-IBÁÑEZ, J., DIAZ-PLAZA, R., MÉNDEZ-LOZANO, J., MONSALVE-FONNEGRA, Z., ARGÜELLO-ASTORGA, G. & RIVERA-BUSTAMANTE, R. 1999. First report of *Tomato yellow leaf curl geminivirus* in Yucatan, Mexico. *Plant Disease*, 83, 1178-1178.

ATREYA, C., RACCAH, B. & PIRONE, T. 1990. A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmissibility of a potyvirus. *Virology*, 178, 161-165.

BANDLA, M., CAMPBELL, L., ULLMAN, D. & SHERWOOD, J. 1998. Interaction of tomato spotted wilt tospovirus (TSWV) glycoproteins with a thrips midgut protein, a potential cellular receptor for TSWV. *Phytopathology*, 88, 98-104.

BARBOSA, J., TEIXEIRA, A., MOREIRA, A., CAMARGO, L., FILHO, A. B., KITAJIMA, E. & REZENDE, J. 2008. First report of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato crops in Brazil. *Plant Disease*, 92, 1709-1709.

BARBOSA, J. C., COSTA, H., GIORIA, R. & REZENDE, J. A. 2011. Occurrence of *Tomato chlorosis virus* in tomato crops in five Brazilian states. *Tropical Plant Pathology*, 36, 256-258.

- BARONE, A., DI MATTEO, A., CARPUTO, D. & FRUSCIANTE, L. 2009. High-throughput genomics enhances tomato breeding efficiency. *Current genomics*, 10, 1.
- BARONE, A. & FRUSCIANTE, L. 2007. Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogens in tomato. *Marker-Assisted Selection, Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*, 153-164.
- BENDAHMANE, A., KÖHM, B. A., DEDI, C. & BAULCOMBE, D. C. 1995. The coat protein of potato virus X is a strain-specific elicitor of Rx1-mediated virus resistance in potato. *The Plant Journal*, 8, 933-941.
- BERGUER, P. H., ADAMNS, M. J., BARNETT, O. W., BRUNT, A. A., HAMMOND, J., HILL, J. H., JORDAN, R. L., KASHIWAZAKI, S., RYBICKI, E. P., SPENCE, N., STENGER, D. C., OHKI, S. T., UYEDA, I., VAN ZAAZEN, A., VALKONEN, J. P. & VETTEN, H. J. 2005. Family Potyviridae. In: FAUQUET, C. M., MAYO, M. A., MAANILOFF, J., DESSELBERGER, U. & BALL, L. A. (eds.) *Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego.: Elsevier Academic Press.
- BEZERRA, I., DE O. RESENDE, R., POZZER, L., NAGATA, T., KORMELINK, R. & DE AVILA, A. 1999. Increase of tospoviral diversity in Brazil with the identification of two new tospovirus species, one from chrysanthemum and one from zucchini. *Phytopathology*, 89, 823-830.
- BEZERRA, I., RIBEIRO, S., ÁVILA, A. & GIORDANO, L. 1996. Survey of geminivirus infection in tomato producing areas in Federal District. *VIII Encontro Nacional de Virologia. São Lourenço, MG*.
- BHATIA, P., AAHWATH, N., SENARATNA, T. & MIDMORE, D. 2004. Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78, 1-21.
- BIAN, X.-Y., THOMAS, M. R., RASHEED, M. S., SAEED, M., HANSON, P., DE BARRO, P. J. & REZAIAN, M. A. 2007. A recessive allele (*tgr-1*) conditioning tomato resistance to geminivirus infection is associated with impaired viral movement. *Phytopathology*, 97, 930-937.
- BISARO, D. M. 2006. Silencing suppression by geminivirus proteins. *Virology*, 344, 158-168.

- BOITEUX, L. & DE AVILA, A. 1994. Inheritance of a resistance specific to tomato spotted wilt tospovirus in *Capsicum chinense* 'PI 159236'. *Euphytica*, 75, 139-142.
- BOITEUX, L., FONSECA, M., GIORDANO, L. B. & MELO, P. 2012a. Melhoramento Genético. In: CLEMENTE, F. & BOITEUX, L. O. (eds.) *Produção de Tomate para Processamento Industrial*. 1 ed. Brasília-DF.: Embrapa.
- BOITEUX, L. & GIORDANO, L. D. B. 1993. Genetic basis of resistance against two Tospovirus species in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Euphytica*, 71, 151-154.
- BOITEUX, L., GIORDANO, L. D. B., FURUMOTO, O. & ARAGAO, F. 1995. Estimating the pleiotropic effect of the jointless $\square$ 2 gene on the processing and agronomic traits of tomato by using near $\square$ isogenic lines. *Plant Breeding*, 114, 457-459.
- BOITEUX, L. S., FONSECA, M. E. N., VIERA, J. V. & PEREIRA-CARVALHO, R. C. 2012b. Melhoramento para resistência a doenças virais. . In: BORÉM, A. & FRITSCH-NETO, R. (eds.) *Melhoramento de Plantas para Condições de Estresses Bióticos*. Visconde de Rio Branco, MG: Suprema.
- BOITEUX, L. S., GIORDANO, L. B., DE AVILA, A. & SANTOS, J. R. M. 1993. TSW 10: Uma linhagem de tomate com resistência a três espécies de Tospovirus. *Horticultura Brasileira* 11, 163-164.
- BOITEUX, L. S., OLIVEIRA, V. R., SILVA, C. H., MAKISHIMA, N., INOUE-NAGATA, A. K., FONSECA, M. E. D. N. & GIORDANO, L. D. B. 2007a. Reaction of tomato hybrids carrying the *Ty*-1 locus to Brazilian bipartite Begomovirus species. *Horticultura Brasileira*, 25, 20-23.
- BOITEUX, L. S., PEREIRA-CARVALHO, R. C., INOUE-NAGATA, A. K., FONSECA, M. E. N., RESENDE, R. O. & FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. 2007b. Reação de acessos de tomateiro portando o gene *Ty*-2 (introgridido de *Solanum habrochaites* f. *glabratum*) a um isolado de *Begomovirus* de genoma bipartido. *47º Congresso Brasileiro de Olericultura*. Porto Seguro: Horticultura Brasileira.
- BOL, J., LINTHORST, H. & CORNELISSEN, B. 1990. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. *Annual Review of Phytopathology*, 28, 113-138.

- BOQUEL, S., AMELINE, A. & GIORDANENGO, P. 2011. Assessing aphids potato virus Y-transmission efficiency: A new approach. *Journal of virological methods*, 178, 63-67.
- BOS, L. 1999. *Plant viruses, unique and intriguing pathogens: a textbook of plant virology*, Backhuys Publishers.
- BOSTOCK, R. & STERMER, B. 1989. Perspectives on wound healing in resistance to pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 27, 343-371.
- BRIDDON, R. & MARKHAM, P. 1995. Family Geminiviridae. In: MURPHY, F., FAUQUET, C., BISHOP, D., GHABRIAL, S., JARVIS, A., MARTELLI, G., MAYO, M. & (EDS.), S. M. (eds.) *Virus Taxonomy. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. . Vienna and New York: Springer-Verlag.
- BRIDDON, R., PINNER, M., STANLEY, J. & MARKHAM, P. 1990. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. *Virology*, 177, 85-94.
- BRIDDON, R. W. & STANLEY, J. 2009. *Geminiviridae. Encyclopedya of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd: Chischester.
- BRIGNETI, G., VOINNET, O., LI, W. X., JI, L. H., DING, S. W. & BAULCOMBE, D. C. 1998. Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *The EMBO journal*, 17, 6739-6746.
- BRITTLEBANK, C. 1919. Tomato diseases. *Journal of the Department of Agriculture in Victoria.*, 17, 1348-1352.
- BROMMONSCHENKEL, S. H., FRARY, A., FRARY, A. & TANKSLEY, S. D. 2000. The broad-spectrum tospovirus resistance gene Sw-5 of tomato is a homolog of the root-knot nematode resistance gene Mi. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13, 1130-1138.
- BROWN, J., BIRD, J., BANKS, G., SOSA, M., KIESLER, K., CABRERA, I. & FORNARIS, G. 1995. First report of an epidemic in tomato caused by two whitefly-transmitted geminiviruses in Puerto Rico. *Plant Disease*, 79.
- BROWN, J., FAUQUET, C., BRIDDON, R., ZERBINI, F., MORIONES, E. & NAVAS-CASTILLO, J. 2011. Family *Geminiviridae*. In: KING AMQ,

- ADAMS AJ, CARSTENS EB & (EDS), L. E. (eds.) *Virus taxonomy. 9th report of the international committee on taxonomy of viruses.* . San Diego: Elsevier Academic Press.
- BUCHER, E., SIJEN, T., DE HAAN, P., GOLDBACH, R. & PRINS, M. 2003. Negative-strand tospoviruses and tenuiviruses carry a gene for a suppressor of gene silencing at analogous genomic positions. *Journal of virology*, 77, 1329-1336.
- CALEGARIO, R. F., FERREIRA, S. D. S., 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.
- CANADY, M., STEVENS, M., BARINEAU, M. & SCOTT, J. 2001. Tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in tomato derived from *Lycopersicon chilense* Dun. LA 1938. *Euphytica*, 117, 19-25.
- CANTO, T., PRIOR, D. A., HELLWALD, K.-H., OPARKA, K. J. & PALUKAITIS, P. 1997. Characterization of Cucumber mosaic virus. *Virology*, 237, 237-248.
- CASTELLO, J. D., ROGERS, S. O., STARMER, W. T., CATRANIS, C. M., MA, L., BACHAND, G. D., ZHAO, Y. & SMITH, J. E. 1999. Detection of tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient glacial ice. *Polar Biology*, 22, 207-212.
- CASTILLO, A. G., COLLINET, D., DERET, S., KASHOGGI, A. & BEJARANANO, E. R. 2003. Dual interaction of plant PCNA with geminivirus replication accessory protein (Ren) and viral replication protein (Rep). *Virology*, 312, 381-394.
- CERVERA, M., CABEZAS, J., SIMON, B., MARTINEZ-ZAPATER, J., BEITIA, F. & CENIS, J. 2000. Genetic relationships among biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) based on AFLP analysis. *Bulletin of Entomological Research*, 90, 391-396.
- CHEEMA, D. & DHALIWAL, M. 2005. Hybrid tomato breeding. *Journal of New Seeds*, 6, 1-14.
- CHEN, C., CHEN, T., LIN, Y., YEH, S. & HSU, H. 2005. A chlorotic spot disease on calla lilies (*Zantedeschia* spp.) is caused by a tospovirus se-

- rologically but distantly related to Watermelon silver mottle virus. *Plant Disease*, 89, 440-445.
- CHO, J., CUSTER, D., BROMMONSCHENKEL, S. & TANKSLEY, S. 1995. Conventional breeding: host-plant resistance and the use of molecular markers to develop resistance to tomato spot wilt virus in vegetables. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops* 431, 367-378.
- CIUFFO, M., FINETTI, SIALER, M., GALLITELLI, D. & TURINA, M. 2005. First report in Italy of a resistance-breaking strain of *Tomato spotted wilt virus* infecting tomato cultivars carrying the Sw-5 resistance gene. *Plant Pathology*, 54, 564-564.
- COLLINGE, D. B. & SLUSARENKO, A. J. 1987. Plant gene expression in response to pathogens. *Plant Molecular Biology*, 9, 389-410.
- CONTI, M., GALLITELLI, D., VLISA, LOVISOLO, O., MARTELLI, G. P., RAGOZZINO, A., RANA, G. L. & VOVLAS, C. 2001. Principales Virus de Las Plantas Hortícolas. In: MUNDI-PRENSA, E. (ed.).
- COOLEY, M. B., PATHIRANA, S., WU, H.-J., KACHROO, P. & KLESSIG, D. F. 2000. Members of the Arabidopsis HRT/RPP8 family of resistance genes confer resistance to both viral and oomycete pathogens. *The Plant Cell Online*, 12, 663-676.
- CRESCENZI, A., BARBAROSSA, L., GALLITELLI, D. & MARTELLI, G. 1993. Cucumber mosaic cucumovirus populations in Italy under natural epidemic conditions and after a satellite-mediated protection test. *Plant Disease*, 77, 28-33.
- CRONIN, S., VERCHOT, J., HALDEMAN-CAHILL, R., SCHAAD, M. C. & CARRINGTON, J. C. 1995. Long-distance movement factor: a transport function of the potyvirus helper component proteinase. *The Plant Cell Online*, 7, 549-559.
- CUNHA, L. C. D., RESENDE, R. D. O., NAGATA, T. & INOUE-NAGATA, A. K. 2004. Distinct features of *Pepper yellow mosaic virus* isolates from tomato and sweetpepper. *Fitopatologia Brasileira*, 29, 663-667.
- CZOSNEK, H., NAVOT, N. & LATERROT, H. 1990. Geographical distribution of tomato yellow leaf curl virus. A first survey using a specific DNA probe. *Phytopathologia Mediterranea*, 24, 1-6.

- DANGL, J. L. & JONES, J. D. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *nature*, 411, 826-833.
- DE AVILA, A., HAAN, P. D., KITAJIMA, E., KORMELINK, R., RESENDE, R. D. O., GOLDBACH, R. & PETERS, D. 1992. Characterization of a distinct isolate of tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Impatiens* sp. in the Netherlands. *Journal of Phytopathology*, 134, 133-151.
- DE AVILA, A. C. 1993. Vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV): organização do genoma, taxonomia, diagnose e controle. *Horticultura Brasileira*, 11, 179-183.
- DE ÁVILA, A. C., INOUE-NAGATA, A. K., COSTA, H., BOITEUX, L. S., NEVES, L. O. Q., PRATES, R. S. & BERTINI, L. A. 2004. Ocorrência de viroses em tomate e pimentão na região serrana do estado do Espírito Santo. *Horticultura Brasileira*, 22, 655-658.
- DE BARRO, P., TRUEMAN, J. & FROHLICH, D. 2005. *Bemisia argentifolii* is a race of *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): the molecular genetic differentiation of *B. tabaci* populations around the world. *Bulletin of Entomological Research*, 95, 193-203.
- DE BARRO, P. J., DRIVER, F., TRUEMAN, J. W. & CURRAN, J. 2000. Phylogenetic Relationships of World Populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) Using Ribosomal ITS1. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16, 29-36.
- DE BARRO, P. J., LIU, S.-S., BOYKIN, L. M. & DINSDALE, A. B. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual review of entomology*, 56, 1-19.
- DE BREUIL, S., ABAD, J., NOME, C., GIOLITTI, F., LAMBERTINI, P. & LENARDON, S. 2007. Groundnut ringspot virus: an emerging Tospovirus inducing disease in peanut crops. *Journal of Phytopathology*, 155, 251-254.
- DE HAAN, P., ULTZEN, T., PRINS, M., GIELEN, J., GOLBACH, R. & VAN GRINSVEN, M. A. H. 1996. Transgenic tomato hybrids resistant to tomato spotted wilt virus infection. *Proceedings of the international symposium on tospoviruses and thrips of floral and vegetable crops*, 431, 417-426.
- DE HAAN, P., WAGEMAKERS, L., PETERS, D. & GOLDBACH, R. 1989. Molecular cloning and terminal sequence determination of the S and MRNAs of *Tomato spotted wilt virus*. *Journal of General Virology*, 70, 3469-3473.

- DELLA VECCHIA, P. T. & KOCH, P. S. 2000. Tomates longa vida: o que são, como foram desenvolvidos. *Horticultura Brasileira*, 18, 3-4.
- DIANESE, E., FONSECA, M., INOUE-NAGATA, A., RESENDE, R. & BOITEUX, L. 2011. Search in *Solanum* (section *Lycopersicon*) germplasm for sources of broad-spectrum resistance to four *Tospovirus* species. *Euphytica*, 180, 307-319.
- DIANESE, É. C., DE FONSECA, M. E. N., GOLDBACH, R., KORMELINK, R., INOUE-NAGATA, A. K., RESENDE, R. O. & BOITEUX, L. S. 2010. Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the Sw-5 (*Tospovirus* resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Molecular Breeding*, 25, 133-142.
- DIANESE, É. C., RESENDE, R. O. & INOUE-NAGATA, A. K. 2008. Alta incidência de *Pepper yellow mosaic virus* em tomateiro em região produtora no Distrito Federal. *Tropical Plant Pathology*, 33, 67-68.
- DIANESE, É. D. C. 2009a. Estratégias para o desenvolvimento de resistência ampla e durável em *Solanum* (secção *Lycopersicon*) a *Potyvirus* e *Tospovirus*.
- DIANESE, É. D. C. 2009b. *Estratégias para o desenvolvimento de resistência ampla e durável em Solanum (secção Lycopersicon) a Potyvirus e Tospovirus*. Tesis de Doutorado Universidade de Brasília.
- DÍEZ, M., ROSELLÓ, S., JORDÁ, C., LACASA, A., COSTA, J. & NUEZ, F. 1995. Agronomic behaviour of resistant tomato cvs. and lines to TSWV and influence of inoculation methods. *Acta Horti*, 402, 527-532.
- DING, S.-W., ANDERSON, B. J., HAASE, H. R. & SYMONS, R. H. 1994. New overlapping gene encoded by the cucumber mosaic virus genome. *Virology*, 198, 593-601.
- DINSDALE, A., COOK, L., RIGINOS, C., BUCKLEY, Y. M. & DE BARRO, P. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) Mitochondrial cytochrome oxidase I to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America* 103, 196-208.
- DOCKTER, K. G., O'NEIL, D. S., PRICE, D. L., SCOTT, J. & STEVENS, M. R. 2009. Molecular mapping of the Tomato spotted wilt virus resistance gene Sw-7 in tomato. *HortScience* 44, 1123.

- DOLJA, V. V., HALDEMAN-CAHILL, R., MONTGOMERY, A. E., VANDENBOSCH, K. A. & CARRINGTON, J. C. 1995. Capsid protein determinants involved in cell-to-cell and long distance movement of tobacco etch potyvirus. *Virology*, 206, 1007-1016.
- DONG, J.-H., CHENG, X.-F., YIN, Y.-Y., FANG, Q., DING, M., LI, T.-T., ZHANG, L.-Z., SU, X.-X., MCBEATH, J. H. & ZHANG, Z.-K. 2008. Characterization of tomato zonate spot virus, a new tospovirus in China. *Archives of Virology*, 153, 855-864.
- DOOLITTLE, S. 1920. The mosaic disease of cucurbits. *bulletin of the U.S Department of Agriculture*, 879.
- EL-BOROLLOS, A. M. & ORABY, M. M. 2012. Induced systemic resistance against **Cucumber mosaic cucumovirus** and promotion of cucumber growth by some plant growth-promoting rhizobacteria. *Annals of Agricultural Sciences*, 57, 91-97.
- EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION, E. P. P. O. 2005. Tomato chlorosis crinivirus. *EPPO Bulletin*, 35, 439-441.
- FAO. 2008. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>[Online]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [Accessed 2013].
- FARIA, J., SOUZA-DIAS, J., SLACK, S. & MAXWELL, D. 1997. A new geminivirus associated with tomato in the State of São Paulo, Brazil. *Plant Disease*, 81, 423-423.
- FARIA, J. & ZERBINI, F. 2000. Família Geminiviridae - Taxonomia, replicação e movimento. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 8, 27-57.
- FAUQUET, C., BRIDDON, R., BROWN, J., MORIONES, E., STANLEY, J., ZERBINI, M. & ZHOU, X. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology*, 153, 783-821.
- FAUQUET, C. & STANLEY, J. 2005. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: a review of geminivirus taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. *Archives of Virology*, 150, 2151-2179.
- FAUQUET, C. M., MAYO, M., MANIHOFF, J., DESSELBERGER, U. & BALL, L. A. 2005. *Virus taxonomy: VIIIth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Academic Press.

- FERNANDES, F. R., ALBUQUERQUE, L. C. D. & INOUE-NAGATA, A. K. 2010. Development of a species-specific detection method for three Brazilian tomato begomoviruses. *Tropical Plant Pathology*, 35, 043-047.
- FERNANDES, F. R., DE ALBUQUERQUE, L. C., DE BRITTO GIORDANO, L., BOITEUX, L. S., DE ÁVILA, A. C. & INOUE-NAGATA, A. K. 2008. Diversity and prevalence of Brazilian bipartite begomovirus species associated to tomatoes. *Virus genes*, 36, 251-258.
- FERNANDES, J., CARVALHO, M., ANDRADE, E., BROMMONS-CHENKEL, S., FONTES, E. & ZERBINI, F. 2006. Biological and molecular properties of *Tomato rugose mosaic virus* (ToRMV), a new tomato-infecting *Begomovirus* from Brazil. *Plant Pathology*, 55, 513-522.
- FERREIRA, S. S., FONTES, E. P. B. & ZERBINI, F. M. 2005. Occurrence of begomoviruses and satellite DNAs in weeds and tomato plants in South-eastern Brazil. . *34th Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology*.
- FINLAY, K. 1953. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. *Australian journal of biological sciences*, 6, 153-163.
- FLETCHER, J. F. 1992. *Compendium of Tomato Diseases*, Minnesota, APS Press (The American Pathological Society Press)
- FLINT, J. & MOTT, R. 2001. Finding the molecular basis of quantitative traits: successes and pitfalls. *Nature Reviews Genetics*, 2, 437-445.
- FLORES, E. L. Z. A., SILBERSCHMIDT, K. & KRAMER, M. 1960. Observações de “clorose infecciosa” das malváceas em tomateiros do campo. *O Biológico*, 26, 65-69.
- FOOLAD, M. R. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007.
- FREITAS-ASTUA, J., PURCIFULL, D. E., POLSTON, J. E. & HIEBERT, E. 2002. Traditional and transgenic strategies for controlling tomato-infecting begomoviruses. *Fitopatologia Brasileira*, 27, 437-449.
- FRISCHMUTH, S., WEGE, C., HÜLSER, D. & JESKE, H. 2007. The movement protein BC1 promotes redirection of the nuclear shuttle protein BV1

- of Abutilon mosaic geminivirus to the plasma membrane in fission yeast. *Protoplasma*, 230, 117-123.
- GAFNI, Y. & EPEL, B. L. 2002. The role of host and viral proteins in intra- and inter-cellular trafficking of geminiviruses. *Physiological and molecular plant pathology*, 60, 231-241.
- GALVÃO, R. M., MARIANO, A. C., LUZ, D. F., ALFENAS, P. F., ANDRADE, E. C., ZERBINI, F. M., ALMEIDA, M. R. & FONTES, E. P. 2003. 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*, 84, 715-726.
- GARCIA-ARENAL, F., ZAITLIN, M. & PALUKAITIS, P. 1987. Nucleotide sequence analysis of six satellite RNAs of cucumber mosaic virus: primary sequence and secondary structure alterations do not correlate with differences in pathogenicity. *Virology*, 158, 339-347.
- GARCÍA-CANO, E., NAVAS-CASTILLO, J., MORIONES, E. & FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. 2010. Resistance to *Tomato chlorosis virus* in wild tomato species that impair virus accumulation and disease symptom expression. *Phytopathology*, 100, 582-592.
- GARCÍA-CANO, E., RESENDE, R., BOITEUX, L., GIORDANO, L., FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. & MORIONES, E. 2008. Phenotypic expression, stability, and inheritance of a recessive resistance to monopartite begomoviruses associated with tomato yellow leaf curl disease in tomato. *Phytopathology*, 98, 618-627.
- GEBHARDT, C. & VALKONEN, J. P. 2001. Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 79-102.
- GILARDI, P., GARCIA-LUQUE, I. & SERRA, M. 1998. Pepper mild mottle virus coat protein alone can elicit the Capsicum spp. L 3 gene-mediated resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11, 1253-1257.
- GIORDANO, L., SILVA-LOBO, V., SANTANA, F., FONSECA, M. & BOITEUX, L. 2005a. Inheritance of resistance to the bipartite Tomato chlorotic mottle begomovirus derived from *Lycopersicon esculentum* cv. 'Tyking'. *Euphytica*, 143, 27-33.

- GIORDANO, L. D. B., FONSECA, M. D. N., SILVA, J. D., INOUE-NAGATA, A. K. & BOITEUX, L. S. 2005b. Efeito da infecção precoce por Begomovirus com genoma bipartido em características de frutos de tomate industrial. *Horticultura Brasileira*, 23, 815-818.
- GOLDBACH, R. & PETERS, D. Year. Possible causes of the emergence of tospovirus diseases. *In: Seminars in Virology*, 1994. Elsevier, 113-120.
- GOLDBACH, R. & PETERS, D. 1996. Molecular and biological aspects of tospoviruses. *The Bunyaviridae*. Springer.
- GONSALVES, C., XUE, B., YEPES, M., FUCHS, M., LING, K., NAMBA, S., CHEE, P., SLIGHTOM, J. L. & GONSALVES, D. 1994. Transferring cucumber mosaic virus-white leaf strain coat protein gene into Cucumis melo L. and evaluating transgenic plants for protection against infections. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 345-355.
- GORDILLO, L. F., STEVENS, M. R., MILLARD, M. A. & GEARY, B. 2008. Screening two Lycopersicon peruvianum collections for resistance to Tomato spotted wilt virus. *Plant Disease*, 92, 694-704.
- GRANDILLO, S., ZAMIR, D. & TANKSLEY, S. D. 1999. Genetic improvement of processing tomatoes: A 20 years perspective. *Euphytica*, 110, 85-97.
- GREENBERG, J. T. & YAO, N. 2004. The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cellular microbiology*, 6, 201-211.
- GRUBE, R. C., RADWANSKI, E. R. & JAHN, M. 2000. Comparative genetics of disease resistance within the Solanaceae. *Genetics*, 155, 873-887.
- GUTIERREZ, C. 1999. Geminivirus DNA replication. *Cellular and molecular life sciences*, 56, 313-329.
- HA, C., COOMBS, S., REVILL, P., HARDING, R., VU, M. & DALE, J. 2008. Molecular characterization of Begomoviruses and DNA satellites from Vietnam: additional evidence that the New World geminiviruses were present in the Old World prior to continental separation. *Journal of General Virology*, 89, 312-326.
- HALLWASS, M., OLIVEIRA, A. S., CAMPOS DIANESE, E., LOHUIS, D., BOITEUX, L. S., INOUE-NAGATA, A. K., RESENDE, R. O. & KOR-

- MELINK, R. 2014. The Tomato spotted wilt virus cell-to-cell movement protein (NSM) triggers a hypersensitive response in Sw-5-containing resistant tomato lines and in *Nicotiana benthamiana* transformed with the functional Sw-5b resistance gene copy. *Molecular plant pathology*.
- HAMMOND-KOSACK, K. E. & PARKER, J. E. 2003. Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 177-193.
- HANLEY-BOWDOIN, L., SETTLAGE, S. B., OROZCO, B. M., NAGAR, S. & ROBERTSON, D. 1999. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18, 71-106.
- HANSON, P., GREEN, S. & KUO, G. 2006. Ty-2, a gene on chromosome 11 conditioning geminivirus resistance in tomato. *Tomato Genetics Coop Rep*, 56, 17-18.
- HANSON, P. M., BERNACCHI, D., GREEN, S., TANKSLEY, S. D., MUNIYAPPA, V., PADMAJA, A. S., CHEN, H.-M., KUO, G., FANG, D. & CHEN, J.-T. 2000. Mapping a wild tomato introgression associated with *Tomato yellow leaf curl virus* resistance in a cultivated tomato line. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125, 15-20.
- HANSSEN, I. M., LAPIDOT, M. & THOMMA, B. P. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23, 539-548.
- HARRISON, B. & WILSON, T. 1999. Milestones in research on tobacco mosaic virus. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 354, 521-529.
- HASSANI-MEHRABAN, A., SAAIJER, J., PETERS, D., GOLDBACH, R. & KORMELINK, R. 2005. A new tomato-infecting tospovirus from Iran. *Phytopathology*, 95, 852-858.
- HEATH, M. C. 2000. Hypersensitive response-related death. *Programmed Cell Death in Higher Plants*. Springer.
- HEINLEIN, M., EPEL, B. L., PADGETT, H. S. & BEACHY, R. N. 1995. Interaction of tobamovirus movement proteins with the plant cytoskeleton. *Science*, 270, 1983-1985.

- HERNÁNDEZ-ZEPEDA, C., VARSANI, A. & BROWN, J. K. 2013. Intergeneric recombination between a new, spinach-infecting curtovirus and a new geminivirus belonging to the genus Becurtovirus: first New World exemplar. *Archives of Virology*, 158, 2245-2254.
- HERRERO, S., CULBREATH, A. K., CSINOS, A. S., PAPPU, H. R., RUFTY, R. C. & DAUB, M. E. 2000. Nucleocapsid gene-mediated transgenic resistance provides protection against Tomato spotted wilt virus epidemics in the field. *Phytopathology*, 90, 139-147.
- HEYDARNEJAD, J., KEYVANI, N., RAZAVINEJAD, S., MASSUMI, H. & VARSANI, A. 2013. Fulfilling Koch's postulates for beet curly top Iran virus and proposal for consideration of new genus in the family Geminiviridae. *Archives of Virology*, 158, 435-443.
- HEYRAUD, F., MATZEIT, V., KAMMANN, M., SCHAEFER, S., SCHELL, J. & GRONENBORN, B. 1993a. Identification of the initiation sequence for viral-strand DNA synthesis of wheat dwarf virus. *The EMBO journal*, 12, 4445.
- HEYRAUD, F., MATZEIT, V., SCHAEFER, S., SCHELL, J. & GRONENBORN, B. 1993b. The conserved nonanucleotide motif of the geminivirus stem-loop sequence promotes replicational release of virus molecules from redundant copies. *Biochimie*, 75, 605-615.
- HÖFER, P., BEDFORD, I. D., MARKHAM, P. G., JESKE, H. & FRISCHMUTH, T. 1997. Coat protein gene replacement results in whitefly transmission of an insect nontransmissible geminivirus isolate. *Virology*, 236, 288-295.
- HOFFMANN, K., QIU, W. & MOYER, J. 2001. Overcoming host-and pathogen-mediated resistance in tomato and tobacco maps to the MRNA of Tomato spotted wilt virus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14, 242-249.
- HOLMES, F. O. 1948. Resistance to spotted wilt of tomato. *Phytopathology*, 38, 467-473.
- HORMUZDI, S. G. & BISARO, D. M. 1995. Genetic analysis of beet curly top virus: examination of the roles of L2 and L3 genes in viral pathogenesis. *Virology*, 206, 1044-1054.
- HU, J., LI, H., BARRY, K., WANG, M. & JORDAN, R. 1995. Comparison of

- dot blot, ELISA, and RT-PCR assays for detection of two cucumber mosaic virus isolates infecting banana in Hawaii. *Plant Disease*, 79, 902-906.
- HULL, R. 2002a. In: PRESS, A. (ed.) *Matthews' Plant Virology*. 5th ed. London: Elsevier Academic Press.
- HULL, R. 2002b. Induction of disease 1: Virus movement through the plant and effects on plant metabolism. *Matthew's plant virology, 4th edn, Academic Press, San Diego*, 373-436.
- HUTTON, S. F., SCOTT, J. W. & SCHUSTER, D. J. 2012. Recessive resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* from the tomato cultivar Tyking is located in the same region as *Ty-5* on chromosome 4. *HortScience*, 47, 324-327.
- HWANG, C. F. & WILLIAMSON, V. M. 2003. Leucine-rich repeat-mediated intramolecular interactions in nematode recognition and cell death signaling by the tomato resistance protein Mi. *The Plant Journal*, 34, 585-593.
- IBGE. 2010. *INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA*. <http://www.ibge.gov.br>[Online]. Available: <http://www.ibge.gov.br> [Accessed 2013].
- INOUE-NAGATA, A., FONSECA, M., RESENDE, R. D., BOITEUX, L., MONTE, D., DUSI, A., DE ÁVILA, A. & VAN DER VLUGT, R. 2002. *Pepper yellow mosaic virus*, a new *Potyvirus* in sweetpepper, *Capsicum annum*. *Archives of Virology*, 147, 849-855.
- INOUE-NAGATA, A. & RESENDE, R. D. O. 2008. Pepper yellow mosaic virus. In: RAO, G., KUMAR, P. & HOLGUIN-PEÑA, R. (eds.) *Characterization, diagnosis & management of plant viruses*. . Texas, U.S.A: Studium Press LLC.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES ICTV. 2011. *Virus Taxonomy* [Online]. Available: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> [Accessed].
- ISHIBASHI, K., MESHI, T. & ISHIKAWA, M. 2011. Gaining replicability in a nonhost compromises the silencing suppression activity of Tobacco mild green mosaic virus in a host. *Journal of virology*, 85, 1893-1895.
- ISHIBASHI, K., MIYASHITA, S., KATOH, E. & ISHIKAWA, M. 2012. Host membrane proteins involved in the replication of tobamovirus RNA. *Current opinion in virology*, 2, 699-704.

- ISHIBASHI, K., NISHIKIORI, M. & ISHIKAWA, M. 2010. Interactions between tobamovirus replication proteins and cellular factors: their impacts on virus multiplication. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23, 1413-1419.
- Ji, Y. & SCOTT, J. 2006. Ty-3, a begomovirus resistance locus linked to Ty-1 on chromosome 6 of tomato. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, 56, 22-25.
- Ji, Y., SCOTT, J., HANSON, P., GRAHAM, E. & MAXWELL, D. 2007. Sources of resistance, inheritance, and location of genetic loci conferring resistance to members of the tomato-infecting begomoviruses. *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease*, 343-362.
- Ji, Y., SCOTT, J. W., SCHUSTER, D. J. & MAXWELL, D. P. 2009. Molecular mapping of Ty-4, a new *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus on chromosome 3 of tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 134, 281-288.
- JUHÁSZ, A. C. P., SILVA, D. J. H. D., ZERBINI JÚNIOR, F. M., SOARES, B. O. & AGUILERA, G. A. H. 2006. Screening of *Lycopersicon* sp. accessions for resistance to Pepper yellow mosaic virus. *Scientia Agricola*, 63, 510-512.
- KEPPLER, L. D. & BAKER, C. J. 1989. O<sub>2</sub>-initiated lipid peroxidation in a bacteria-induced hypersensitive reaction in tobacco cell suspensions. *Phytopathology*, 79, 555-562.
- KING, A. M. Q., LEFKOWITZ, E., ADAMS, M. J. & CARSTENS, E. B. 2011. *Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Elsevier.
- KING, A. M. Q., LEFKOWITZ, E., ADAMS, M. J. & CARSTENS, E. B. 2012. *Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Elsevier.
- KLAASSEN, V. A., BOESHORE, M. L., KOONIN, E. V., TIAN, T. & FALK, B. W. 1995. Genome structure and phylogenetic analysis of *Lettuce infectious yellows virus*, a whitefly-transmitted, bipartite *Closterovirus*. *Virology*, 208, 99-110.
- KORMELINK, R., DE HAAN, P., PETERS, D. & GOLDBACH, R. 1992. Viral RNA synthesis in tomato spotted wilt virus-infected *Nicotiana rustica* plants. *The Journal of general virology*, 73, 687-693.

- LANFERMEIJER, F. C., DIJKHUIS, J., STURRE, M. J., DE HAAN, P. & HILLE, J. 2003. Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene Tm-22 from *Lycopersicon esculentum*. *Plant Molecular Biology*, 52, 1039-1051.
- LANFERMEIJER, F. C., WARMINK, J. & HILLE, J. 2005. The products of the broken *Tm-2* and the durable *Tm-22* resistance genes from tomato differ in four amino acids. *Journal of experimental Botany*, 56, 2925-2933.
- LAPIDOT, M. & FRIEDMANN, M. 2002. Breeding for resistance to white-fly-transmitted geminiviruses. *Annals of Applied Biology*, 140, 109-127.
- LATERROT, H. 1995. Breeding network to create tomato varieties resistant to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). *Fruits*, 50, 478-480.
- LATHAM, L. & JONES, R. 1998. Selection of resistance breaking strains of tomato spotted wilt tospovirus. *Annals of Applied Biology*, 133, 385-402.
- LAUFS, J., JUPIN, I., DAVID, C., SCHUMACHER, S., HEY-RAUD-NITSCHKE, F. & GRONENBORN, B. 1995. Geminivirus replication: genetic and biochemical characterization of Rep protein function, a review. *Biochimie*, 77, 765-773.
- LAZAROWITZ, S. G. & SHEPHERD, D. R. J. 1992. Geminiviruses: genome structure and gene function. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 11, 327-349.
- LÉONARD, S., VIEL, C., BEAUCHEMIN, C., DAIGNEAULT, N., FORTIN, M. G. & LALIBERTÉ, J.-F. 2004. Interaction of VPg-Pro of Turnip mosaic virus with the translation initiation factor 4E and the poly (A)-binding protein in planta. *Journal of General Virology*, 85, 1055-1063.
- LIAN, S., LEE, J.-S., CHO, W. K., YU, J., KIM, M.-K., CHOI, H.-S. & KIM, K.-H. 2013. Phylogenetic and recombination analysis of tomato spotted wilt virus. *PLoS one*, 8, e63380.
- LIPPMAN, Z. B. & ZAMIR, D. 2007. Heterosis: revisiting the magic. *Trends in Genetics*, 23, 60-66.
- LIVIERATOS, I., ELIASCO, E., MÜLLER, G., OLSTHOORN, R., SALAZAR, L., PLEIJ, C. & COUTTS, R. 2004. Analysis of the RNA of *Potato yellow vein virus*: evidence for a tripartite genome and conserved 3'-termi-

nal structures among members of the genus *Crinivirus*. *Journal of General Virology*, 85, 2065-2075.

LOPES, C. A. & ÁVILA, A. C. 2005. *Doenças do tomateiro.*, Brasília Embrapa Hortaliças.

LOURENÇÃO, A. L., NAGAI, H., SIQUEIRA, W. J., USBERTI FILHO, J. A. & MELO, A. 1997. Seleção de tomateiros resistentes a tospovírus. *Bragantia*, 56, 21-31.

LOVATO, F. A., INOUE-NAGATA, A. K., NAGATA, T., DE ÁVILA, A. C., PEREIRA, L. A. R. & RESENDE, R. O. 2008. The N protein of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) is associated with the induction of programmed cell death (PCD) in *Capsicum chinense* plants, a hypersensitive host to TSWV infection. *Virus Research*, 137, 245-252.

MACIEL-ZAMBOLIM, E., COSTA, H., CAPUCHO, A., ÁVILA, A. C., INOUE-NAGATA, A. K. & KITAGIMA, E. 2004. Surto epidemiológico do vírus do mosaico amarelo do pimentão em tomateiro na região serrana do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, 29, 325-327.

MALUF, W. R., TOMA-BRAGHINI, M. & CORTE, R. D. 1991. Progress in breeding tomatoes for resistance to tomato spotted wilt. *Revista Brasileira de Genética*, 14, 509-525.

MARGARIA, P., CIUFFO, M., PACIFICO, D. & TURINA, M. 2007. Evidence that the nonstructural protein of Tomato spotted wilt virus is the avirulence determinant in the interaction with resistant pepper carrying the Tsw gene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20, 547-558.

MARÍN, F. 2004. Búsqueda de estrategias de control frente a los begomovirus que afectan a tomate y judía en España.

MARKHAM, P. G., BEDFORD, I. D., LIU, S. & PINNER, M. S. 2006. The transmission of geminiviruses by *Bemisia tabaci*. *Pesticide Science*, 42, 123-128.

MARTELLI, G., AGRANOVSKY, A., BAR-JOSEPH, M., BOSCIA, D., CANDRESSE, T., COUTTS, R., DOLJA, V., FALK, B., GONSALVES, D. & JELKMANN, W. 2002. The family *Closteroviridae* revised. *Archives of Virology*, 147, 2039-2044.

- MARTELLI, G., AGRANOVSKY, A., BAR-JOSEPH, M., BOSCIA, D., CANDRESSE, T., COUTTS, R., DOLJA, V., HU, J., JELKMANN, W., KARASEV, A., MARTIN, R., MINAFRA, A., NAMBA, S. & VETTEN, H. 2011. Family Closteroviridae. In: KING, A., ADAMS, M., CARSTENS, E. & LEFKOWITZ, E. (eds.) *Virus taxonomy. Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. New York: Elsevier.
- MARTIN, G. B., BOGDANOVE, A. J. & SESSA, G. 2003. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annual review of plant biology*, 54, 23-61.
- MARUBAYASHI, J., YUKI, V., ROCHA, K., MITUTI, T., PELEGRINOTTI, F., FERREIRA, F., MOURA, M., NAVAS-CASTILLO, J., MORIONES, E. & PAVAN, M. 2013. At least two indigenous species of the Bemisia tabaci complex are present in Brazil. *Journal of Applied Entomology*, 137, 113-121.
- MAXWELL, D. P. 2009. Introgression at 81 cM on chromosome 3 associated with Gc171. in <<http://www.plantpath.wisc.edu/GeminivirusResistantTomatoes/Markers/P3-81.pdf>> accessed janeiro 2013.
- MAYTIS, J., SILVA, D., OLIVEIRA, A. & COSTA, A. 1975. Purificação e morfologia do vírus do mosaico dourado do tomateiro. *Summa Phytopathologica*, 1.
- MCMICHAEL, L. A., PERSLEY, D. M. & THOMAS, J. E. 2002. A new tospovirus serogroup IV species infecting capsicum and tomato in Queensland, Australia. *Australasian Plant Pathology*, 31, 231-239.
- MEJÍA, L., TENI, R., VIDAUSKI, F., CZOSNEK, H., LAPIDOT, M., NAKHLA, M. & MAXWELL, D. Year. Evaluation of tomato germplasm and selection of breeding lines for resistance to begomoviruses in Guatemala. In: I International Symposium on Tomato Diseases 695, 2005. 251-256.
- MELO, P., BOITEUX, L., VILELA, N. & FERRAZ, E. 2008. Tomato para processamento industrial. *Desenvolvimento da Agricultura Tropical: Quatro Décadas de Inovações Tecnológicas. Institucionais e Políticas. Embrapa, Brasília-DF, Brazil*, 547-556.
- MICHELSON, I., ZAMIR, D. & CZOSNEK, H. 1994. Accumulation and translocation of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) in a *Lycopersicon esculentum* breeding line containing the *L. chilense* TYLCV tolerance gene Ty-1. *Phytopathology*, 84, 928-933.

- MOMOL, M., SIMONE, G., DANKERS, W., SPRENKEL, R., OLSON, S., MOMOL, E., POLSTON, J. & HIEBERT, E. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl virus in tomato in south Georgia. *Plant Disease*, 83, 487-487.
- MORALES, F. J. & ANDERSON, P. K. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Archives of Virology*, 146, 415-441.
- MOREIRA, S. R., EIRAS, M., CHAVES, A. L., GALLETI, S. R. & COLARICCIO, A. 2003a. Caracterização de uma nova estirpe do *Tomato mosaic virus* isolada de tomateiro no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 28, 602-607.
- MOREIRA, S. R., EIRAS, M., CHAVES, A. L. R., GALLETI, S. R. & COLARICCIO, A. 2003b. Caracterização de uma nova estirpe do *Tomato mosaic virus* isolada de tomateiro no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 28, 602-607.
- MORENO, I., GRUISSEM, W. & VANDERSCHUREN, H. 2011. Reference genes for reliable potyvirus quantitation in cassava and analysis of *Cassava brown streak virus* load in host varieties. *Journal of virological methods*, 177, 49-54.
- MORIN, S., GHANIM, M., SOBOL, I. & CZOSNEK, H. 2000. The GroEL Protein of the Whitefly *Bemisia tabaci* Interacts with the Coat Protein of Transmissible and Nontransmissible Begomoviruses in the Yeast Two-Hybrid System. *Virology*, 276, 404-416.
- MORIONES, E. & NAVAS-CASTILLO, J. 2000. Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research*, 71, 123-134.
- MOUND, L. A. 1995. The Thysanoptera vector species of tospoviruses. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops* 431, 298-309.
- MUELLER, L. A., TANKSLEY, S. D., GIOVANNONI, J. J., VAN ECK, J., STACK, S., CHOI, D., KIM, B. D., CHEN, M., CHENG, Z. & LI, C. 2005. The tomato sequencing project, the first cornerstone of the International Solanaceae Project (SOL). *Comparative and functional genomics*, 6, 153-158.
- MURPHY, J., RYCHLIK, W., RHOADS, R., HUNT, A. & SHAW, J. 1991. A tyrosine residue in the small nuclear inclusion protein of tobacco vein mot-

- ting virus links the VPg to the viral RNA. *Journal of virology*, 65, 511-513.
- MUTSCHLER, M. A. & LIEDL, B. E. 1994. Interspecific crossing barriers in *Lycopersicon* and their relationship to self-incompatibility. *Advances in Cellular and Molecular Biology of Plants*, 2, 164-168.
- NAGAI, H. 1968. Obtenção de variedades de pimentão resistentes ao mosaico. *Bragantia*, 27, 311-353.
- NAGAI, H. 1975. Resistance to spotted wilt virus hybrid tomatoes derived from *Lycopersicon esculentum* and *L. peruvianum*. *Revista de Olericultura*, 15, 22-23.
- NAGAI, H. 1983. Melhoramento do pimentão (*Capsicum annum* L.) visando resistência ao vírus Y. *Horticultura Brasileira*, 1, 3-9.
- NAGAI, H. 1993. Tomate. In: FURLANI, A. M. C. & VIÉGAS, G. P. (eds.) *O melhoramento genético de plantas no Instituto Agrônomo*. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas.
- NAGAI, H., FURLANI, A. & VIEGAS, G. 1993. Pimentão, pimenta-doce e pimentas. *Furlani, MMC & Végas, GP O melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo*, 1, 276-294.
- NAGATA, T., ALMEIDA, A., RESENDE, R. D. O. & DEÁVILA, A. 2004. The competence of four thrips species to transmit and replicate four tospoviruses. *Plant Pathology*, 53, 136-140.
- NAGATA, T., BOITEUX, L., IIZUKA, N. & DUSI, A. 1993. Identification of phenotypic variation of tospovirus isolates in Brazil based on serological analysis and differential host response.
- NAGATA, T., MOUND, L. A., FRANÇA, F. H. & ÁVILA, A. C. D. 1999. Identification and rearing of four thrips species vectors of Tospovirus in the Federal District, Brazil. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 28, 535-539.
- NAKHLA, M., SORENSEN, A., MEJÍA, L., RAMÍREZ, P., KARKASHIAN, J. & MAXWELL, D. Year. Molecular characterization of tomato-infecting begomoviruses in Central America and development of DNA-based detection methods. In: I International Symposium on Tomato Diseases 695, 2005 2005. 277-288.

- NAVAS-CASTILLO, J., FIALLO-OLIVÉ, E. & SÁNCHEZ-CAMPOS, S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology*, 49, 219-248.
- NOGUEIRA, I., VIEIRA, B. G., PEREIRA-CARVALHO, R. C., DIANESE, E. C., RESENDE, R. O., BOITEUX, L. S. & FONSECA, M. E. N. 2011. Detecção de *Tomato chlorosis virus* (*Crinivirus*, *Closteroviridae*) em tomateiro no Distrito Federal. *XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, . Bento Gonçalves.: Tropical Plant Pathology.
- NOUEIRY, A. O., LUCAS, W. J. & GILBERTSON, R. L. 1994. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport. *Cell*, 76, 925-932.
- OHNESORGE, S. & BEJARANO, E. 2009. Begomovirus coat protein interacts with a small heat-shock protein of its transmission vector (*Bemisia tabaci*). *Insect molecular biology*, 18, 693-703.
- OROZCO, B. M. & HANLEY-BOWDOIN, L. 1998. Conserved sequence and structural motifs contribute to the DNA binding and cleavage activities of a geminivirus replication protein. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 24448-24456.
- ÖZDEMİR, S. & ERILMEZ, S. 2012. First Report of Alfalfa mosaic virus and Cucumber mosaic virus in Pepino turkey. *Journal of Plant Pathology*, 94.
- PALAZZO, S. R. L., BERGMANN, J. C., CHAVES, A. R., CHAVES, M., CHARGAS, C. M. & COLARICCIO, A. 2004. Surto de potyvirus associado ao mosaico amarelo de tomateiro no Estado de São Paulo. . *Summa Phytopathologica*, 30, 117.
- PALMER, K. E. & RYBICKI, E. P. 1998. The molecular biology of *Mastreviruses*. *Advances in virus research*, 50, 183-234.
- PATERSON, R., SCOTT, S. & GERGERICH, R. 1989. Resistance in two *Lycopersicon* species to an Arkansas isolate of tomato spotted wilt virus. *Euphytica*, 43, 173-178.
- PEIRÓ, A., CAÑIZARES, M. C., RUBIO, L., LÓPEZ, C., MORIONES, E., ARAMBURU, J. & SÁNCHEZ-NAVARRO, J. 2014. The movement protein (NSm) of Tomato spotted wilt virus is the avirulence determinant in the tomato Sw-5 gene-based resistance. *Molecular plant pathology*.

- PERALTA, I. E., KNAPP, S. & SPOONER, D. M. 2006. Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. *TGC Report*, 56, 6-12.
- PEREIRA- CARVALHO, R. C. 2009. Expressão fenotípica e mecanismos de ação de genes envolvidos na resistência ampla e begomovírus monopartidos e bipartidos em tomate: Tesis de Doutorado. Universidade de Brasília.
- PEREIRA-CARVALHO, R., BOITEUX, L., FONSECA, M., DÍAZ-PENDÓN, J., MORIONES, E., FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R., CHARCHAR, J. & RESENDE, R. 2010. Multiple resistance to *Meloidogyne* spp. and to bipartite and monopartite *Begomovirus* spp. in wild *Solanum (Lycopersicon)* accessions. *Plant Disease*, 94, 179-185.
- PEREZ DE CASTRO, A., BLANCA, J. M., DÍEZ, M. J. & NUEZ VINALS, F. 2007. Identification of a CAPS marker tightly linked to the Tomato yellow leaf curl disease resistance gene *Ty-1* in tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 117, 347-356.
- PIETERSEN, G. & MORRIS, J. 2002. Natural occurrence of Groundnut ring-spot virus on soybean in South Africa. *Plant Disease*, 86, 1271-1271.
- PILLEN, K., GANAL, M. & TANKSLEY, S. 1996. Construction of a high-resolution genetic map and YAC-contigs in the tomato Tm-2a region. *Theoretical and Applied Genetics*, 93, 228-233.
- PINGDONG, X. & LIANHUI, X. 1998. Advances in subgroup research of cucumber mosaic Cucumovirus. *JOURNAL OF FUJIAN AGRICULTURAL UNIVERSITY (NATURAL SCIENCE)*, 01.
- PLYUSNIN, A., BEATY, B., ELLIOTT, R., GOLDBACH, R., KORMELINK, R., LUNDKVIST, Å., SCHMALJOHN, C. & TESH, R. 2012. Bunyaviridae. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses—Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego, Elsevier, 693-709.
- POLSTON, J. E. & ANDERSON, P. K. 1999. Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por mosca blanca en tomate en el Hemisferio Occidental. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 53.
- POZZER, L., RESENDE, R. D. O., LIMA, M., KITAJIMA, E., GIORDANO, L. D. B. & ÁVILA, A. 1996. Tospovírus: uma visão atualizada. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 4.

- PRICE, D. L., MEMMOTT, F. D., SCOTT, J. W., OLSON, S. M. & STEVENS, M. R. 2007. Identification of molecular markers linked to a new Tomato spotted wilt virus resistance source in tomato. *Tomato Genetics Coop Rep*, 57.
- PRINS, M. & GOLDBACH, R. 1998. The emerging problem of tospovirus infection and nonconventional methods of control. *Trends in microbiology*, 6, 31-35.
- QUEMADA, H. D., GONSALVES, D. & SLIGHTOM, J. L. 1991. Expression of coat protein gene from cucumber mosaic virus strain C in tobacco: protection against infections by CMV strains transmitted mechanically or by aphids. *Phytopathology*, 81, 794-802.
- RAUPACH, G. S., LIU, L., MURPHY, J. F., TUZUN, S. & KLOEPPER, J. W. 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Disease*, 80, 891-894.
- RESENDE, R. D. O., POZZER, L., NAGATA, T., BEZERRA, I., LIMA, M., DE BRITO GIORDANO, L., KITAJIMA, E. & DE ÁVILA, A. 1995. New tospoviruses found in Brazil. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops 431*, 78-89.
- RESENDE, R. O. 1995. Diversidade de tospovirus no mundo. Informações resumidas sobre o "International Symposium of Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops". *Fitopatologia Brasileira*, 20, 656-657.
- REZENDE, E., FILGUEIRA, F., ZERBINI, F., MACIEL-ZAMBOLIM, E., FERNANDES, J. & GILBERTSON, R. 1996. Tomato infected with geminivirus in greenhouse conditions at Uberlândia-MG, Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 21, 424.
- RIBEIRO, D., FORESTI, O., DENECKE, J., WELLINK, J., GOLDBACH, R. & KORMELINK, R. J. 2008. Tomato spotted wilt virus glycoproteins induce the formation of endoplasmic reticulum-and Golgi-derived pleomorphic membrane structures in plant cells. *Journal of General Virology*, 89, 1811-1818.
- RIBEIRO, S., AMBROZEVICIUS, L., ÁVILA, A., BEZERRA, I., CALEGARIO, R., FERNANDES, J., LIMA, M., DE MELLO, R., ROCHA, H. & ZERBINI, F. 2003. Distribution and genetic diversity of tomato-infecting begomoviruses in Brazil\*. *Archives of Virology*, 148, 281-295.

- RIBEIRO, S., BEZERRA, I., LIMA, M., ÁVILA, A. & GIORDANO, L. 1996. Occurrence of geminivirus in tomato plants in Bahia. *VIII Encontro Nacional de Virologia (Resumos)*. São Lourenço, MG: SBV.
- RIBEIRO, S., MELO, L., BOITEUX, L., KITAJIMA, E. & FARIA, J. 1994. Tomato infection by a geminivirus in the Federal District, Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 19, 330.
- RIECHMANN, J. L., LAÍN, S. & GARCÍA, J. A. 1992. Highlights and prospects of *Potyvirus* molecular biology. *Journal of General Virology*, 73, 1-16.
- ROJAS, M. R., ZERBINI, F. M., ALLISON, R. F., GILBERTSON, R. L. & LUCAS, W. J. 1997. Capsid protein and helper component-proteinase function as potyvirus cell-to-cell movement proteins. *Virology*, 237, 283-295.
- ROOSSINCK, M. J. 1994. Mechanisms of plant virus evolution. *Annual Review of Phytopathology*, 35, 191-209.
- ROOSSINCK, M. J. 2002. Evolutionary history of Cucumber mosaic virus deduced by phylogenetic analyses. *Journal of virology*, 76, 3382-3387.
- ROSELLÓ, S., DÍEZ, M., LACASA, A., JORDÁ, C. & NUEZ, F. 1997. Testing resistance to TSWV introgressed from *Lycopersicon peruvianum* by artificial transmission techniques. *Euphytica*, 98, 93-98.
- ROSELLÓ, S., DÍEZ, M. J. & NUEZ, F. 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The *Tomato spotted wilt virus*—a review. *Scientia Horticulturae*, 67, 117-150.
- ROSELLÓ, S., DÍEZ, M. J. & NUEZ, F. 1998. Genetics of *Tomato spotted wilt virus* resistance coming from *Lycopersicon peruvianum*. *European Journal of Plant Pathology*, 104, 499-509.
- ROSELLÓ, S., RICARTE, B., DIEZ, M. J. & NUEZ, F. 2001. Resistance to Tomato spotted wilt virus introgressed from *Lycopersicon peruvianum* in line UPV 1 may be allelic to Sw-5 and can be used to enhance the resistance of hybrids cultivars. *Euphytica*, 119, 357-367.
- ROWHANI, A., UYEMOTO, J. K. & GOLINO, D. A. 1997. A comparison between serological and biological assays in detecting grapevine leafroll associated viruses. *Plant Disease*, 81, 799-801.

- RUFFEL, S., DUSSAULT, M. H., PALLOIX, A., MOURY, B., BENDAHMANE, A., ROBAGLIA, C. & CARANTA, C. 2002. A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). *The Plant Journal*, 32, 1067-1075.
- RUFFEL, S., GALLOIS, J., LESAGE, M. & CARANTA, C. 2005. The recessive potyvirus resistance gene *pot-1* is the tomato orthologue of the pepper *pvr2-eIF4E* gene. *Molecular Genetics and Genomics*, 274, 346-353.
- SAIDI, M. & WARADE, S. D. 2008. Tomato breeding for resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV): An overview of conventional and molecular approaches. *Journal Genetic Plant Breed*, 44, 83-92.
- SAMUEL, G., BALD, J. & PITTMAN, H. 1930. Investigations on 'spotted wilt' of Tomatoes. *Australia, Council for Scientific and Industrial Research Bulletin*, 44.
- SANDERFOOT, A. A., INGHAM, D. J. & LAZAROWITZ, S. G. 1996. 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*, 110, 23-33.
- SANDERFOOT, A. A. & LAZAROWITZ, S. G. 1995. Cooperation in viral movement: the geminivirus BL1 movement protein interacts with BR1 and redirects it from the nucleus to the cell periphery. *The Plant Cell Online*, 7, 1185-1194.
- SCHOLTHOF, K. B. G., ADKINS, S., CZOSNEK, H., PALUKAITIS, P., JACQUOT, E., HOHN, T., HOHN, B., SAUNDERS, K., CANDRESSE, T. & AHLQUIST, P. 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 12, 938-954.
- SCHUERGER, A. C. & BROWN, C. S. 1997. Spectral quality affects disease development of three pathogens on hydroponically grown plants. *Hort-Science*, 32, 96-100.
- SCOTT, J. 2007. Breeding for resistance to viral pathogens. *Genetic improvement of solanaceous crops*, 2, 447-474.
- SCOTT, J., STEVENS, M., BARTEN, J., THOME, C., POLSTON, J., SCHUSTER, D. & SERRA, C. 1995. Introgression of resistance to whitefly-transmitted geminiviruses from *Lycopersicon chilense* to tomato. *Bemisia*, 357-367.

- SCOTT, J. W., STEVENS, M. R. & OLSON, S. M. 2005. An alternative source of resistance to Tomato spotted wilt virus. *Tomato Genetics Cooperative Report* 55, 40-41.
- SEAL, S., VANDENBOSCH, F. & JEGER, M. 2006. Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: implications for sustainable control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25, 23-46.
- SEMEL, Y., NISSENBAUM, J., MENDA, N., ZINDER, M., KRIEGER, U., ISSMAN, N., PLEBAN, T., LIPPMAN, Z., GUR, A. & ZAMIR, D. 2006. Overdominant quantitative trait loci for yield and fitness in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 12981-12986.
- SHIN, R., HAN, J.-H., LEE, G.-J. & PEAK, K.-H. 2002. The potential use of a viral coat protein gene as a transgene screening marker and multiple virus resistance of pepper plants coexpressing coat proteins of cucumber mosaic virus and tomato mosaic virus. *Transgenic research*, 11, 215-219.
- SILBERSCHMIDT, K. 1937. A doença "vira-cabeça" do fumo. *O Biológico*, 3, 183-184.
- SILVA, K. F. A. S., MICHEEREFF-FILHO, M., FONSECA, M. E. N., SILVA-FILHO, J. G., TEIXERA, A. C., MOITA, A. W., TORRES, J. B., FERNANDEZ-MUÑOZ, R. & BOITEUX, L. S. 2014. Resistance to Bemisia tabaci biotype B of Solanum pimpinellifolium is associated with higher densities of type IV glandular trichomes and acylsugar accumulation. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 151, 218-230.
- SILVA, S. 2006. *Deteção, caracterização molecular e diversidade genética de Begomovirus que infectam Fava (Phaseolus lunatus L.)*. . Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas.
- SINGH, Z., JONES, R. & JONES, M. 1995. Identification of cucumber mosaic virus subgroup I isolates from banana plants affected by infectious chlorosis disease using RT-PCR. *Plant Disease*, 79, 713-716.
- SNIPPE, M., WILLEM BORST, J., GOLDBACH, R. & KORMELINK, R. 2007. Tomato spotted wilt virus Gc and N proteins interact *in vivo*. *Virology*, 357, 115-123.

- SOLER, S., CEBOLLA-CORNEJO, J. & NUEZ, F. 2003. Control of Disease Induced by Tospoviruses in Tomato: An Update of the Genetic Approach. *Phytopathologia Mediterranea*, 42, 207-219.
- SPASSOVA, M. I., PRINS, T. W., FOLKERTSMA, R. T., KLEIN-LANKHORST, R. M., HILLE, J., GOLDBACH, R. W. & PRINS, M. 2001. The tomato gene Sw5 is a member of the coiled coil, nucleotide binding, leucine-rich repeat class of plant resistance genes and confers resistance to TSWV in tobacco. *Molecular Breeding*, 7, 151-161.
- STAMOVA, B. & CHETELAT, R. 2000. Inheritance and genetic mapping of cucumber mosaic virus resistance introgressed from *Lycopersicon chilense* into tomato. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 527-537.
- STANLEY, J., LATHAM, J. R., PINNER, M. S., BEDFORD, I. & MARKHAM, P. G. 1992. Mutational analysis of the monopartite geminivirus beet curly top virus. *Virology*, 191, 396-405.
- STEVENS, M., SCOTT, S. & GERGERICH, R. 1992. Inheritance of a gene for resistance to *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, 59, 9-17.
- STEVENS, M., SCOTT, S. & GERGERICH, R. 1994. Evaluation of seven *Lycopersicon* species for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV). *Euphytica*, 80, 79-84.
- STEVENS, M. R., SCOTT, J. W., GEARY, B. D., CHO, J. J., GORDILLO, L. F., PERSLEY, D. M., MEMMOTT, F. D. & STEVENS, J. J. 2006. Current status of resistance to Tospoviruses in tomato abstr. 34. *Tomato Breeders Roundtable and Tomato Quality Workshop* Tampa -FL.
- STORMS, M., KORMELINK, R., PETERS, D., VAN LENT, J. & GOLDBACH, R. 1995. The nonstructural NSm protein of *Tomato spotted wilt virus* induces tubular structures in plant and insect cells. *Virology*, 214, 485-493.
- SUNTER, G. & BISARO, D. M. 1991. Transactivation in a geminivirus: *AL2* gene product is needed for coat protein expression. *Virology*, 180, 416-419.
- SUNTER, G., HARTITZ, M. D. & BISARO, D. M. 1993. *Tomato golden mosaic virus* leftward gene expression: autoregulation of geminivirus replication protein. *Virology*, 195, 275-280.

SUNTER, G., HARTITZ, M. D., HORMUZDI, S. G., BROUGH, C. L. & BISARO, D. M. 1990. 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*, 179, 69-77.

SZILASSY, D., SALÁNKI, K. & BALÁZS, E. 1999. Stunting induced by cucumber mosaic cucumovirus-infected *Nicotiana glutinosa* is determined by a single amino acid residue in the coat protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 12, 1105-1113.

TAKAHASHI, H., MILLER, J., NOZAKI, Y., TAKEDA, M., SHAH, J., HASE, S., IKEGAMI, M., EHARA, Y. & DINESH KUMAR, S. 2002. RCY1, an *Arabidopsis thaliana* RPP8/HRT family resistance gene, conferring resistance to cucumber mosaic virus requires salicylic acid, ethylene and a novel signal transduction mechanism. *The Plant Journal*, 32, 655-667.

TAKANAMI, Y. 1981. A striking change in symptoms on cucumber mosaic virus-infected tobacco plants induced by a satellite RNA. *Virology*, 109, 120-126.

TAKEDA, A., SUGIYAMA, K., NAGANO, H., MORI, M., KAIDO, M., MISE, K., TSUDA, S. & OKUNO, T. 2002. Identification of a novel RNA silencing suppressor, NSs protein of *Tomato spotted wilt virus*. *FEBS letters*, 532, 75-79.

TANKSLEY, S. D. 2004. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *The Plant Cell Online*, 16, S181-S189.

TAYLOR, R., GROGAN, R. & KIMBLE, K. 1961. Transmission of tobacco mosaic virus in tomato seed. *Phytopathology*, 51, 837-42.

THOMPSON, G. & VAN ZIJL, J. 1995. Control of tomato spotted wilt virus in tomatoes in South Africa. *Tospoviruses and Thrips of Floral and Vegetable Crops 431*, 379-384.

TIMMERMANS, M. C., DAS, O. P. & MESSING, J. 1994. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. *Annual review of plant biology*, 45, 79-112.

ULLMAN, D. E., WHITFIELD, A. E. & GERMAN, T. L. 2005. Thrips and tospoviruses come of age: Mapping determinants of insect transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 4931-4932.

- VALVERDE, R., LOTRAKUL, P., LANDRY, A. & BOUDREAUX, J. 2001. First report of Tomato yellow leaf curl virus in Louisiana. *Plant Disease*, 85, 230-230.
- VAN BETEM, F. S., VOSSSEN, J. H., VRIES, K. J., WEES, S., TAMELING, W. I., DEKKER, H. L., KOSTER, C. G., HARING, M. A., TAKKEN, F. L. & CORNELISSEN, B. J. 2005. Heat shock protein 90 and its co-chaperone protein phosphatase 5 interact with distinct regions of the tomato I<sup>2</sup> disease resistance protein. *The Plant Journal*, 43, 284-298.
- VAN DE WETERING, F., GOLDBACH, R. & PETERS, D. 1996. Tomato spotted wilt tospovirus ingestion by first instar larvae of *Frankliniella occidentalis* is a prerequisite for transmission. *PHYTOPATHOLOGY-NEW YORK AND BALTIMORE THEN ST PAUL*, 86, 900-905.
- VAN POELWUK, F., BOYE, K., OOSTERLING, R., PETERS, D. & GOLDBACH, R. 1993. Detection of the L protein of tomato spotted wilt virus. *Virology*, 197, 468-470.
- VAN WEZEL, R., DONG, X., BLAKE, P., STANLEY, J. & HONG, Y. 2002. Differential roles of geminivirus Rep and AC4 (C4) in the induction of necrosis in *Nicotiana benthamiana*. *Molecular plant pathology*, 3, 461-471.
- VAN ZIJL, J., BOSCH, S. & COETZEE, C. Year. Breeding tomatoes for processing in South Africa. In: International Symposium on Fruit & Vegetables for Processing 194, 1985. 69-76.
- VANITHARANI, R., CHELLAPPAN, P., PITA, J. S. & FAUQUET, C. M. 2004. Differential roles of AC2 and AC4 of cassava geminiviruses in mediating synergism and suppression of posttranscriptional gene silencing. *Journal of virology*, 78, 9487-9498.
- VERCHOT, J. & CARRINGTON, J. C. 1995. Evidence that the potyvirus P1 proteinase functions in trans as an accessory factor for genome amplification. *Journal of virology*, 69, 3668-3674.
- VERCHOT, J., KOONIN, E. V. & CARRINGTON, J. C. 1991. The 35-kDa protein from the N-terminus of the potyviral polyprotein functions as a third virus-encoded proteinase. *Virology*, 185, 527-535.
- VERLAAN, M. G., HUTTON, S. F., IBRAHEM, R. M., KORMELINK, R., VISSER, R. G., SCOTT, J. W., EDWARDS, J. D. & BAI, Y. 2013. The

*Tomato yellow leaf curl virus* Resistance Genes *Ty-1* and *Ty-3* Are Allelic and Code for DFDGD-Class RNA-Dependent RNA Polymerases. *PLoS genetics*, 9, e1003399.

VIDAVSKI, F., CZOSNEK, H., GAZIT, S., LEVY, D. & LAPIDOT, M. 2008. Pyramiding of genes conferring resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* from different wild tomato species. *Plant Breeding*, 127, 625-631.

VILELA, N., MELO, P., BOITEUX, L. & CLEMENTE, F. 2012. Perfil Socioeconômico da Cadeia Agroindustrial no Brasil. In: CLEMENTE, F. & BOITEUX, L. O. (eds.) *Produção de Tomate para Processamento Industrial*. 1 ed. Brasília-DF: Embrapa.

WARD, B. M. & LAZAROWITZ, S. G. 1999. Nuclear export in plants: use of geminivirus movement proteins for a cell-based export assay. *The Plant Cell Online*, 11, 1267-1276.

WEBER, H., SCHULTZE, S. & PFITZNER, A. 1993. Two amino acid substitutions in the tomato mosaic virus 30-kilodalton movement protein confer the ability to overcome the Tm-2 (2) resistance gene in the tomato. *Journal of virology*, 67, 6432-6438.

WEBSTER, C., TURECHEK, W., MELLINGER, H., FRANTZ, G., ROE, N., YONCE, H., VALLAD, G. & ADKINS, S. 2011a. Expansion of Groundnut ringspot virus host and geographic ranges in solanaceous vegetables in peninsular Florida. *Plant Health Progress*.

WEBSTER, C. G., REITZ, S. R., PERRY, K. L. & ADKINS, S. 2011b. A natural M RNA reassortant arising from two species of plant-and insect-infecting bunyaviruses and comparison of its sequence and biological properties to parental species. *Virology*, 413, 216-225.

WEESE, T. L. & BOHS, L. 2007. A three-gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). *Systematic Botany*, 32, 445-463.

WHITFIELD, A. E., ULLMAN, D. E. & GERMAN, T. L. 2005. *Tospovirus-thrips* interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 459-489.

WHITHAM, S., DINESH-KUMAR, S., CHOI, D., HEHL, R., CORR, C. & BAKER, B. 1994. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene *NT-1*: Similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell*, 78, 1101-1115.

- WIJKAMP, I., ALMARZA, N., GOLDBACH, R. & PETERS, D. 1995. Distinct levels of specificity in thrips transmission of tospoviruses. *Phytopathology*, 85, 1069-1074.
- WILLIAMS, L., LAMBERTINI, P. L., SHOHARA, K. & BIDERBOST, E. 2001. Occurrence and geographical distribution of tospovirus species infecting tomato crops in Argentina. *Plant Disease*, 85, 1227-1229.
- WINTER, S., SHAHRAEEN, N., KOERBLER, M. & LESEMANN, D. E. 2006. Characterization of Tomato fruit yellow ring virus: a new Tospovirus species infecting tomato in Iran. *Plant Pathology*, 55, 287-287.
- WINTERMANTEL, W., WISLER, G., ANCHIETA, A., LIU, H.-Y., KARASEV, A. & TZANETAKIS, I. 2005. The complete nucleotide sequence and genome organization of *Tomato chlorosis virus*. *Archives of Virology*, 150, 2287-2298.
- WISLER, G. C. & DUFFUS, J. E. 2001. Transmission properties of whitefly-borne criniviruses and their impact on virus epidemiology. In: HARRIS, K. F., SMITH, J. E. & DUFFUS, J. E. (eds.) *Virus-Insect-Plant Interactions*. Academic Press.
- XIE, Z. & CHEN, Z. 2000. Hairpin-induced hypersensitive cell death is associated with altered mitochondrial functions in tobacco cells. *Molecular Plant-Microbe interactions*, 13, 183-190.
- YIE, Y., ZHAO, F., ZHAO, S., LIU, Y., LIU, Y. & TIEN, P. 1992. High resistance to cucumber mosaic virus conferred by satellite RNA and coat protein in transgenic commercial tobacco cultivar G-140. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 5, 460-465.
- YU, C., HU, D., DONG, J., CUI, X., WU, J., YU, J. & ZHOU, X. 2004. The symptom difference induced by Tobacco mosaic virus and tomato mosaic virus in tobacco plants containing the N gene is determined by movement protein gene. *Science in China Series C: Life Sciences*, 47, 503-509.
- ZAKAY, Y., NAVOT, N., ZEIDAN, M., KEDAR, N., RABINOWITCH, H., CZOSNEK, H. & ZAMIR, D. 1991. Screening *Lycopersicon* accessions for resistance to *Tomato yellow leaf curl virus*: presence of viral DNA and symptom development. *Plant Disease*, 75, 279.
- ZAMIR, D., EKSTEIN-MICHELSON, I., ZAKAY, Y., NAVOT, N., ZEIDAN, M., SARFATTI, M., ESHED, Y., HAREL, E., PLEBAN, T. & VAN-OSS,

- H. 1994. Mapping and introgression of a *Tomato yellow leaf curl virus* tolerance gene, *Ty-1*. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 88, 141-146.
- ZEHNDER, G. W., YAO, C., MURPHY, J. F., SIKORA, E. R. & KLOPPER, J. W. 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol*, 45, 127-137.
- ZERBINI, F. & MACIEL-ZAMBOLIM, E. 1999. A família *Potyviridae*—Parte I. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 7, 1-67.
- ZERBINI, F. M., ZAMBOLIM, E. M., CARRIJO, I. V. & GILBERTSON, R. L. 1996. A new geminivirus isolated from tomatoes from Minas Gerais state, Brazil. . *Phytopathology*.
- ZITTER, T. A. & MURPHY, J. F. 2009. *Cucumber mosaic virus* [Online]. U.S.A: The American Phytopathological Society. Available: <http://www.apsnet.org/EDCENTER/INTROPP/LESSONS/VIRUSES/Pages/Cucumbermosaic.aspx> [Accessed 2013].